ACQUITY UPLC I-Class：マトリックス効果を最小限にするテクノロジー

高分離のクロマトグラフィーを用いて、プロピオン酸フルチカゾン及びキシナホ酸サルメテロールを、血液スポットカード由来の化学物質あるいはラット除タンパク血漿中の内因性物質から分離することができました。

目的

生体試料中の薬物濃度測定において、タンデム四重極型質量分析計にACQUITY UPLC I-Classシステムを組み合わせることで、複雑なマトリックス成分と目的成分の分離が可能となることを実証します。

背景

生体試料中の薬物濃度を正確に測定するためには、高い特異性と感度が要求されます。LC/MS/MSはこれらを達成する理想的な手法であり、特異性は、内因性のマトリックスからの目的成分のクロマトグラフィー分離、そして質量分析計のMRM（マルチプルリアクションモニタリング）取り込みによって得られます。

頑健性の高い試験を行うには、イオン化を抑制し再現性を損なう原因となるリン脂質のような内因性のマトリックス成分と目的成分を分離することが極めて重要です。

生体試料中の薬物濃度測定における最適な分離には、スピードと分離のバランスが必要とされます。時間を長くすれば分離は改善しますが、スループットは低下します。粒子径2 µm以下の充てん剤をカラムに用いるUPLCテクノロジーにより、スループットが向上しましたが、法規制のガイドラインおよび試験の感度的な要求が難しいものとなっているため、クロマトグラフィーのパフォーマンスについても改善の必要が出てきました。DBS（乾燥濾紙血液）やマイクロサンプリングのようなサンプリング技術では、従来法による検出下限が課題とされています。

ソリューション

ACQUITY UPLC I-Classシステムは、最高のクロマトグラフィー分離を実現するよう設計されました。システム拡散を最小にする技術により、高圧下の分析においてもバンド拡散が最小限に抑えられます。また長いカラムを用いた場合にも、スループットを犠牲にすることなく、シャープなピークが得られます。

UPLC/MS/MSを用いた高分離分析の結果を図1に示しました。DBSから抽出したプロピオン酸フルチカゾンとキシナホ酸サルメテロールを分析した結果です。ここではACQUITY UPLC C18 1.7 µm, 2.1×150 mmカラムを用い、メタノール(50→85)ー水酸化アンモニウム溶液で10分間のグラジエントを行いました。ポジティブモードでのフルスキャンデータをオレンジ色で、キシナホ酸サルメテロールとプロピオン酸フルチカゾンのMRMデータを青色で示しました。

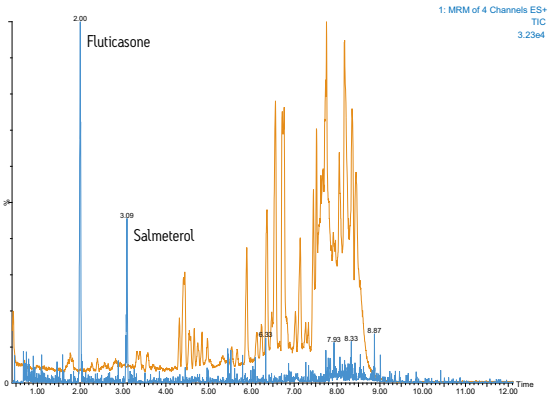

図1. DBSから抽出したプロピオン酸フルチカゾン及びキシナホ酸サルメテロールの、ACQUITY UPLC I-Classを用いた高分離UPLC/MS/MS分析結果。

血液スポットカードには、化学処理に用いられた化合物に由来する多量の妨害成分が含まれていることがわかります。分離能の高いACQUITY UPLC I-Classシステムではシャープなピークが得られるため、マトリックス効果を受けることなく2成分の医薬品を定量することが可能です。

高分離分析の例として、プロピオン酸フルチカゾンとキシナホ酸サルメテロールをラット血漿にスパイクし、アセトニトリル（アセトニトリル：血漿＝2:1）を用いて除タンパクを行ったサンプルの分析を実施しました。

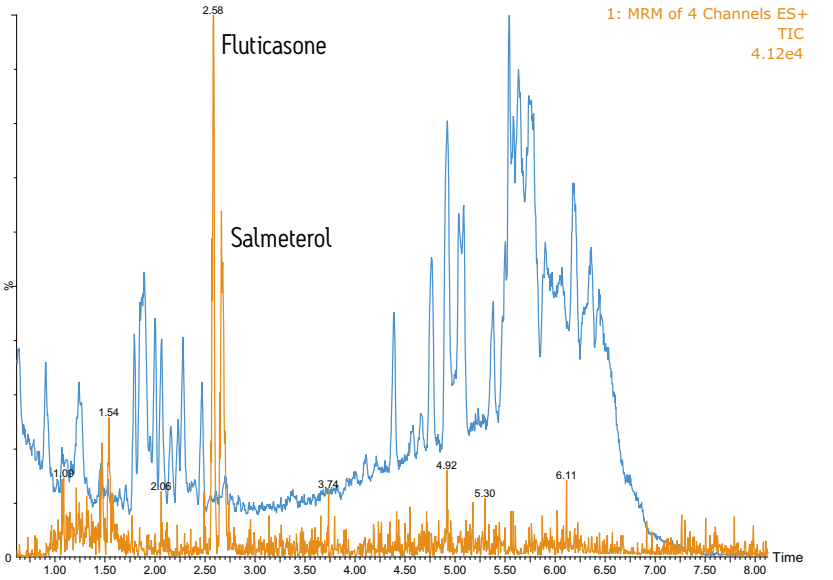

図2. ACQUITY UPLC I-Classを用いることで、ラット除タンパク血漿サンプルの内因性物質から目的成分を完全に分離することが可能でした。

この例ではメタノール（5→95）ーギ酸水溶液で5分間のグラジエントを行っています（図2）。

フルスキャン取り込みによるバックグラウンドデータを青色で示していますが、DBSと比べて、より複雑なクロマトグラムとなっています。オレンジ色で示した2成分の医薬品のMRM取り込みの結果では、プロピオン酸フルチカゾンが2.58分、キシナホ酸サルメテロールが2.65分に溶出されました。これらのUPLC/MS/MSのデータより、ACQUITY UPLC I-Classシステムによってラット血漿中の内因性物質から目的成分を確実に分離、信頼性および精度の高い定量性が確保されていることがわかります。

まとめ

ACQUITY UPLC I-Classシステムは、拡散を最小限に抑え、長いカラムに対応するシステム耐圧性を有することで、最高のクロマトグラフィー性能を提供します。生体試料中の薬物濃度測定にUPLCを用いることにより、最高の感度と、サンプル中の内因性物質の共溶出を最小限にするための高分離能を実現するために必要とされる、シャープなピークを得ることができます。高分離のための長いカラムを用いる場合にも、高いシステム耐圧により、高速高分離分析が可能です。

適用規格：JISQ9001:2008
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡

Waters、Alliance、ACQUITY UPLCおよびUPLCはWaters Corporationの登録商標です。The Science of What's Possibleは Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2011 Waters Corporation. Printed in Japan. 2011年10月 720003936JA PDF