

ドーピング検査におけるGC/MSを用いたスクリーニング法

Screening Techniques in Doping Analysis by GC/MS

スポーツドーピングはフェアプレーに反する行為であり、しかも選手の健康や社会的にも悪影響を及ぼすことから、WADA (World Anti-Doping Agency) の規定に基づいてスポーツドーピング検査が行われています。

Table 1にスポーツドーピングのスクリーニング方法を示します。四重極型のGC/MSは、難揮発性薬剤(スクリーニング番号2)、利尿剤(スクリーニング番号5)および

遮断薬(スクリーニング番号7)の分析に利用されています。

本アプリケーションニュースでは、WADAの公認検査機関である株式会社三菱化学ピーシーエル様のご協力により得られました、難揮発性薬剤(スクリーニング番号2)の分析例をご紹介します。

Y. Sakamoto

Table 1 スポーツドーピングのスクリーニング法分類
Classification of Screening Methods in Sport Doping Analysis

スクリーニング番号	分析上の分類	薬剤の例	分析装置
1	揮発性薬剤	アンフェタミン	GC-NPD
2	難揮発性薬剤	コカイン代謝物	GC/MS (Scan)
3	熱分解物質	デキサメタゾン	Q-TOF LC/MS
4	蛋白同化ステロイド類	テストステロン	GC/MS (SIM)
	低濃度蛋白同化剤	スタノゾロール	GC/HRMS (SIM)
5	利尿剤	フロセミド	GC/MS (SIM)
6	代謝性ステロイド製剤	アンドロステンジオン	GC/C/IRMS
7	-遮断薬	メトプロロール	GC/MS (Scan)
8	ペプチドホルモン	EPO, hCG	EIA, イムノプロットイング

分析方法

Analytical Procedures

スクリーニング番号2の前処理フローをFig.1に、GC/MSの分析条件をTable 2に示します。

前処理では、尿5 mLに6Mの塩酸を添加し、105 °Cで30分加温することにより加水分解を行います。ジエチルエーテルで洗浄後、水相に2-メチル-2-プロパノールと内部標準物質を添加し、pHを9.6 ± 0.1に調整後、ジエチルエーテルで抽出します。抽出液は純窒素ガスで乾固し、メチルオレンジ/アセトニトリル/TFA混合溶液を添加後、MSTFAを溶液の色が黄色になるまで添加し、80 °Cで5分加温します。そこにMBTFAを添加し、80 °Cで10分加温することによってN-TFA-O-TMS誘導体化を行います。

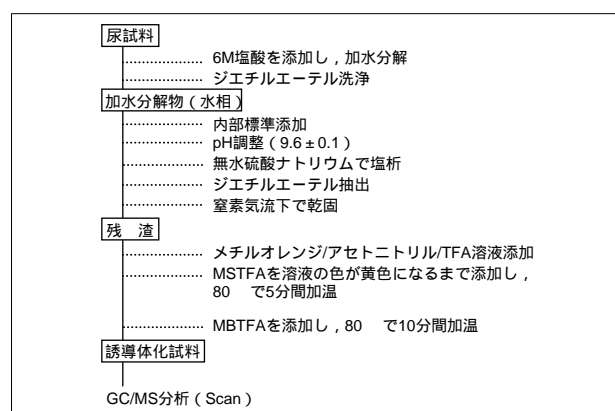


Fig.1 スクリーニング2の前処理フロー
Pretreatment Flow for Screening Method No.2

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Model	: GCMS-QP2010		
Workstation	: GCMSsolution Ver2.5		
Column	: DB-5 15 m × 0.25 mm I.D. df=0.25 μm		
-GC-			-MS-
Inj. Temp.	: 280 °C	Interface Temp.	: 300 °C
Column Temp.	: 100 °C (1 min)-16 °C/min-300 °C (2 min)	Ion Source Temp.	: 200 °C
Carrier Gas	: He (Constant Linear Velocity Mode)	Scan Range	: m/z 50-550
Linear Velocity	: 51.8 cm/sec	Scan Interval	: 0.5 sec
Injection Method	: Split		
Split Ratio	: 11:1		

ドーピング検査のレポートフォーマット

Sports Doping Test Report Format

ドーピング検査をより正確にかつ迅速に行うために、成分毎の結果を見やすく配置したレポートが必要です。例えば、薬物とその代謝物のクロマトグラムを並べて表示したり、全成分を少ない枚数のレポートにコンパクトに収めるなどの工夫が必要です。

GCMSsolutionでは、レポート出力用のアイテムをキャンバスに貼り付け、自由に編集することができます。したがってドーピング検査で求められるレポートを容易に作成することができます。(Fig.2)

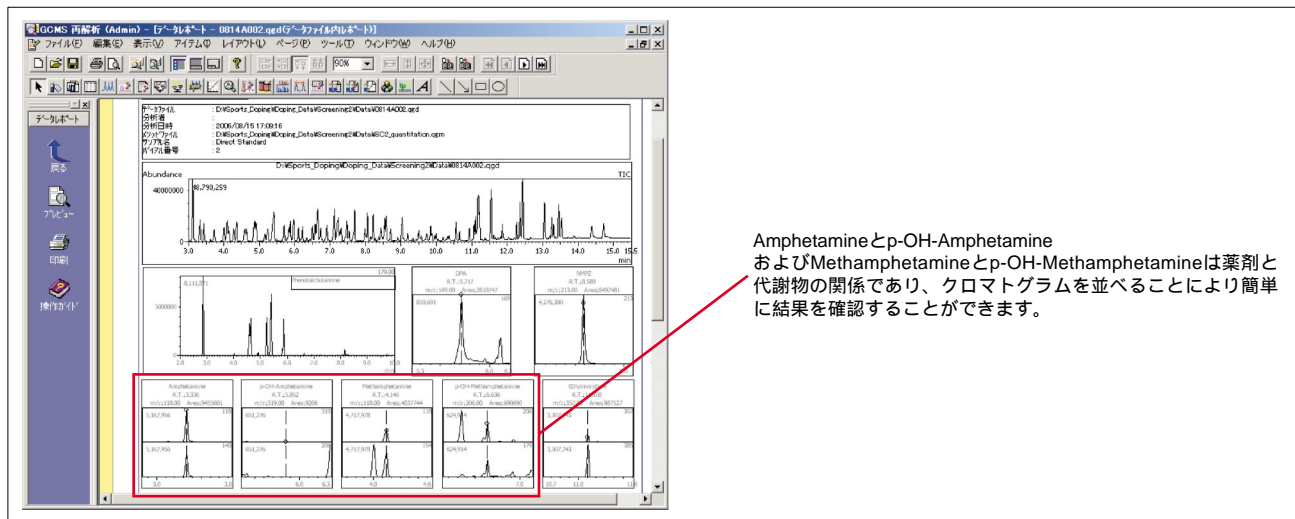


Fig.2 レポート画面
Report Creation Screen

WADAはデータの信頼性を確保するために様々な確認試験を要求しています。GC/MSの感度確認として、MRPL (Minimum Required Performance Limit) が定められており、スクリーニング番号2では0.5 µg/mL (ストリキニーネのみ0.2 µg/mL) と設定されています。*1 この他にも、前処理法や装置ブランクの信頼性を確保するた

めにControl, Drug Free UrineおよびBlank試料を分析する必要があります。Fig.3にGCMSsolutionのレポート機能を用いて出力したこれらの試料の確認試験結果を示します。それぞれの成分のターゲットイオンと、識別用イオンのマスプロットを、上下に並べて表示することで、成分の有り無しが一目で判断できます。

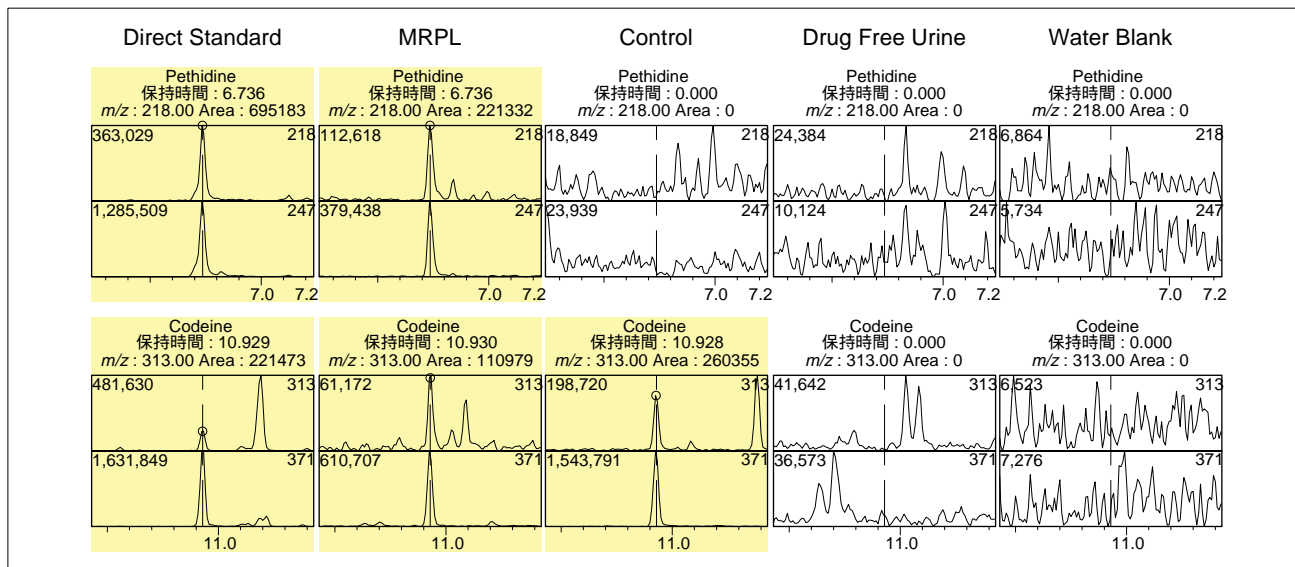


Fig.3 ドーピング検査での確認試験結果例
Example of Report Format for Sports Doping Test

引用文章

*1: MINIMUM REQUIRED PERFORMANCE LIMITS FOR DETECTION OF PROHIBITED SUBSTANCES - WADA Technical Document TD2004MRPL

*掲載データは薬事承認された装置で採取したものではありません。

初版発行：2007年3月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなくいろいろな情報サービスが受けられます。