

# Application News

## No. C98

LC/MS  
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

### トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたステロイド類 および非ステロイド性抗炎症薬の同定および定量分析

Analysis of Steroids and NSAIDs Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

スポーツドーピングはフェアプレーに反する行為であるとともに、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。

主に筋肉増強を目的に使用されるアナボリックステロイド (AAS) や、抗炎症作用や免疫抑制作用をもつステロイド系抗炎症薬、麻薬、デザイナーズドラッグなどの化学物質が現在禁止物質として登録されています。また、非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory

drugs) は、痛みや炎症・発熱の治療に用いられる薬剤であり、禁止薬物には指定されていませんが、副作用があることからスポーツ選手の乱用が近年問題視されています。

ドーピング検査は選手生命そのものを左右する重大な決定を行う資料として用いられるため、検査する際の正確さと公平性が必要となります。これより、本アプリケーションでは、代表的なステロイド類および非ステロイド系抗炎症薬を用いて、複数の確認イオン比を用いた正確な同定法および、高感度測定の場合をご紹介します。

Y. Fujito

#### 標準溶液のMRM測定およびマトリクス検量線の作成

MRM Analysis of Standards and Matrix Matched Calibration Curves

代表的なステロイド類および非ステロイド系抗炎症薬 14 成分の混合標準溶液について、MRM 測定を行いました。Fig. 1 に混合標準溶液 (50 ng/mL) の MRM クロマトグラム、Fig. 2 に代表的な化合物の LOQ 付近の MRM クロマトグラム

を示しました。Table 1 に検量線の最小濃度および最大濃度を示しました。定量下限値は 10-100 pg/mL (20-200 fg) となり、いずれの成分についても 3 桁の広い範囲で良好な直線性が得られています。

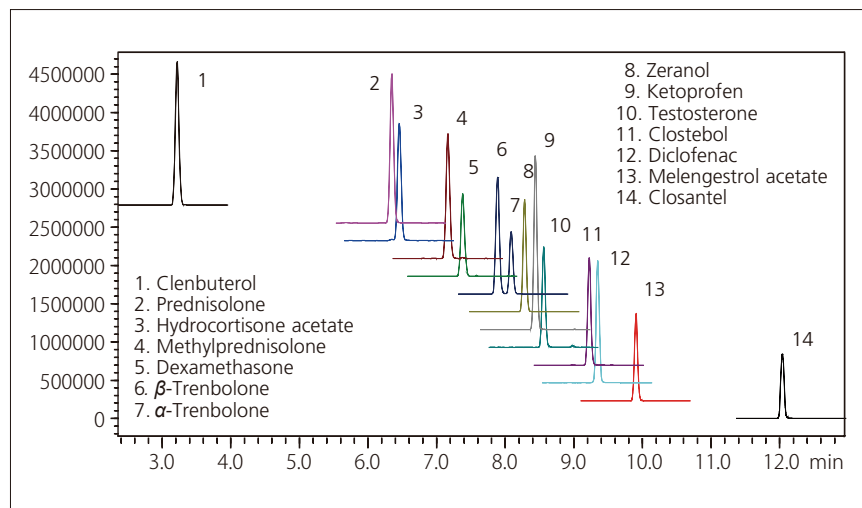


Fig. 1 ステロイド類および非ステロイド性抗炎症薬のMRMクロマトグラム  
Chromatograms of Steroids and NSAIDs

Table 1 各成分の検量線最小濃度および最大濃度  
Information of Calibration Curves

Compounds	Min. Conc.	Max. Conc.
Clenbuterol	0.01	10
Prednisolone	0.05	20
Hydrocortisone acetate	0.1	50
Methylprednisolone	0.5	50
Dexamethasone	0.5	50
$\alpha$ -, $\beta$ -Trenbolone	0.1	50
Zeranol	0.1	50
Ketoprofen	0.05	50
Testosterone	0.05	10
Clostebol	0.05	50
Diclofenac	0.01	50
Melengestrol acetate	0.05	50
Closantel	0.01	10

(単位: ng/mL)

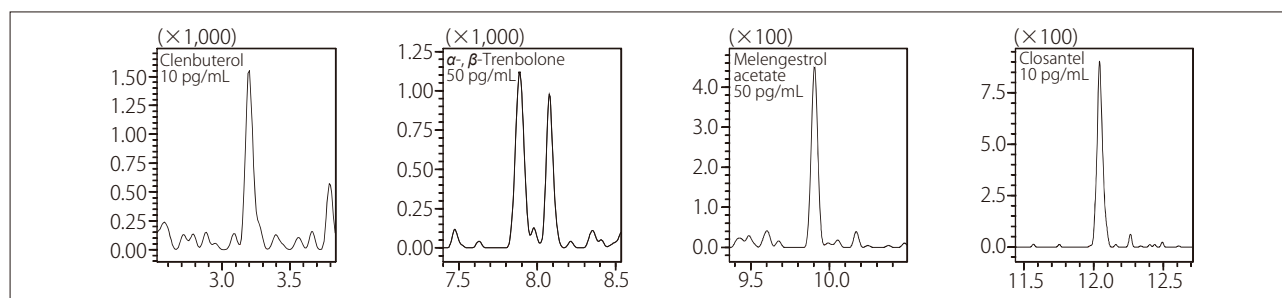


Fig. 2 代表的な化合物の定量下限値 (LOQ) 付近のMRMクロマトグラム  
MRM Chromatograms at Around LOQ of Typical Compounds

## ■ 複数の確認イオンを用いたピーク同定法

### Peak Determination Using Multiple Reference Ions

正確性の高い同定を行うために複数の確認イオンを用いる場合、確認イオンの選択や入力作業が煩雑になります。

Labsolutions Ver. 5.65 より、分析メソッドの ch2 以降の MRM トランジションが確認イオンとして自動的に選択・入力されるようになりました（最大5個）。

〈新機能一例〉

- ① 複数の確認イオンが自動的に入力される（使用したいトランジションをプルダウンで選択・変更可）
- ② STD のイオン比が自動的に基準値として設定される
- ③ 各確認イオンごとに、異なる相対イオン比許容幅を設定可能
- ④ イオン比、許容幅、および確認イオンモードから同定範囲（%）が自動的に計算される

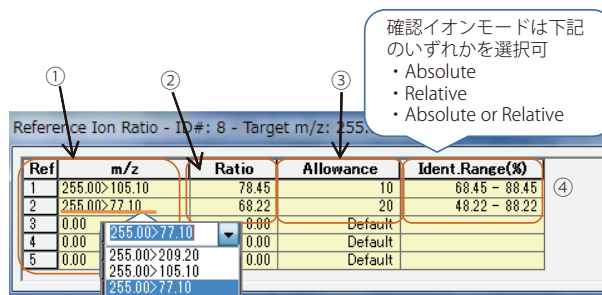


Fig. 3 確認イオンの設定画面  
Setting Window of Reference Ions

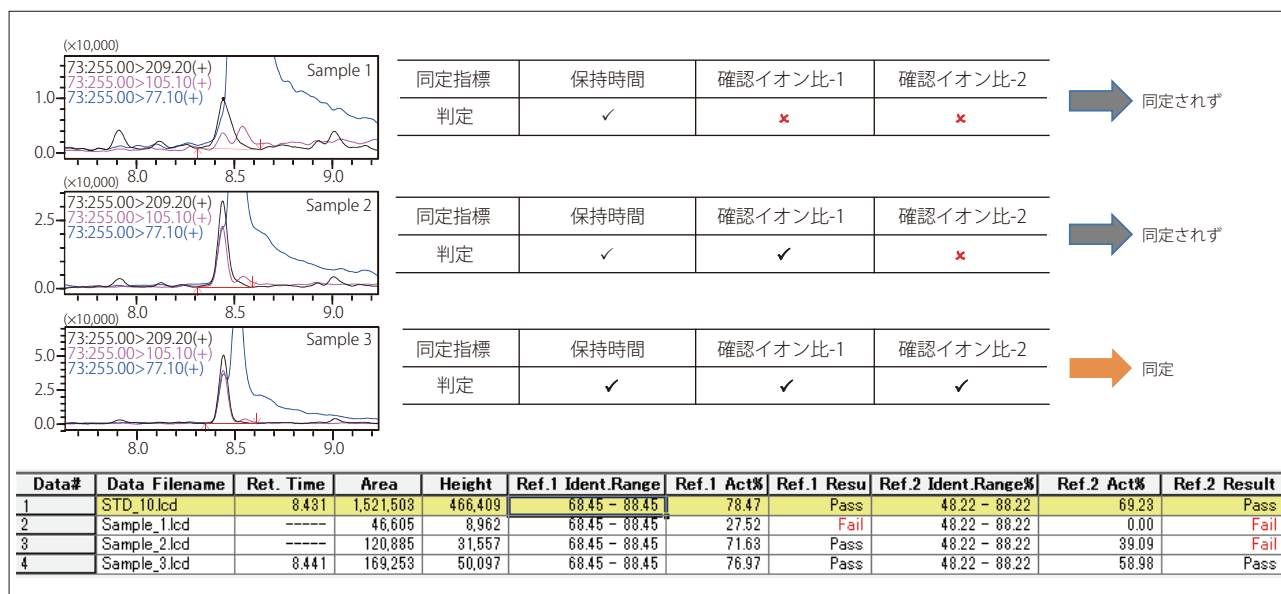


Fig. 4 複数の確認イオンを用いたピーク同定例  
Example of Peak Determination Using Multiple Reference Ions

Table 2 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODS II (2.0 × 75 mm, 2.2 μm)
Mobile Phase A	: 0.1 % Formic acid - Water
Mobile Phase B	: Acetonitrile
Time Program	: 1 %B (0 min) → 15 %B (1 min) → 40 %B (6 min) → 100 %B (10 - 13 min) → 1 %B (13.01 - 16 min) (12.01 - 15 min)
Flow Rate	: 0.2 mL/min.
Injection Volume	: 2 μL
Oven Temperature	: 40 °C
Ionization Mode	: ESI (Positive / Negative)
Probe Voltage	: +4.5 kV/-3.5 kV
Neburizing Gas Flow	: 3.0 L/min.
Drying Gas Flow	: 10.0 L/min.
Heating Gas Flow	: 10.0 L/min.
Interface Temperature	: 400 °C
DL Temperature	: 200 °C
Block Heater Temperature	: 400 °C