

# Application News

## No. C127A

LC/MS  
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

### トリプル四重極型 LC/MS/MS LCMS-8050 を用いた血漿中イトラコナゾールの高速分析

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

トリアゾール系抗真菌剤の一種であるイトラコナゾールは、白癬菌、アスペルギルス属、カンジダ属などの真菌による感染症の治療薬として広く使用されています。

ここでは、高感度トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8050 による血漿中のイトラコナゾールおよびその活性代謝物であるヒドロキシイトラコナゾール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

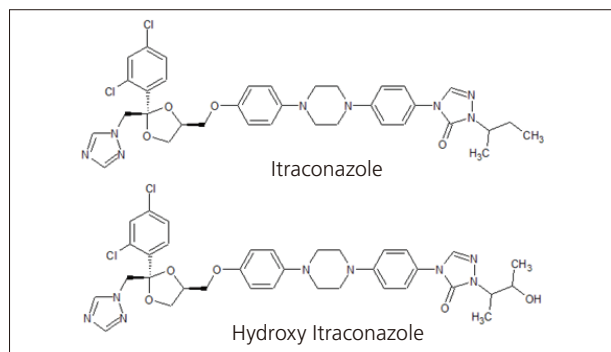


Fig. 1 イトラコナゾールおよびヒドロキシイトラコナゾールの構造式  
Structures of Itraconazole and Hydroxy Itraconazole

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。

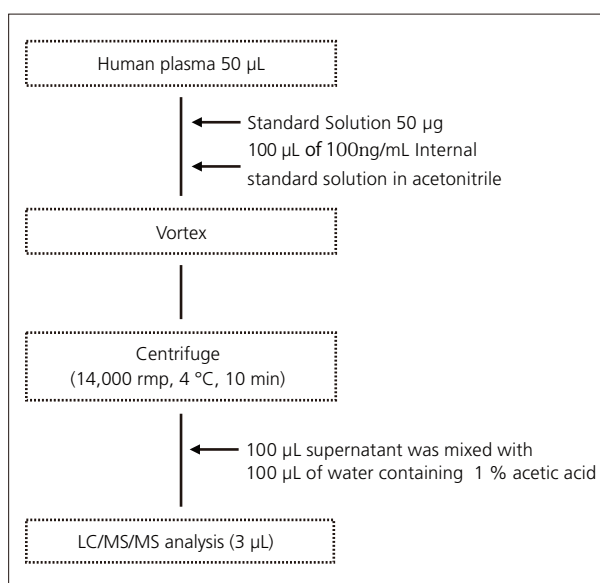


Fig. 2 前処理のワークフロー  
Workflow of the Pretreatment

## ■ 試料調製

### Sample Pretreatment

前処理のワークフローを Fig. 2 に示します。

既知濃度のイトラコナゾールおよびヒドロキシイトラコナゾールを水/メタノール = 1/1 に溶解させ、添加用標準液を調製しました。この添加用標準液および内部標準物質のアセトニトリル溶液をヒト血漿に添加して除タンパクした上清を、1% 酢酸水溶液にて希釈し、検量線作成を目的としたSTD 試料および結果の妥当性を保証することを目的としたQC 試料を調製しました。内部標準物質にはイトラコナゾールの安定同位体標識化合物 (イトラコナゾール-d3) を使用しました。

## ■ 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
イトラコナゾール	+	705.40 > 392.40
ヒドロキシイトラコナゾール	+	721.40 > 408.40
イトラコナゾール-d3	+	710.40 > 397.35

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack GIS (75 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 µm)	Injection Volume	: 3 µL
Mobile Phase	: A) 10 mmol/L Ammonium acetate in water B) Acetonitrile	Probe Voltage	: +4.0 kV (ESI-positive mode)
Time Program	: B. Conc. 65 % (0 - 1.00 min) → 95 % (1.50 - 2.50 min) → 65 % (2.51 - 4.50 min)	DL Temperature	: 300 °C
Analysis Time	: 4.5 min	Block Heater Temperature	: 400 °C
Flow Rate	: 0.4 mL/min	Interface Temperature	: 400 °C
Column Temperature	: 40 °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

イトラコナゾールおよびヒドロキシイトラコナゾールの血漿添加検量線を Fig. 3 に、代表的なクロマトグラムを Fig. 4 に示します。

血漿中濃度で 10 ~ 1000ng/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。

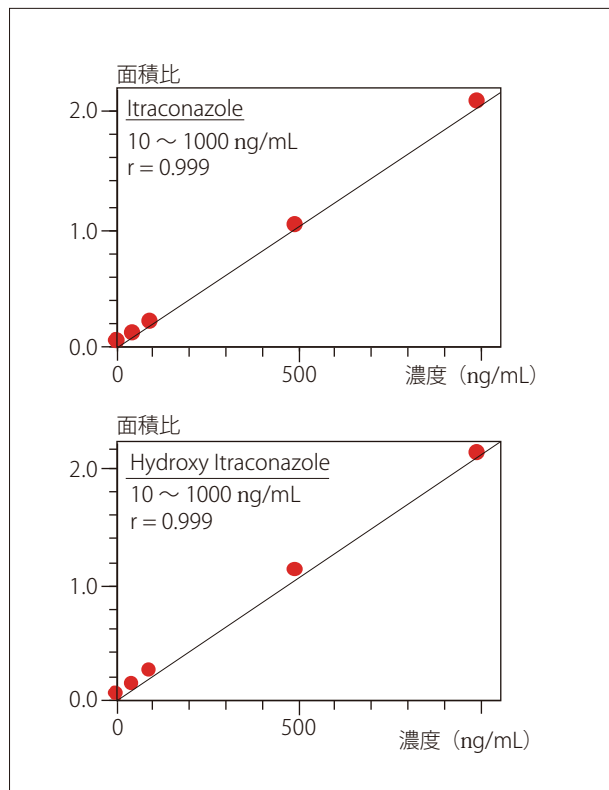


Fig. 3 各化合物酸の検量線  
Calibration Curves

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 15 % 以下かつ正確さ 100 ± 10 % 以内を満たす良好な結果が得られました。

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

		血漿中濃度 (ng/mL)	正確さ (%)	濃度再現性 (%)
Itraconazole	STD1	10	107.3	2.07
	STD2	50	98.9	1.52
	STD3	100	93.7	0.62
	STD4	500	99.1	0.30
	STD5	1000	101.1	0.59
Hydroxy Itraconazole	STD1	10	100.5	11.41
	STD2	50	98.3	4.47
	STD3	100	100.1	0.82
	STD4	500	102.1	1.15
	STD5	1000	99.0	5.55

QC 試料の測定結果を Table 4 に示します。

再現性は 5 % 以下、正確さは 80 ~ 105 % 以内であり、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 (ng/mL)	正確さ (%)	濃度再現性 (%)
Itraconazole	QC1	25	98.7	0.65
	QC2	250	98.8	0.82
	QC3	750	103.3	0.38
Hydroxy Itraconazole	QC1	25	81.3	3.27
	QC2	250	90.4	4.36
	QC3	750	86.9	3.10

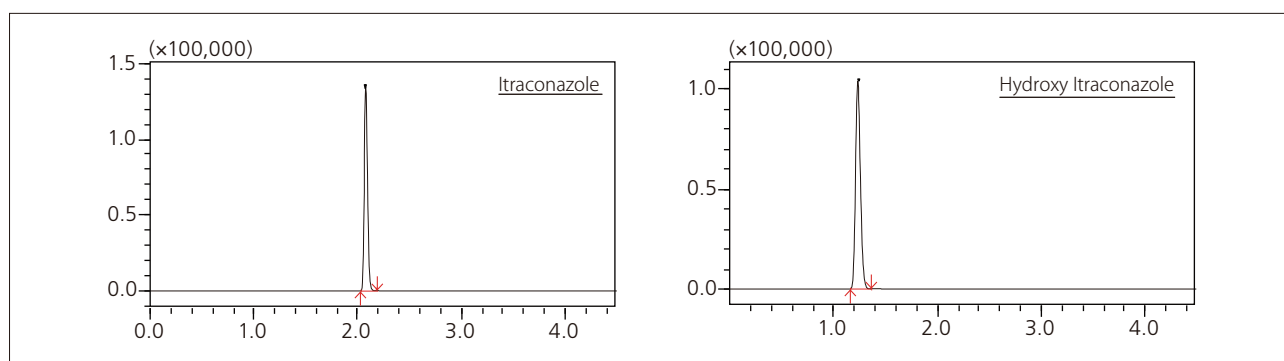


Fig. 4 イトラコナゾールおよびヒドロキシイトラコナゾールの代表的なクロマトグラム  
Chromatograms of Each Concentration of Calibration Standards

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。

A改訂版発行：2016年6月

初版発行：2016年3月

**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

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。