

Application News

No. C101

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

血漿中薬剤のトリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた高速高感度分析

High Speed and High Sensitive Analysis of Drugs in Plasma Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8040]

エンドセリン受容体拮抗薬 (ERA) Bosentan, Ambrisentan とホスホジエステラーゼ-5 (PDE-5) 阻害剤 Sildenafil, Tadalafil 4 成分の LC/MS/MS ESI-positive mode による高速高感度分析した例をご紹介します¹⁾。

これらの成分は、肺動脈性肺高血圧症 (Pulmonary Arterial Hypertension, 以下略 PAH) の治療薬として使用されています。PAH は心臓から肺に血液を送っている肺動脈の末梢の小動脈の内腔が狭くなり、血液の流れが悪くなった結果、肺動脈圧が高くなる症状です。心臓の中で肺に血液を送っている右心室は高い圧力に耐えられません。PAH は、長期間右心室

が高い圧力にさらされた結果、その機能が低下してしまい右心不全になってしまうという難病です。最近では、血管を拡張させる治療薬も開発され、良好な治療成績が得られてきています。これら治療薬と他の治療薬を併用した場合の体内動態研究の為に、血漿中治療薬の迅速で微量な分析法が求められています。

高感度高選択な LC/MS/MS 法の利用により、試料である血漿の量を抑えられた結果、前処理も迅速で簡便な方法を採用でき、作業効率が向上した方法を確立することができました。

M. Kobayashi

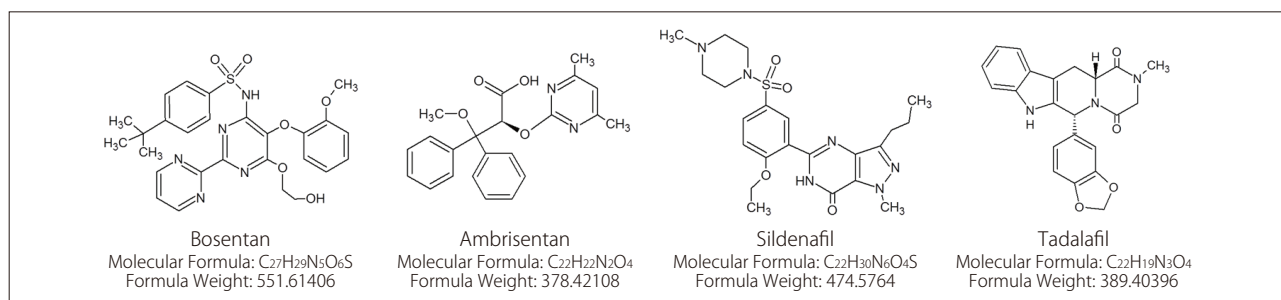


Fig. 1 薬剤の構造
Structures of Drugs

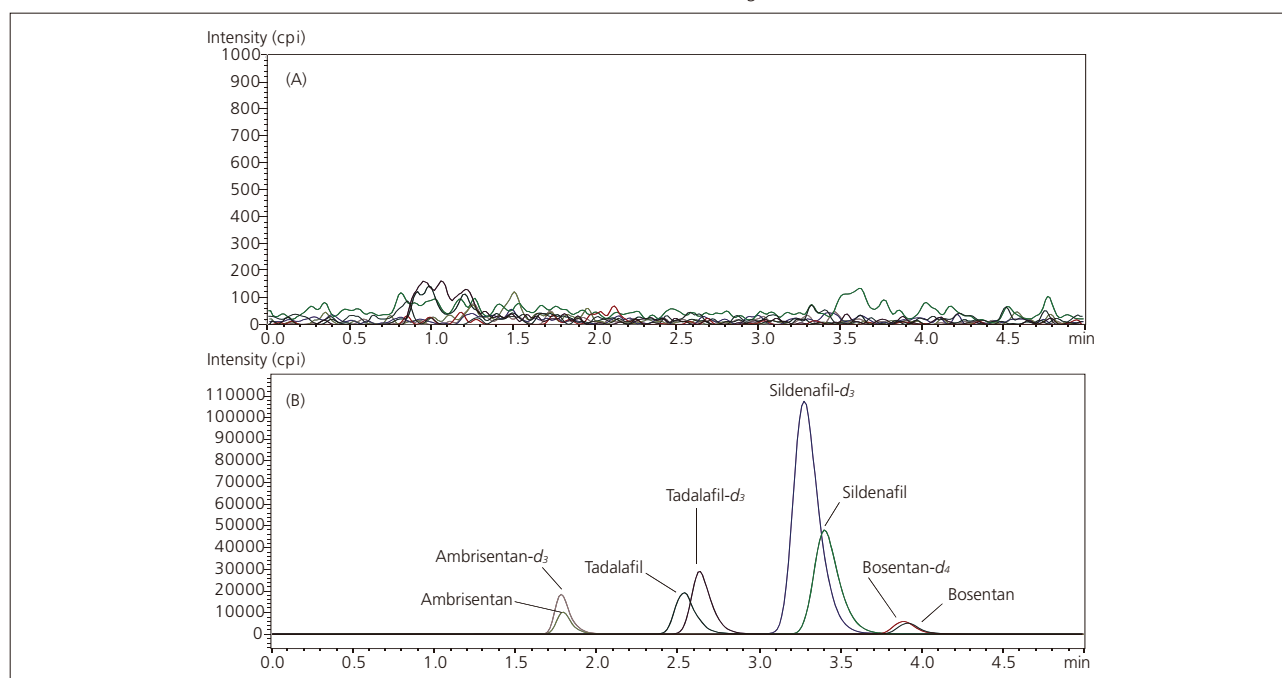


Fig. 2 代表的なクロマトグラム (A) ヒト血漿ブランク, (B) ヒト血漿標準品添加サンプル (各 100 ng/mL)
Representative MRM Chromatograms of (A) Blank Human Plasma and (B) Human Plasma Spiked Standard Solutions and Their ISs at 100 ng/mL Each.

Fig. 1 に、Bosentan, Ambrisentan, Sildenafil, Tadalafil, 4 成分の構造を示しました。内部標準物質として、それぞれ Bosentan-*d*₄, Ambrisentan-*d*₃, Sildenafil-*d*₃, Tadalafil-*d*₃ も使用しました。Fig. 2

に 4 成分の代表的なクロマトグラムを示します。Ambrisentan は、1.8 分、Tadalafil は 2.5 分、Sildenafil は 3.4 分、Bosentan は 3.9 分に溶出し、1 分析 5 分の高速分析が可能でした (分析条件 Table 1 参照)。

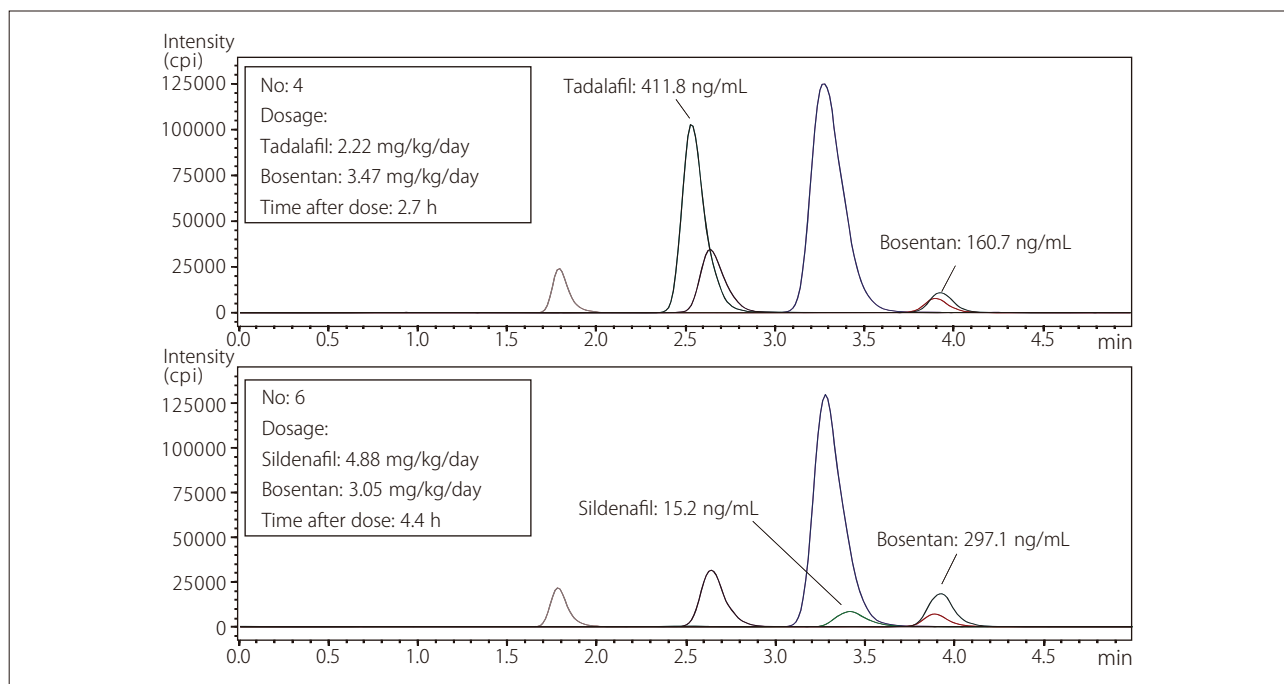


Fig. 3 血漿から抽出した薬剤の代表的なクロマトグラム
Typical MRM Chromatograms of Plasma Samples

血漿から抽出した薬剤の代表的なクロマトグラムを Fig. 3 に、血漿からの抽出方法を Fig. 4 に示します。

高感度な LC/MS/MS 法を使用することにより微量の血漿からの抽出で分析が可能でした。また、本薬剤抽出方法は固相抽出カートリッジを使用した簡便な方法です。

標準品添加における血漿からの抽出率は、Ambrisentan は 44.3 - 63.9 %、Tadalafil は 78.9 - 88.5 %、Sildenafil は 83.4 - 88.1 %、Bosentan は 86.1 - 109.9 %、この時の抽出率の CV (%) は 17.7 以下でした。

本法は、わずか 50 μ L の血漿から抽出した薬剤を 1 分析 5 分で分析する高速高感度分析法であり、血漿中薬物動態研究に適用することができました。

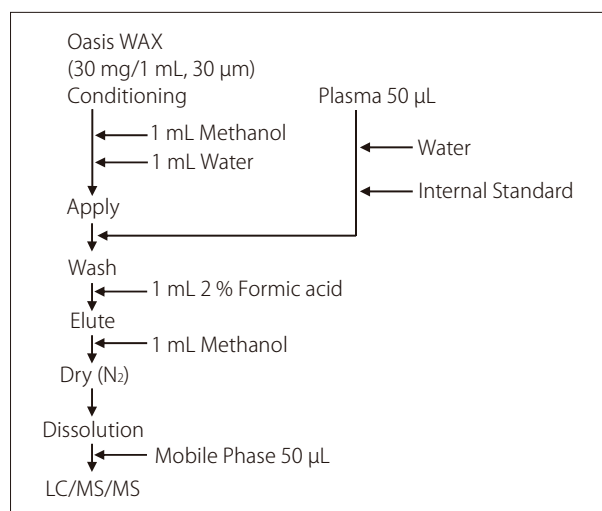


Fig. 4 血漿からの薬剤抽出方法
Sample Extraction

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Cadenza CD-C18 (75 mm L. \times 2 mm I.D., 3 μ m)
Guard Column	: Security Guard columns (Phenomenex, Torrance, CA)
Mobile Phase	: Acetonitrile: 5 mmol/L Ammonium Acetate = 45:55, v/v ; pH adjusted to 5.0 with Acetic Acid)
Flow Rate	: 0.2 mL/min.
Column Temperature	: 40 $^{\circ}$ C
Injection Volume	: 20 μ L
Probe Voltage	: 4.5 kV (ESI-positive mode)
Block Heater Temperature	: 400 $^{\circ}$ C
MRM Transition	: Tadalafil; m/z 390.2>268.1, Tadalafil- d_3 ; m/z 393.0>271.1 : Bosentan; m/z 553.0>202.0, Bosentan- d_3 ; m/z 557.1>202.1 : Sildenafil; m/z 475.1>58.1, Sildenafil- d_3 ; m/z 478.1>61.1 : Ambrisentan; m/z 379.0>346.7, Ambrisentan- d_3 ; m/z 382.1>346.9

参考文献 1) : Y. Yokoyama et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 89 (2014) 227-232

本分析については、
静岡県立大学 薬学部 臨床薬効解析学分野 横山由奇博士、戸祭美保様、林 秀樹先生 (現岐阜薬科大学)
静岡県立大学 薬学部 生体機能分子分析学分野 轟木堅一郎先生 にご協力いただきました。

本製品は薬事法に基づく医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。診断目的およびその手続き上での使用はできません。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2014年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(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。