

Application News

No. C124

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

トリプル四重極型 LC/MS/MS LCMS-8050 を用いた血漿中ミコフェノール酸の高速分析

High Speed Analysis of Mycophenolic Acid in Plasma Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ミコフェノール酸モフェチルは、腎移植後の難治性拒絶反応の治療に使用される免疫抑制剤の一種です。

ここでは、高感度トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8050 による血漿中ミコフェノール酸の高速分析例をご紹介します。前処理は除タンパクのみの簡便な方法ですが、真度および精度の優れた定量結果が得られました。

M. Kawashima

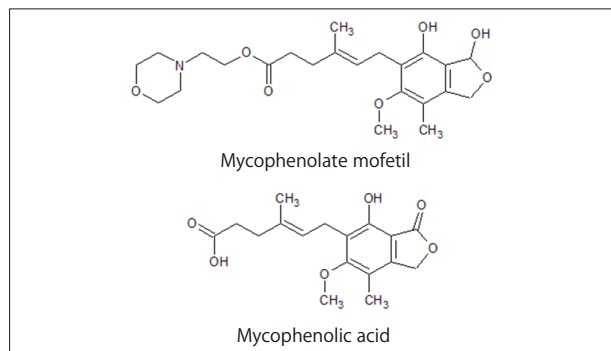


Fig. 1 ミコフェノール酸モフェチルおよびミコフェノール酸の構造式
Structures of Mycophenolate Mofetil and Mycophenolic Acid

試料調製

Sample Pretreatment

前処理のワークフローを Fig. 2 に示します。

検量線作成を目的として、血漿中濃度が 0.2, 0.6, 2, 6, 20 µg/mL となるよう添加した試料を STD 試料とし、結果の妥当性を保証することを目的として、血漿中濃度が 0.5, 5, 15 µg/mL となるよう添加した試料を QC 試料としました。これら STD 試料および QC 試料に、内部標準物質およびアセトニトリルを添加して除タンパクした上清を、水にて希釈し、分析試料としました。内部標準物質にはミコフェノール酸の安定同位体標識化合物（ミコフェノール酸-d3）を使用しました。

固相抽出などの手間のかかる前処理は必要としないシンプルな手法であり、短時間かつ低コストに前処理を実施することが可能です。

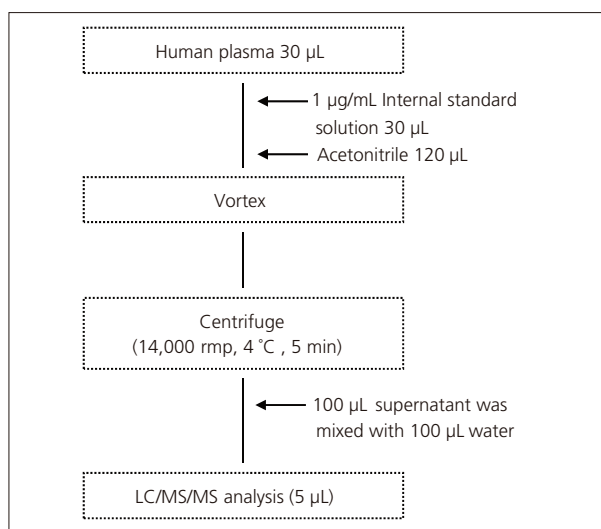


Fig. 2 前処理のワークフロー
Workflow of the Pretreatment

LC/MS/MS 分析条件

LC/MS/MS Analytical Condition

LC/MS/MS 分析条件を Table 1 に、MRM トランジションを Table 2 に示します。カラムには Shim-pack GIS を使用し、逆相モードにて分離を行いました。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) とし、正イオンモードで MRM 測定を行いました。

Table 2 MRM パラメータ
MRM Parameters

化合物名	極性	MRM トランジション
ミコフェノール酸	+	321.40 > 207.30
ミコフェノール酸-d3	+	324.40 > 210.30

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack GIS (75 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 µm)
Mobile Phase	: 1 % Acetic acid in water / Acetonitrile = 1 / 1
Analysis Time	: 4 min
Flow Rate	: 0.3 mL/min
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 5 µL
Probe Voltage	: +4.0 kV (ESI-positive mode)
DL Temperature	: 150 °C
Block Heater Temperature	: 200 °C
Interface Temperature	: 400 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 5 L/min
Heating Gas Flow	: 15 L/min

測定結果

Analysis Results

ミコフェノール酸の血漿添加検量線を Fig. 3 に、ブランクおよび検量点各濃度のクロマトグラムを Fig. 4 に示します。

血漿中濃度で 0.2 ~ 20 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で、相関係数 0.999 以上の良好な直線性が得られました。

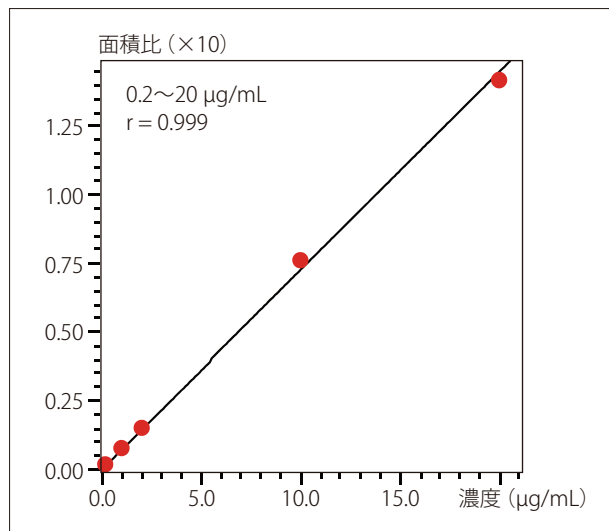


Fig. 3 ミコフェノール酸の検量線
Calibration Curve of Mycophenolic Acid

血漿添加検量線の各濃度の正確さおよび再現性を Table 3 に示します。全ての検量点において、再現性 5 % 以下かつ正確さ 100 \pm 10 % 以内を満たす良好な結果が得られました。

Table 3 標準添加検量線の測定結果
Results of Plasma Spiked Calibration Standards

	血漿中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	正確さ (%)	濃度再現性 (%)
STD1	0.2	94.9	3.68
STD2	0.6	101.8	4.38
STD3	2	101.1	3.55
STD4	6	104.7	3.05
STD5	20	97.5	3.22

QC 試料の測定結果を Table 4 に示します。

再現性は 5 % 以下、濃度正確さは 100 ~ 110 % であり、十分な精度および正確さが得られることが確認できました。

Table 4 QC 試料の測定結果
Result of QC Samples

	血漿中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	正確さ (%)	濃度再現性 (%)
QC 1	0.5	108.5	1.60
QC 2	5	104.9	3.66
QC 3	15	103.5	2.55

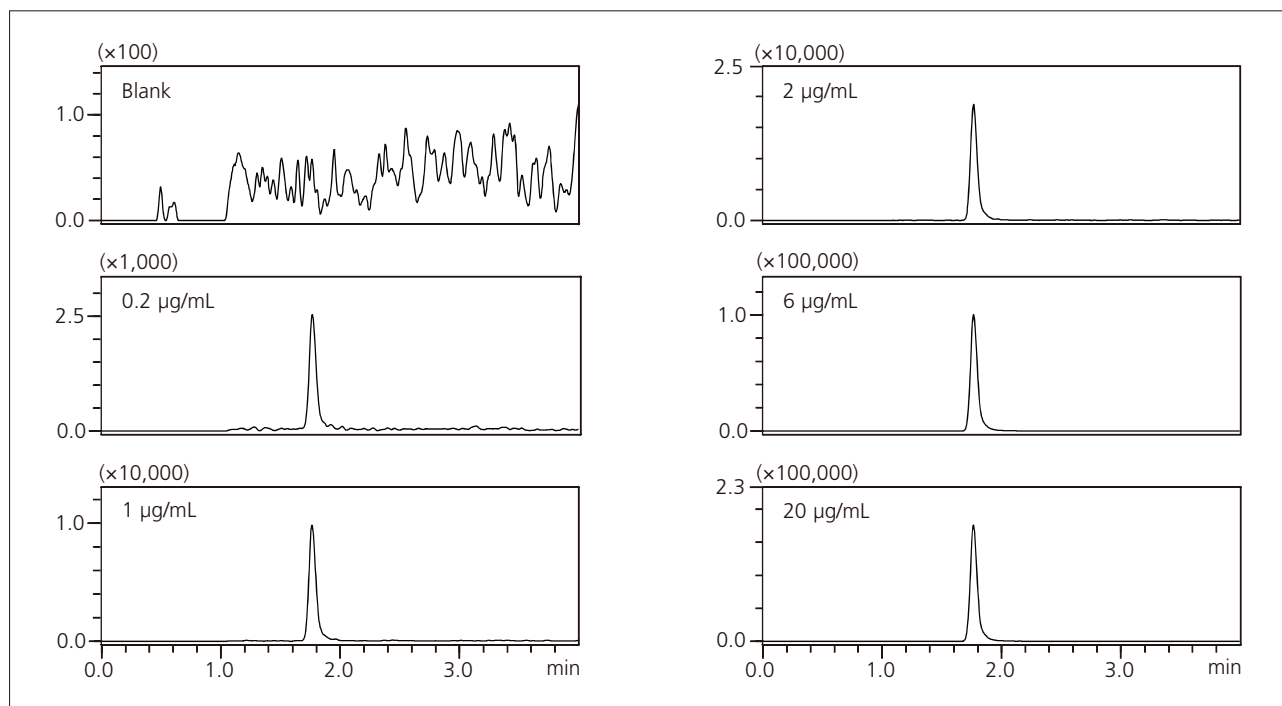


Fig. 4 ブランク試料およびミコフェノール酸の血漿添加検量線 各濃度におけるクロマトグラム
Chromatograms of Blank and Each Concentration of Plasma Spiked Calibration Standards

本アプリケーションニュースの作成には、東北大学病院 薬剤部様にご協力いただきました。

注) ・本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。
・本文書に記載されている分析手法を診断目的で使用することはできません。

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：2016年3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/solnavig/solnavig.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。