

衝突誘起解離を用いたエリスロマイシンマイナー成分の同定

Identification of erythromycin's minor components by collisionally induced dissociation

エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) はソフトなイオン化であるため、主に分子イオン種のみが観察されるシンプルなマススペクトルを与えます。クロマトグラフィーを行っている際“この副成分は何だろう？”と疑問が起きたら、頼りになるのはやはりMS検出です。

ここでは、シングル四重極の質量分析計でフラグメントイオン情報を得るためのテクニック・衝突誘起解離 (CID) を用いたエリスロマイシン中に含まれるマイナー成分の同定について紹介します。

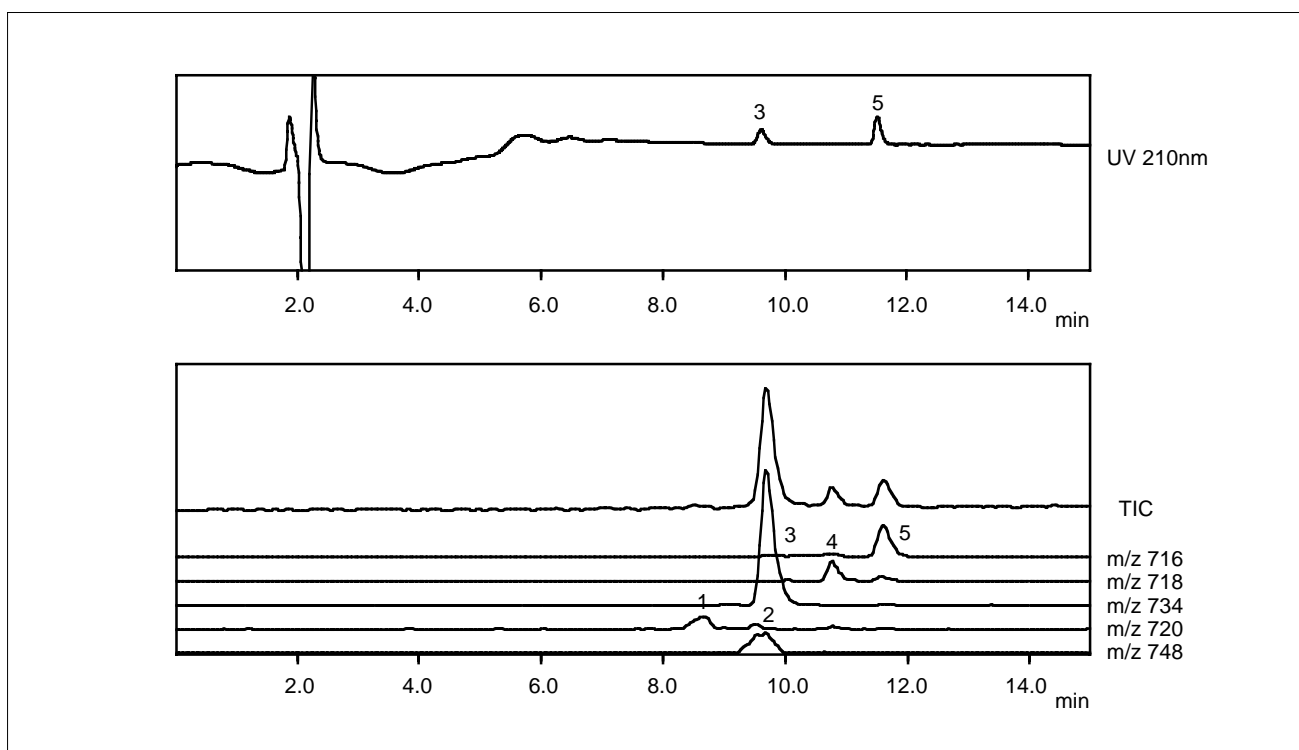


Fig.1 エリスロマイシン標準溶液のUVクロマトグラムとマスクロマトグラム
UV chromatogram, mass chromatograms of erythromycin standard solution

Fig. 1に主成分としてエリスロマイシンを含む溶液を分析して得られたクロマトグラムを示します。強いUV吸収をもたないため、UVでは2本のピーク (ピーク3、5) が確認されるだけですが、TICでは3本のピーク (ピーク3、4、5) が確認できます。さらにマスクロマトグラフィーの手法を用いれば、微量な成分 (ピーク1) や大きなピークに重なって溶出する成分 (ピーク2) に対しても明確に確認することができます。

これら5種の成分は m/z 720、748、734、718、716にプロトン化分子 (Aイオン) を与えることにより、これらの分子量は各々719、747、733、717、715と決定することができます。エリスロマイシン (ピーク3、分子量733) との質量差からピーク1、2、4、5はそれぞれデスメチル、ホモ、デオキシ、デヒドロキシ体であると予想できます。

衝突誘起解離 (CID) スペクトルを測定することにより、

エリスロマイシンとこれらマイナー成分との違いを明らかにすることが可能です。LCMS-QP8000/8000 では、ディフレクタ電圧を変更することで容易にCIDスペクトルを測定することができます。Fig. 2にはエリスロマイシンのCIDスペクトルを示しました。ディフレクタ電圧を60Vに設定することで m/z 576 (Bイオン) および158 (Cイオン) にフラグメントイオンが得られます。これらは、各々アグリコン+アミノ糖部分およびアミノ糖のオキソニウム型イオンに帰属できます。さらに、フラグメントイオンの質量差からアグリコン (Xイオン = B - C) および中性糖 (Yイオン = A - B) の質量に関する情報も得られます。CID条件で測定したマススペクトルから、ピーク1、2はエリスロマイシンと比較して中性糖部分が変化した化合物、ピーク4、5はアグリコン部分が変化した化合物と同定することができます。その結果をFig. 3にまとめました。

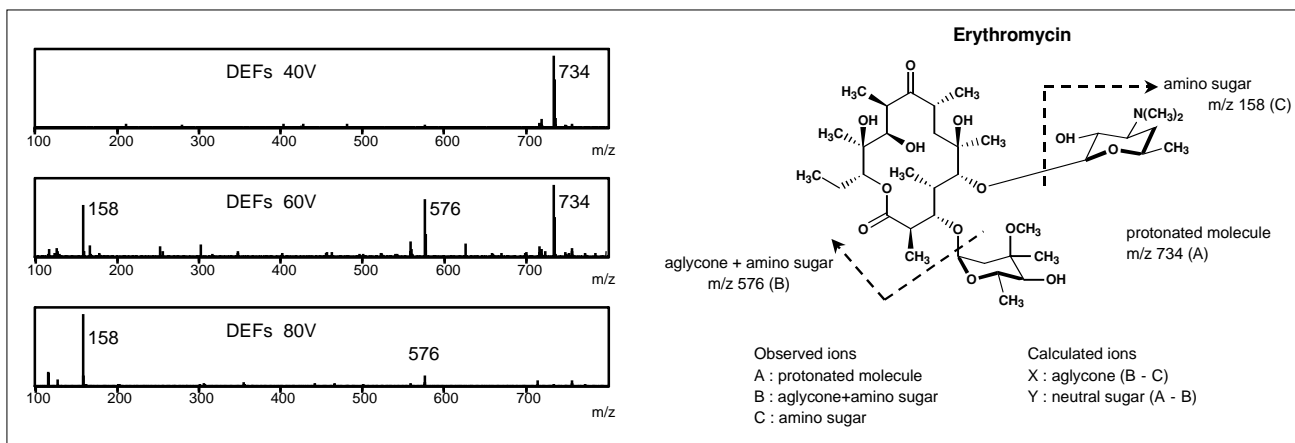


Fig.2 エリスロマイシンの衝突誘起解離スペクトル
Collisionally induced dissociation spectra of erythromycin

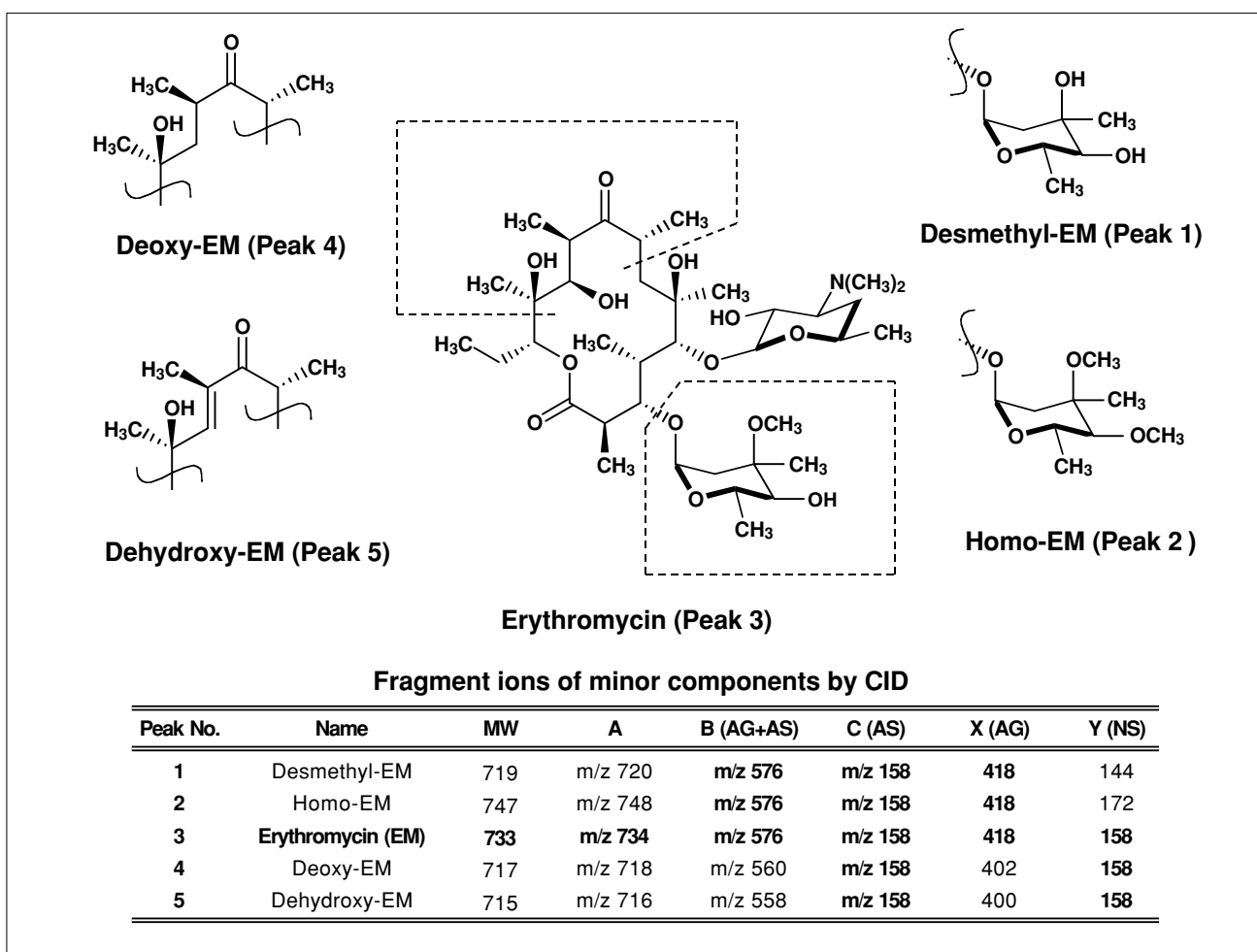


Fig.3 エリスロマイシンマイナー成分の同定
Identification of erythromycin's minor components

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: STR ODS-II (2.0mmI.D. × 150mmL)	Probe voltage	: +4.0 kV (ESI-positive mode)
Mobile phase A	: 10% acetonitrile - water containing 0.1% acetic acid	Nebulizing gas flow	: 3.5 L/min
Mobile phase B	: 90% acetonitrile - water containing 0.1% acetic acid	CDL temperature	: 230
Flow rate	: 0.2 mL/min	CDL voltage	: -75 V
Gradient program	: 50%B(0-1min) 60%B(10-15min)	DEFs voltage	: +40, 60 or 80 V
Column temperature	: 40	Scan range	: m/z 100 - 800 (1.5sec/scan)
UV absorption	: 210 nm		