

# Technical Report

## 超高速オートサンプラ SIL-40シリーズによる 生体試料中医薬品の超高速分析

Ultra-fast analysis of drugs in biological fluids with the SIL-40 series autosampler

内方 崇人<sup>1</sup>、Davide Vecchietti<sup>1</sup>

### Abstract:

近年、臨床検査の現場においてもLC-MS/MSが使用される事例が増加していますが、1サンプルあたりの分析時間を極力短縮して迅速に分析結果を得ることが求められています。また創薬の探索ステージや薬物動態研究では非常に多くの検体を扱うため、生産性向上のために分析サイクル時間の短縮は重要です。本レポートでは、Nexera™シリーズのオートサンプラ (SIL-40シリーズ) の超高速注入がトータル分析サイクル時間を短縮し、ラボの生産性向上を実現する例をご紹介します。

**Keywords:** SIL-40シリーズ、超高速注入、分析サイクル時間の短縮、ハイスループット、多検体処理

### 1. 高速分析における注入サイクル時間の重要性

LC-MS/MSによる生体液中の医薬品含有量測定の高速化は医薬/臨床分野にて重要です。特に膨大な数の検体を扱う創薬の探索ステージや薬物動態研究においても、分析の高速化は生産性向上のために最も重要なポイントの一つです。

LC分離技術の進歩とMS検出により、生体試料中の対象化合物の分析を数十秒で達成することも可能になりました。しかし、分析業務全体の時間を短縮するためには、カラム分離と検出以外の時間も短縮し、分析サイクル全体を高速化する必要があります。オートサンプラの注入動作に要する時間は、分析サイクル時間に顕著な影響を与えます。

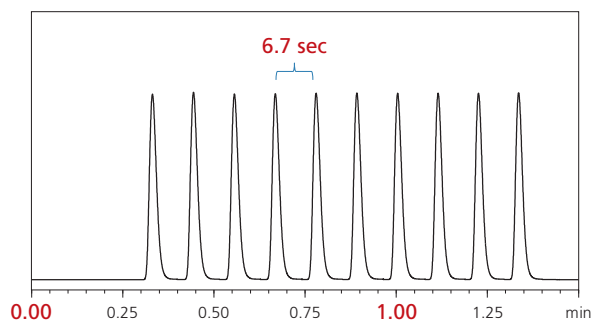


Fig. 1 SIL-40シリーズによるカフェイン分析のUVクロマトグラム

Table 1 分析条件

移動相	: 水 / MeOH = 4 / 6 (v/v)
カラム	: Shim-pack™ XR-ODS II (3.0 mm I.D. × 75 mmL, 2.2 μm)
流量	: 1.4 mL/min
注入量	: 0.5 μL
検出	: UV-VIS 273 nm

### 2. 超高速注入の生体試料分析への適用の評価

Nexeraシリーズのオートサンプラは注入に必要な時間を大幅に短縮しました。Fig. 1に、オートサンプラSIL-40シリーズのカフェイン標準溶液を用いた超高速注入の実力を示します。7秒以下の注入サイクルが達成されていることが分かります。

この超高速注入性能の実試料分析での有効性を評価するため、トリプル四重極質量分析計LCMS-8050による血漿中薬物の超高速分析を実施しました。Fig. 2にテスト化合物と内部標準物質を示します。分析サイクル時間を短く保ったままマトリクス効果低減させるために、分析には5 mm長さのガードカラムを用いました。分析条件をTable. 2およびTable. 3に示します。システムボリュームを極力低減した状態 (カラムを直接ESIソースに接続) で分析しました。また、非常に狭いピーク幅 (5秒以内) であっても、島津のUFMSテクノロジーにより十分なデータポイントが得られます。

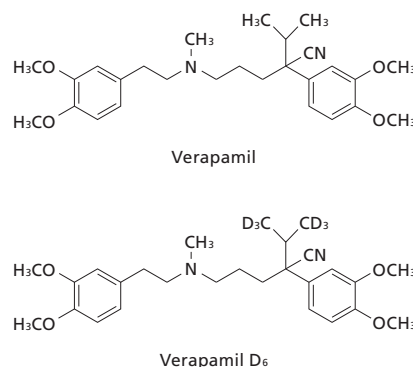


Fig. 2 ベラパミルと内部標準物質の構造式

Table 2 分析条件

システム	: Nexera XR
カラム	: Shim-pack Velox EXP ガードカラムカートリッジ (2.1 mm I.D., 5 mm L. 2.7 μm)
カラム温度	: 室温
移動相	: A: Water + 0.1% Formic Acid B: Acetonitrile + 0.1% Formic Acid A / B = 27 / 13 (v/v)
流量	: 0.75 mL/min
サイクル時間	: 18 sec
注入量	: 0.5 μL

Table 3 MS/MS 条件

	MRM
Verapamil	: 455.1>165.1, 105.3, 303.3
Verapamil D <sub>6</sub>	: 461.9>165.2, 150.2, 309.3

ベラパミルを0.39 ~ 100 μg/Lになるように添加した血漿試料は、内部標準物質を含む0.1%ギ酸添加アセトニトリル溶液を1:3の混合比で添加して除タンパク処理しました。1分間攪拌し室温で5分静置した後、遠心分離して200 μLの上清を回収してマイクロバイアルに移し替えました。

本分析ではSIL-40シリーズの洗浄ポンプを用い、サンプル吸引後にニードル洗浄を行いました(1秒)。その結果、キャリアオーバーを低減しながらも18秒以下の分析サイクル時間を達成しました(Fig. 3)。

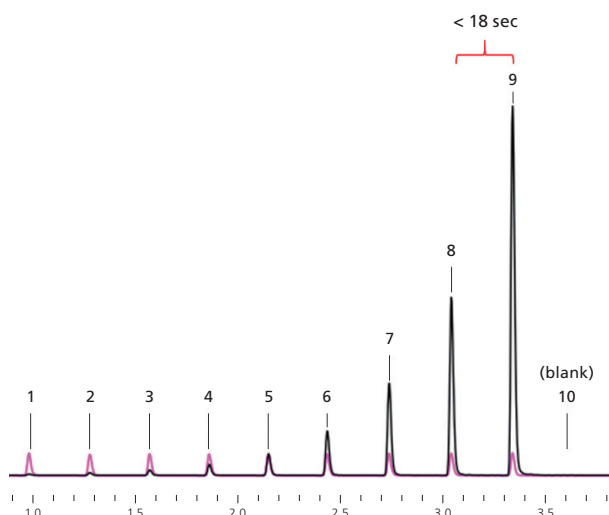


Fig. 3 血漿中ベラパミルの超高速LC-MS/MS連続分析

(黒:ベラパミル, ピンク:内部標準物質)

Peak. 番号 1: 0.39 μg/L, 2: 0.78 μg/L, 3: 1.56 μg/L, 4: 3.12 μg/L,  
5: 6.25 μg/L, 6: 12.5 μg/L, 7: 25 μg/L, 8: 50 μg/L, 9: 100 μg/L,  
10: Blank

NexeraおよびShim-packは、株式会社島津製作所の商標です。

**株式会社 島津製作所**  
分析計測事業部 <https://www.an.shimadzu.co.jp/>

Fig. 3で注入した9段階の添加標準試料(Peak 1~9)で得られる検量線は良好な直線性を示しました( $R^2=0.9998$ )。また定量上限濃度のサンプルを注入後にブランクサンプルを注入(Peak 10)してもノイズレベル以上のピークは検出されず、キャリアオーバーが抑制されていることも確認されました。

さらに、ベラパミル添加血漿試料を300回連続注入し、超高速分析における長期間安定性を評価しました(Fig. 4)。ベラパミル内部標準物質(紺色)の面積値再現性は2.4%で、超高速注入の貢献で18秒以下のサイクル時間にまで加速された超高速分析においても安定に、多検体を測定できることが確認されました。

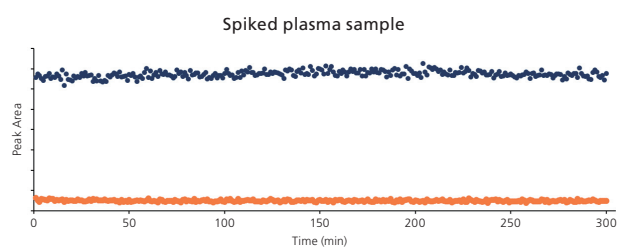


Fig. 4 血漿添加ベラパミルと内部標準物質のピーク面積値推移(300回注入)

橙:ベラパミル (0.39 μg/L)、紺:内部標準物質

### 3. 結論

- SIL-40シリーズとLCMS-8050を組み合わせることで、血漿中の医薬品を正確に定量する超高速分析系の構築が可能になりました。
- 洗浄ポンプによる高速ニードル洗浄機能と長さ5 mmのカラムの採用で、キャリアオーバーを抑制し且つ試料由来の夾雑成分によるマトリックス効果も排除しながら、分析サイクル時間18秒以下の超高速分析を達成しました。

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原作者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。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。

初版発行: 2019年6月  
© Shimadzu Corporation, 2019