

Application Data Sheet

No.74

GC-MS

Gas Chromatograph Mass Spectrometer

スキャン/MRM同時測定を用いた全血中の向精神薬の分析 (1)

Analysis of psychotropic drugs in whole blood using scan/MRM simultaneous measurement (1)

GC-MSを用いた薬毒物分析において、全血中に大量に存在する脂肪酸やコレステロールが薬毒物の検出を妨害することがあり、GC-MS/MSの利用が期待されます。ベンゾジアゼピン系向精神薬のTriazolamとEtizolamはコレステロールのクロマトグラムと重なるため、シングルのGC-MSでは正確なデータ解析が困難となる場合があります。しかも、TriazolamとEtizolamは保持指標が近接しており、いずれも特徴的な m/z 313, 342を有しており(Fig. 1)、これらの化合物の判別をさらに困難にしています。

本アプリケーションではスキャン/MRM同時測定を行い、全血中のコレステロールとTriazolamとEtizolamをMRMモードで質量分離した例について紹介します。また、あわせてアプリケーションデータシートNo.75をご参照下さい。アプリケーションデータシートNo.75では、スキャン/MRM同時測定のスキャンのデータをGC/MS法薬毒物データベースに適用し、他の薬毒物の一斉スクリーニングした例について紹介します。

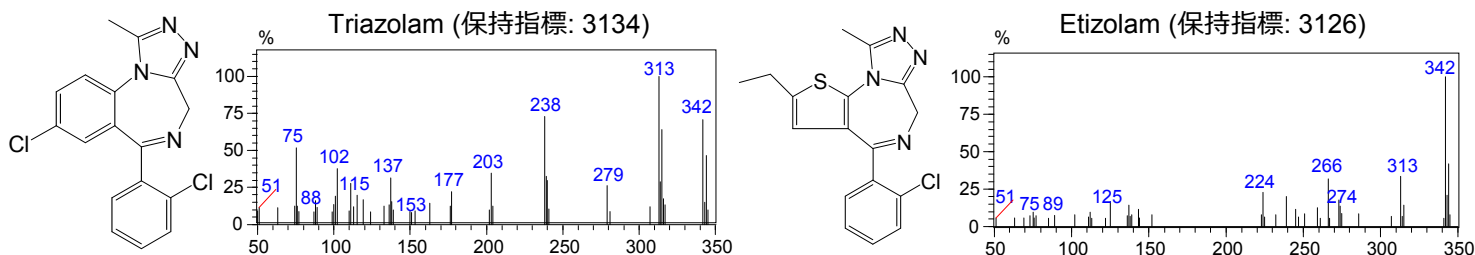


Fig. 1 TriazolamとEtizolamのスキャンマススペクトルと保持指標

前処理

全血試料の前処理はEXtrelut® NT3による液-液抽出法を用いました。採血した全血試料を酸性画分と塩基性画分用に、1mLずつはかり採り、それぞれ1mLのMilli-Q水で希釈しました。酸性画分は10%過塩素酸を用いてpH 5に調整し、塩基性画分は10%アンモニア水でpH 9に調整しました。各溶液をそれぞれEXtrelut® NT3に注ぎ、30分静置した後に、10mLのクロロホルム:イソプロパノール(3:1)混合溶液でそれぞれ溶出しました。その後、酸性画分と塩基性画分の抽出液を混ぜ合わせ、シリカゲルにて脱水後、窒素気流下で乾固し、200 μ Lのクロロホルム:イソプロパノール(3:1)混合溶液で再溶解したものを測定試料としました。

GC/MS法薬毒物データベースを用いた半定量値を算出するため、8種類のPAH-d体が含有しているCustom Internal Standard (PN:560294、島津GLC)を内部標準試料として1 μ g/mLの濃度に調整しました。AOC-20i+sのソルベントフラッシュモードを用いて、調整した抽出試料と内部標準試料をGC-MS/MSへ同時に注入しました。

分析条件

抽出した試料をスキャン/MRM同時測定を行い、MRM測定はTriazolamとEtizolamをターゲットとし、スキャンデータはGC/MS法薬毒物データベースを用いた他の薬毒物の一斉スクリーニングに利用しました。Table 1に分析条件を示します。

Table 1 分析条件

GC-MS	:GCMS-TQ8030					
カラム	:Rxi®-5Sil MS (長さ30m, 0.25mm I.D., df=0.25 μ m)					
ガラスインサート	:スプリットレスインサートウール入り (PN:221-48876-03)					
[GC]				[MS]		
気化室温度	:260°C			インターフェース温度	:280°C	
カラムオープン温度	:60°C(2分)→(10°C/分)→320°C(10分)			イオン源温度	:200°C	
注入モード	:スプリットレス			測定モード	:スキャン/MRM	
キャリアガス制御	:線速度 (45.6 cm/秒)			スキャンイベント時間	:0.15秒	
注入量	:1 μ L			スキャン質量範囲	:m/z 45 – 700	
				スキャンスピード	:5,000 u/秒	
MRMモニタリング m/z						
Compound Name	Retention Time	Quantitative Transition		Qualitative Transition 1		Qualitative Transition 2
		Precursor>Product	CE(V)	Precursor>Product	CE(V)	Precursor>Product
Etizolam	27.149	342.00>272.00	24	342.00>245.00	33	342.00>266.00
Triazolam	27.171	313.00>277.00	25	313.00>278.00	18	313.00>242.00

分析結果

EtizolamとTriazolamが含まれていない全血抽出試料(Blank)とBlank試料にEtizolamとTriazolamを500 ng/mLの濃度になるように添加した試料をスキャン/MRMで測定して得られたマスキロマトグラムをFig. 2とFig. 3にそれぞれ示します。スキャンのマスキロマトグラムではコレステロールがEtizolamとTriazolamと同じ保持時間に検出され、これらの向精神薬の有無を判断することは困難でした。しかし、MRMによる2段階の質量分離により、コレステロールから質量分離でき、EtizolamとTriazolamを選択的に検出できました。また、EtizolamとTriazolamはスキャンでは類似したマスペクトルを示しますが、MRMのクロマトグラムではそれぞれの影響を受ける事なく分離、確認することができました。

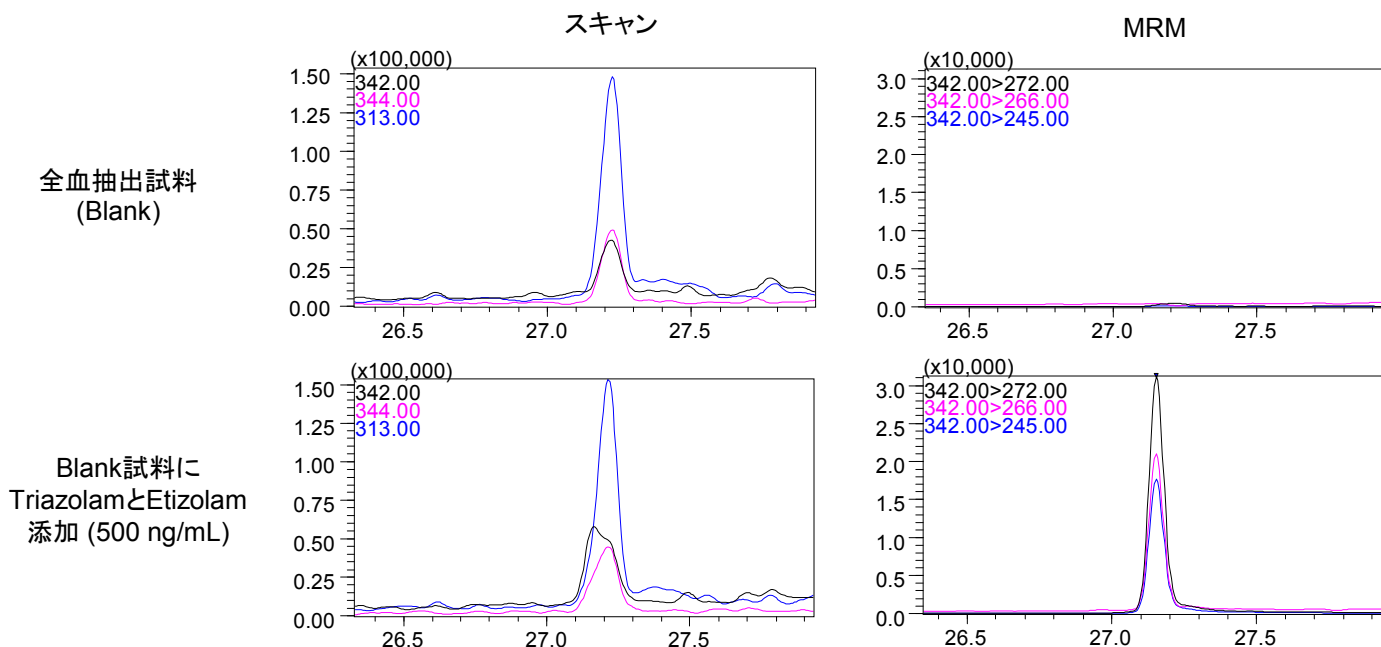


Fig. 2 全血試料中EtizolamのスキャンとMRMマスキロマトグラム

(左:スキャン, 右:MRM, 上段:全血抽出試料(Blank), 下段:Blank試料にTriazolamとEtizolamを添加した試料(500 ng/mL))

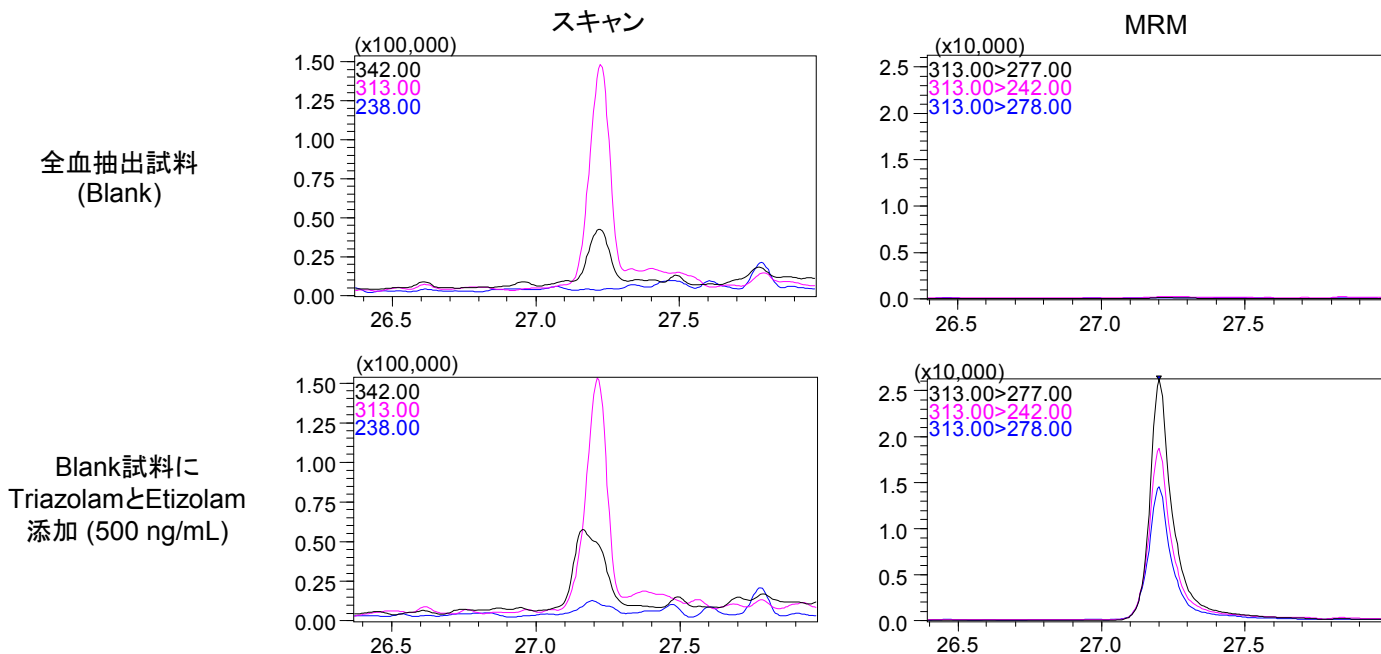


Fig. 3 全血試料中TriazolamのスキャンとMRMマスキロマトグラム

(左:スキャン, 右:MRM, 上段:全血抽出試料(Blank), 下段:Blank試料にTriazolamとEtizolamを添加した試料(500 ng/mL))