[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

法中毒学における一連の鎮痛薬分析 ～CORTECS C_{18} 2.7 µmおよび XBridge BEH Phenyl *XP* 2.5 µmカラムの利点

Jonathan Danaceau, Erin Chambers, and Kenneth Fountain
Waters Corporation, Milford, MA, USA

アプリケーションのメリット

- 法中毒学において重要な 35 種類の薬物の迅速分析
- 極性化合物の保持の向上
- ビフェニルカラムとの分離向上の比較
- 従来の HPLC システムで使用できる低背圧

ウォーターズのソリューション

Xevo® TQD

ACQUITY UPLC® I-Class システム

CORTECS® C_{18} 2.7 µm、3.0 × 50 mm カラム (P/N 186007370)

XBridge® BEH Phenyl ***XP***、2.5 µm、3.0 × 50 mm カラム (P/N 186006069)

MassLynx® ソフトウェア

キーワード

法中毒学、鎮痛剤、オピオイド系薬物、ベンゾジアゼピン系薬物、アンフェタミン系薬物、覚せい剤

はじめに

法中毒学では、薬物のスクリーニングパネルとして、オピオイド系薬物やベンゾジアゼピン系薬物、覚せい剤などといった一般的に良く使われる化学物質が挙げられます。これらパネルは、LC-MS を用い、従来からの C_{18} カラムを使用して分析されます。この場合、広範な化合物について良好なピーク形状を維持しながら、これらパネルに含まれる様々なイソバリックな化合物（同重体）のペアをクロマトグラフィーで分離できることが、重要な条件となります。加えて、汎用の HPLC を使用する際には、圧力がシステム耐圧を越えない状態で、出来る限り迅速に分析できる性能が必要です。本アプリケーションノートでは、このような法中毒学の分析における、新しい CORTECS C_{18} 2.7 µm カラムおよび XBridge BEH Phenyl ***XP*** 2.5 µm カラムの分離性能を紹介します。CORTECS C_{18} カラムは、粒子径 2.7 µm のソリッドコアパーティクルを高いカラム効率になるよう充填することで、分析が可能な他のカラムと同等以上の優れた性能を低い背圧で発揮します。また、異なる選択性が必要な場合は、フェニル官能基を結合した BEH Phenyl カラムによりオピオイド系薬物の保持を向上します。この保持の向上は、尿マトリックスによるイオンサプレッションを低減させる可能性があります。両カラムは、アイソマー同士をベースライン分離し、オピオイド系薬物やベンゾジアゼピン系薬物、覚せい剤類、その他の乱用薬物を含む 35 化合物を、どの HPLC システムでも使用可能な背圧で、かつ分析時間 4 分以下で分析することが可能です。

実験方法

各化合物のストックソリューションは、Cerilliant Corporation（Round Rock, TX）から入手し、メタノールで調製しました。ワーキングソリューションは、5% アセトニトリル溶液（0.1% ギ酸添加）で調製しました。

LC条件

LC システム：　ACQUITY UPLC I-Class/ Fixed Loop（FL）/ カラムマネージャ（CMA）

カラム：　CORTECS C_{18} 2.7 µm、3.0 × 50 mm カラム（P/N 186007370）

XBridge BEH Phenyl ***XP*** 2.5 µm 3.0 × 50 mm カラム（P/N 186006069）

カラム温度：　30℃

サンプル温度：10℃

注入量：　10 µL

移動相 A：　MilliQ 水（0.1% ギ酸添加）

移動相 B：　アセトニトリル（0.1% ギ酸添加）

移動相のグラジエント条件は、表 1 を参照。

MS条件

MS システム：Xevo TQD

イオン化モード：ESI+

キャピラリー電圧：0.5V

コリジョンエネルギー：化合物毎に最適化

コーン電圧：化合物毎に最適化

データ管理：MassLynx v4.1 scn855 ソフトウェア

結果および考察

今回の分析では、オピオイド系薬物、ベンゾジアゼピン系薬物、覚せい剤類、benzoylecgonine（BZE）、phencyclidine（PCP）を含む、35 種類の一般的な鎮痛剤（図 1）をウォーターズの CORTECS C_{18} 2.7 µm カラム、XBridge BEH Phenyl ***XP*** 2.5 µm カラム、ならびに他メーカーのビフェニル結合型コアシェルカラム（2.6 µm）を用いて分析しました。全てのカラムは同じサイズ（3.0 × 50 mm）で、移動相のグラジエント条件は表 1 に示しました。グラジエントサイクルは、トータルで 5 分でした。

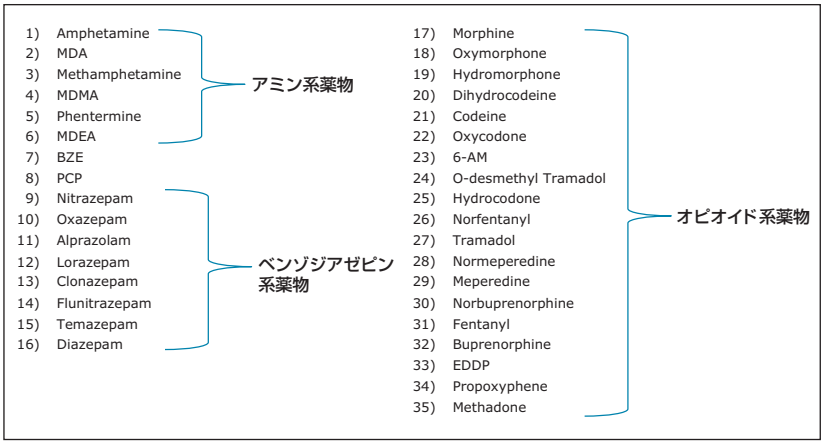

図 1．分析対象化合物一覧

時間（min）	流速（mL/min）	%移動相A	%移動相B
0.0	0.6	95	5
4.0	0.6	40	60
4.1	0.6	95	5
5.0	0.6	95	5

表 1．LC グラジエントテーブル

全ての化合物は 4 分以内に溶出し、かつ良好な左右対称のピーク形状を示しました。ピーク幅の平均値と全てのカラムについての最大圧力は、表 2 に示しました。

カラム	粒子径（µm）	背圧（psi）	平均ピーク幅（s）
CORTECS C_{18}	2.7	2206	2.52
XBridge BEH Phenyl	2.5	3274	2.94
他社製 biphenyl	2.6	2492	2.71

表 2．各カラムの性能結果一覧

全てのカラムは、従来の LC システムの耐圧制限内で分析でき、かつ理論通り粒子径が小さいほど圧力が上がっていることが分かります。ここで興味深い点としては、CORTECS C_{18} カラムは、粒子径が他のカラムと比較して大きいにもかかわらず、平均ピーク幅（表 2 を参照）からも分かるように、良好なピーク形状を示している点です。図 2a は全てのオピオイド系薬物、図 2b は重要なイソバリック（同重体）なオピオイド系薬物のクロマトグラムを示しています。全てのオピオイド系化合物は 3.5 分以内に溶出され、ピーク形状も良好です。図 2b で示しているように、イソバリックなピークペアである morphine と hydromorphine（ピーク 17 および 19）、および codeine と hydrocodone（ピーク 21 と 25）は全てのカラムで十分に分離できています。これらの化合物を正確に同定・定量するためには、それぞれの化合物を十分に分離できることが非常に重要です。BEH Phenyl およびビフェニルカラムは、ともにこれら分離の難しい化合物の保持を向上させますが、これはおそらくフェニル官能基によるものと考えられ、一方で、CORTECS C_{18} カラムでは容易に、卓越した分離を達成できます。

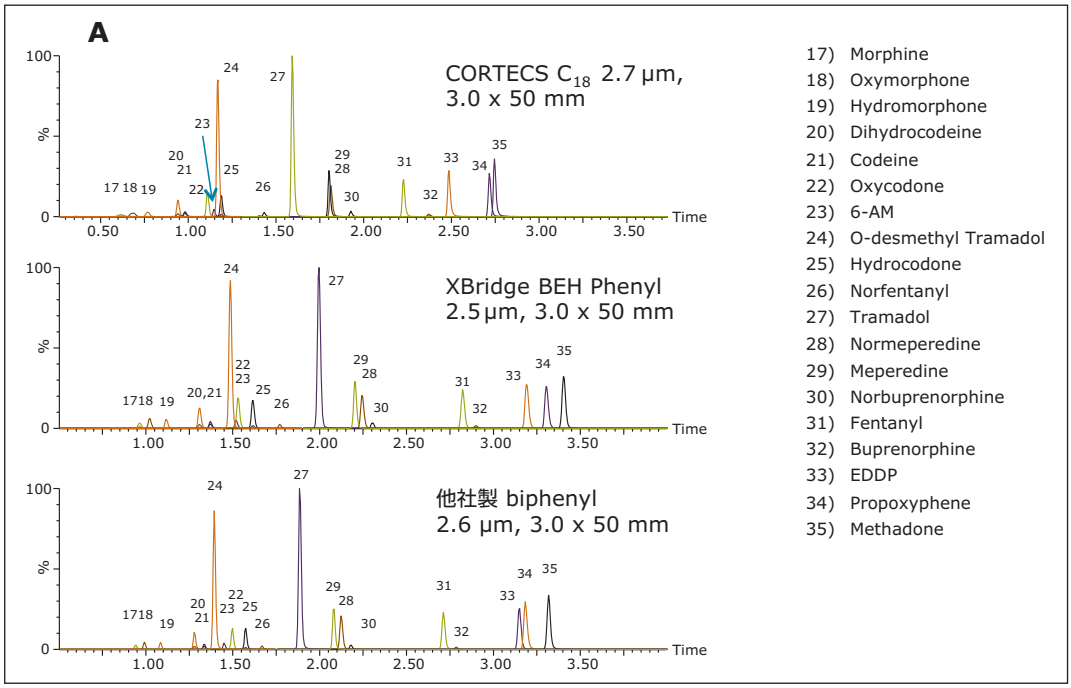

図 2a. オピオイド系薬物のクロマトグラム

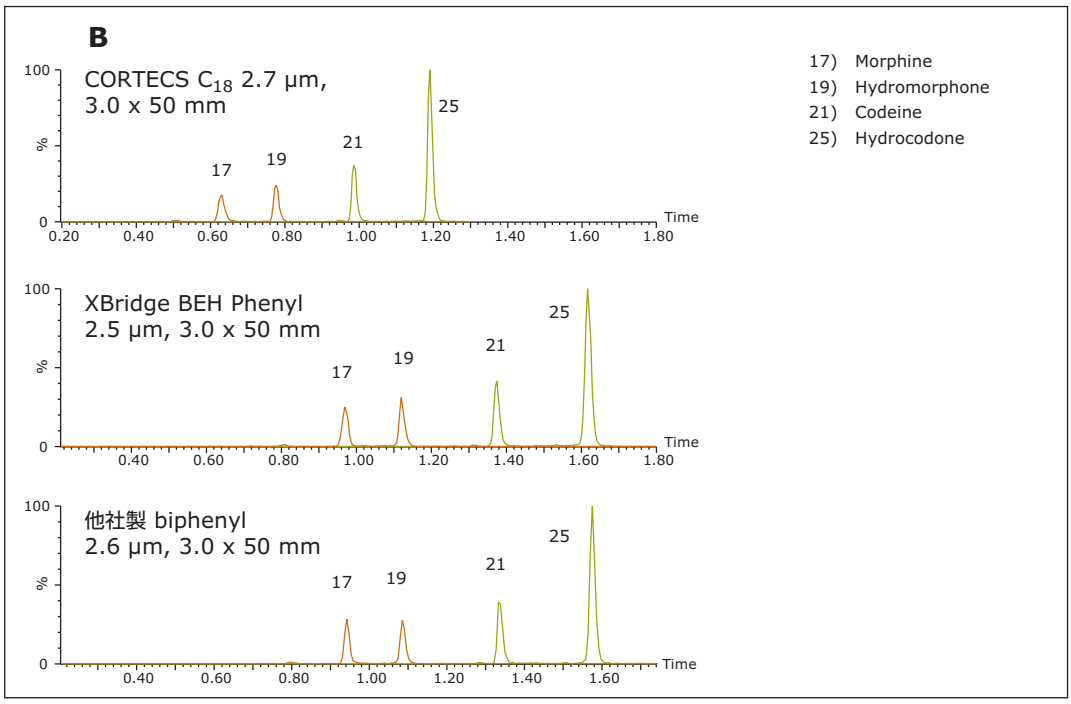

図 2b. 重要なイソバリックペアのクロマトグラム

図 3 は、アミン系薬物、PCP、BZE のクロマトグラフィーを示しています。全てのピーク形状が良好であるのに加えて、CORTECS C_{18} カラムと XBridge BEH Phenyl ***XP*** カラムでは、これら分離の難しい化合物を十分に分離できています。特に、methamphetamine および phentermine（ピーク 3 と 5）について、この 2 つのカラムではベースライン分離を実現していますが、ビフェニルカラムでは共溶出しています。これは同一の分子式を持ち、ともに主要なフラグメントイオンとして *m/z* 91 を持つこれら２つの化合物の分離において非常に重要なポイントです。これら化合物を分離できることで、2 つの覚せい剤成分間のクロストークのリスクを回避しでき、また明確な同定が可能となります。図 3 では、ビフェニルカラムで共溶出していた MDEA および benzoylecgonine（ピーク 6 と 7）について CORTECS C_{18} ならびに BEH phenyl カラムの両方で分離されていることも分かります。

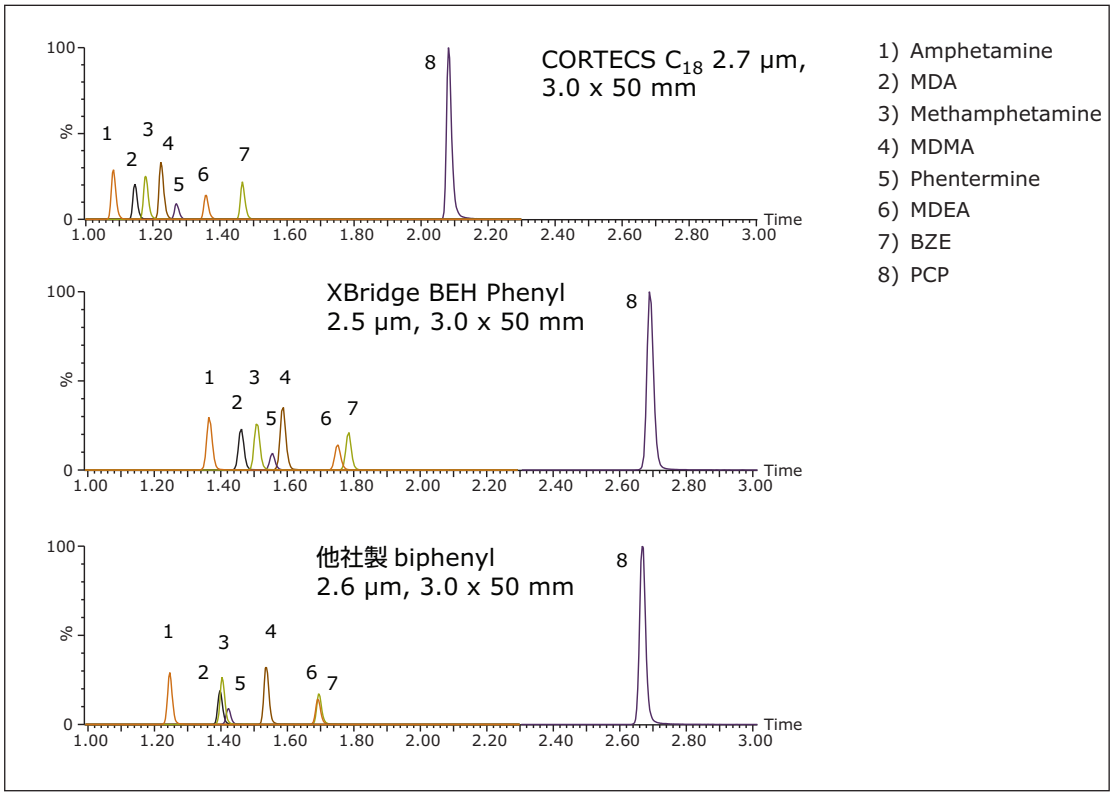

図 3. アミン系薬物、PCP、BZE のクロマトグラム

図 4 に、ベンゾジアゼピン系薬物のクロマトグラムを示しています。この場合も全てのカラムでピーク形状は非常に良好ですが、粒子径が他の 2 つのカラムと比較して大きい CORTECS C_{18} カラムが、このグループの化合物について最も良好な分離を示しています（平均ピーク幅：2.89s）。

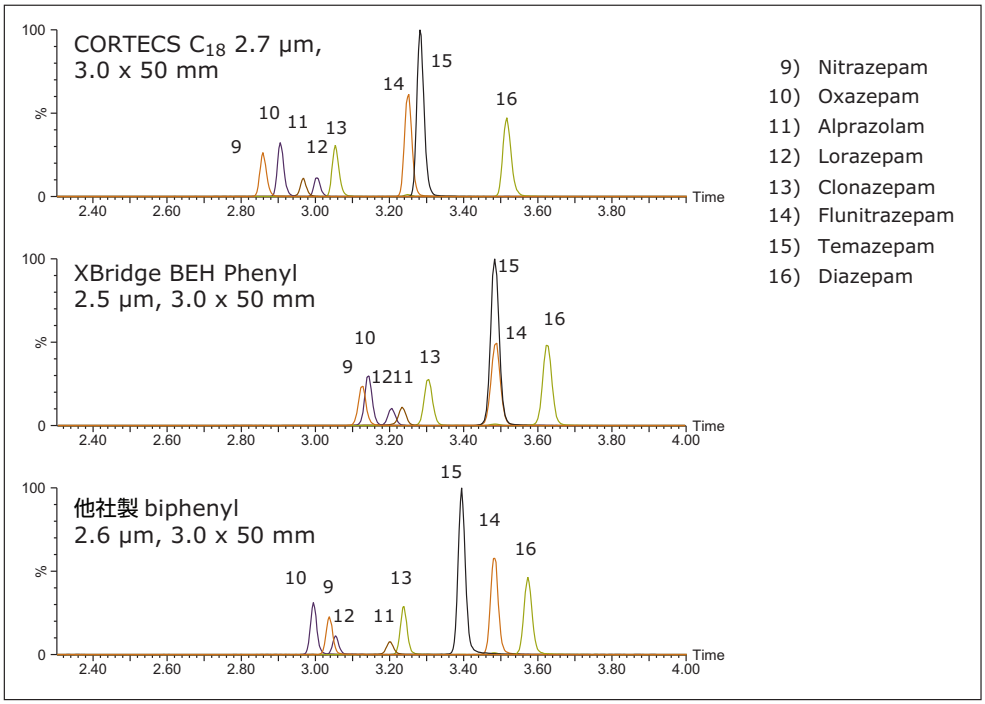

図 4. ベンゾジアゼピン系化合物のクロマトグラム

結論

本アプリケーションノートでは、広範囲な一連のオピオイド系薬物、ベンゾジアゼピン系薬物およびその他乱用薬物の分析についてご紹介ました。ウォーターズの粒子径 2.7 µm CORTECS C_{18} カラムもしくは粒子径 2.5 µm XBridge BEH Phenyl ***XP*** カラムを使用することで、全ての化合物は分析時間 4 分以内で、卓越したシャープなピーク形状で分析できました。最大背圧は、それぞれのカラムについて 2206 psi、3274 psi であり、これは従来の HPLC システムで十分使用できる圧力です。おそらく最も重要な点は、イソバリック（同重体）な化合物間で、明確な同定と定量を可能にするベースライン分離が達成できたことです。ソリッドコア（表面多孔性）カラムである CORTECS C_{18} カラムが持つ性能とカラム効率を選択しても、独自の選択性を持つ XBridge BEH Phenyl ***XP*** カラムを選択しても、どちらも一連の重要な薬物の迅速分析が可能です。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
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 札幌 富山

Waters、ACQUITY UPLC、XBridge、MassLynx、Xevo、CORTECS および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。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。

©2015 Waters Corporation. Produced in Japan. 2015年2月 720005185JA PDF