

# Application News

## No. L517A

### 超臨界流体クロマトグラフィー

## Nexera UC-MS/MS システムを用いた生体試料中キラル薬物の分析およびその評価

光学異性体の超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) による分離検討は、既報のアプリケーションニュース L495 にご紹介している通り、分離に適するカラムおよび移動相をカラムスカウティングにより探索することから始めます。ここでは、適切なカラムが決定された後の SFC/MS/MS による光学分離の薬物動態研究への応用として、生体試料中薬物濃度測定での選択性、感度の実例とその分析法の評価結果についてご紹介いたします。

Y. Watabe, T. Hattori, T. Iida

### ■ 血漿試料中オメプラゾールの分析

胃酸分泌抑制効果が顕著なプロトンポンプ阻害剤として知られるキラル薬物であるオメプラゾールについて、ヒト血漿マトリックスの SFC に対する適応性を評価しました。図 1 にオメプラゾールの化学構造を示します。図 2 には血漿試料の前処理手順を示します。さらに分析条件については表 1 に記載しています。使用カラムについては、アプリケーションニュース L495 で良好な分離を示したダイセル社製の CHIRALPAK® IC-3 を用いました。検出にはトリプル四重極型質量分析計 LCMS-8050 を用いました。

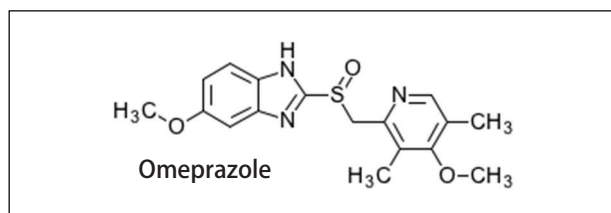


図1 オメプラゾールの構造

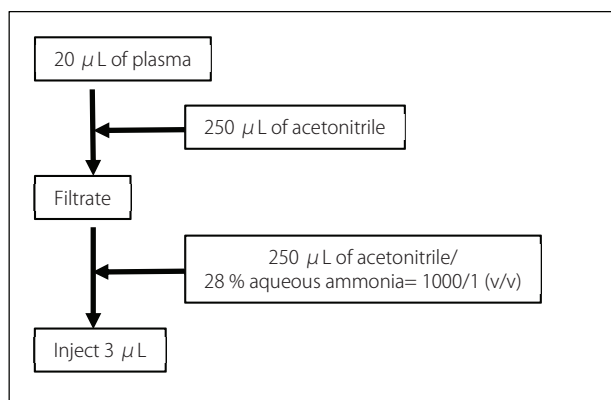


図2 血漿試料の前処理手順

表1 分析条件

Column	: CHIRALPAK®, IC-3 (100 mm L. x 3.0 mm I.D., 3 μm)
Mobile phase	: A; Super critical fluid of CO <sub>2</sub> B; Modifier: Methanol A/B = 4/1 (v/v for omeprazole, isocratic) = 3/1 (v/v for rabeprazole, isocratic)
Flow rate	: 3 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 3 μL
BPR pressure	: 10 MPa
BPR temp.	: 50 °C
Detector	: LCMS- 8050 (ESI, MRM mode)
Make-up	: Methanol
Make-up flow rate	: 0.1 mL/min
MRM	: (+) <i>m/z</i> 346.1 > 198.1 (for omeprazole) (+) <i>m/z</i> 359.9 > 150.1 (for rabeprazole)

血漿に添加したオメプラゾール 1、2、10、20、100 μg/L の検量線を作成し、試料負荷量に対する直線性を確認しました。また、図 3、図 4 に 2 μg/L および 20 μg/L の MRM クロマトグラムを示します。(A) は、光学分離されたピークのうち溶出の早い成分、(B) は溶出の遅い成分です。1/ (濃度の二乗) で補正して得られた直線性 (*r*<sup>2</sup>) はオメプラゾール (A) で 0.99996、オメプラゾール (B) では 0.99998 と良好でした。

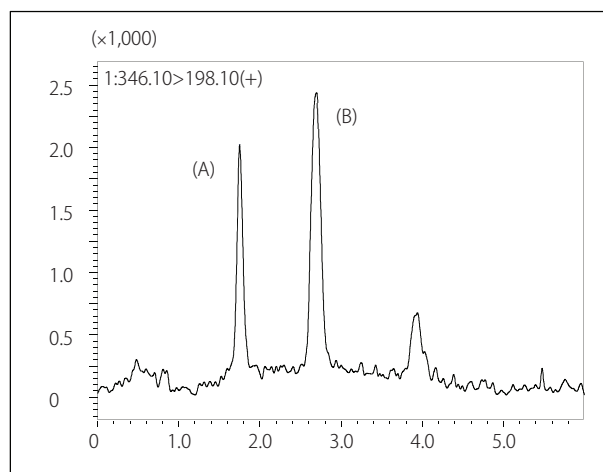


図3 血漿添加オメプラゾール (2 μg/L)

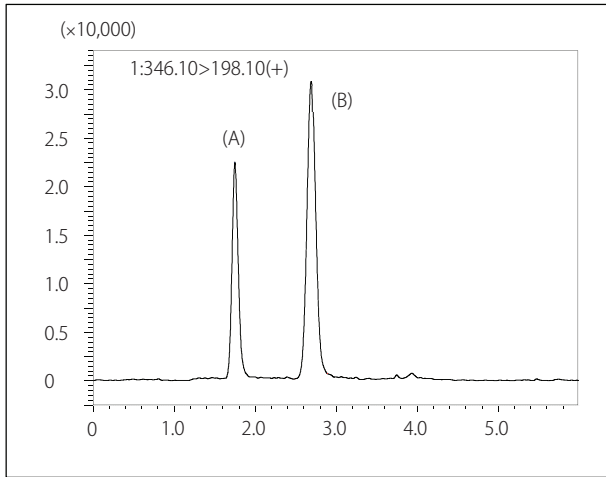


図4 血漿添加オメプラゾール (20 µg/L)

なお、2 µg/L での面積値の 5 回繰り返し再現性は (A) および (B) オメプラゾールとも RSD 4.4% と、良好な数値を示しました。また 10 µg/L では、標準溶液と比較した回収率はそれぞれ、101.1% および 100.5% でした。

### ■ 血漿試料中ラベプラゾールの分析

オメプラゾールと共に胃酸分泌抑制剤として知られるラベプラゾールは、構造的に、オメプラゾールに近いことから、オメプラゾールと同種の固定相を用いた類似分析条件でのキラル分離の可能性が示唆されます。そこで、前項で示したオメプラゾールの分析条件を参考にして、血漿試料中のラベプラゾールの分析を試みました。以下にラベプラゾールの化学構造を示します。オメプラゾールとの構造類似性が確認できます。また、分析条件については、表 1 に示したように、モディファイア濃度と MRM 設定の変更のみで対応が可能でした。

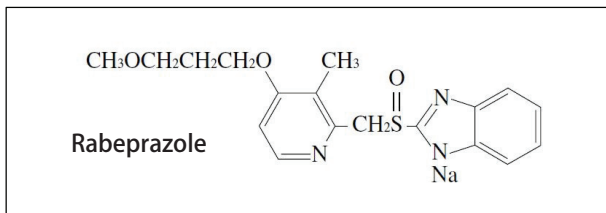


図5 ラベプラゾールの構造

血漿添加のラベプラゾールについては、0.3、1、3、10、30、300 µg/L の濃度で検量線を作成し、試料負荷量に対する直線性を確認しました。図 6、図 7 に 3 µg/L および 30 µg/L の MRM クロマトグラムを示します。図 3、図 4 と同様に (A) は、光学分離されたピークのうち溶出の早い成分、(B) と記載されているのは溶出の遅い成分です。1/ (濃度の二乗) で補正して得られた直線性 (r<sup>2</sup>) はラベプラゾール (A) で 0.99996、ラベプラゾール (B) では 0.99999 と良好でした。

注) 本製品は、医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

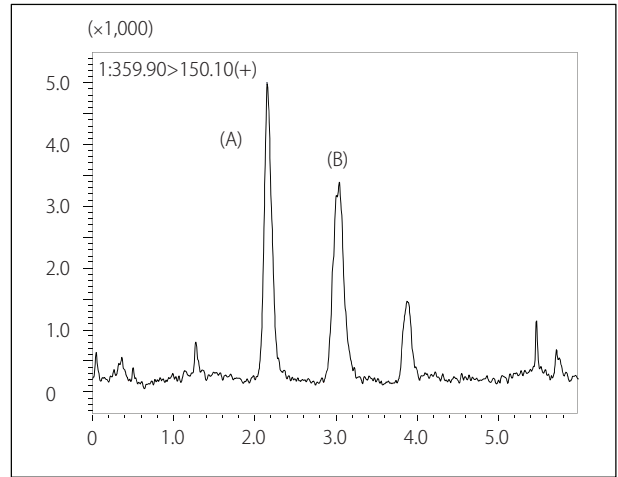


図6 血漿添加ラベプラゾール (3 µg/L)

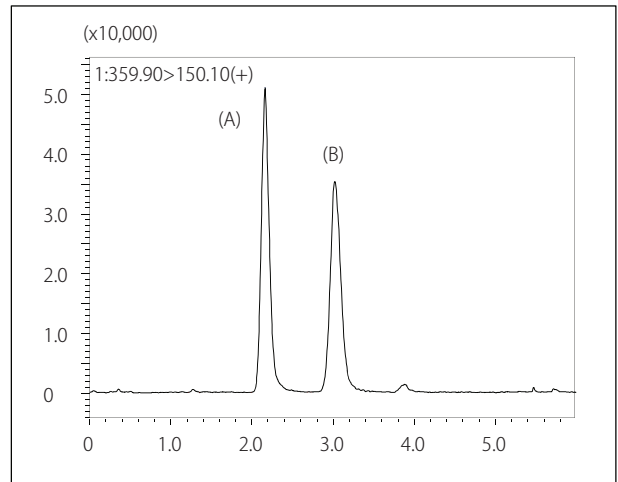


図7 血漿添加ラベプラゾール (30 µg/L)

なお、10 µg/L での面積値の 5 回繰り返し再現性は (A) および (B) ラベプラゾールで、それぞれ RSD 1.8% および 2.4% と、良好な数値を示しました。また標準溶液と比較した回収率はそれぞれ 102.5% および 100.1% でした。以下の表 2 に直線性、ピーク面積の再現性、回収率のまとめを示します。これらの結果から本法の実用的な血漿試料分析への適応性が確認できました。

表 2 評価結果

	直線性 (r <sup>2</sup> )	面積再現性 (%RSD)	回収率 (%) (4)
オメプラゾール(A)	0.99996 (1)	4.4 (3)	101.1
オメプラゾール(B)	0.99998 (1)	4.4 (3)	100.5
ラベプラゾール(A)	0.99996 (2)	1.8 (4)	102.5
ラベプラゾール(B)	0.99999 (2)	2.4 (4)	100.1

(1) 1-100 µg/L、(2) 0.3-300 µg/L、(3) 2 µg/L、(4) 10 µg/L