

## 高速高分離分析の応用 (その41)

## “Nexera”によるヒト血漿中レセルピンのキャリーオーバー評価

## High Speed with High Resolution Analysis (Part 41)

## Performance Evaluation of Carry Over Using Reserpine in Human Plasma by “Nexera”

近年、LC/MS/MSによる血漿中薬物分析の分野においても、2  $\mu\text{m}$ 前後の微粒子充填カラムを用いた高速高分離分析技術が使用されるようになってきました。微粒子充填カラムのカラム内拡散は、コンベンショナルカラム (5  $\mu\text{m}$ ) より小さいため、ピーク高さが高く、さらなる高感度な定量が可能となります。こうした高感度分析が行なわれる一方、オー

トサンプルのキャリーオーバーが、LC/MS/MSの高感度分析に影響を与えることが問題となってきました。

ここでは、超高速LCシステム“Nexera”とLC/MS/MSを用い、Nexeraオートサンブラ“SIL-30AC”のキャリーオーバー評価を行った結果をご紹介します。

T. Yoshida

## ■ヒト血漿中のレセルピン試料調製

## Preparation of Reserpine in Human Plasma

キャリーオーバー評価用薬物としては、レセルピンを用いました。Fig. 1に、レセルピンの構造式を示します。

レセルピンは、精神安定剤、血圧降下剤として用いられる薬物ですが、LC/MS測定においては感度チェック用に多用されている化合物の一つです。また、レセルピンは、オートサンブラのキャリーオーバー性能を試す化合物としても使用されており、LC/MSのキャリーオーバー評価に多くの事例が報告されています。しかしながら、レセルピンのようなLC/MSでよく使用されている化合物であっても、血漿中のキャリーオーバー評価結果については、多く公表されていません。

今回、Nexeraオートサンブラ“SIL-30AC”のキャリーオーバー評価にあたっては、実際のLC/MS/MS測定において、血漿中の薬物定量が良く行われていることを考慮し、ヒト血漿中レセルピンをターゲットとしました。

Fig. 2に、レセルピン添加ヒト血漿の前処理工程を示します。ヒト血漿は市販品を使用しました。調製されたレセルピン添加試料10  $\mu\text{L}$ を“SIL-30AC”によりNexera-MS/MSシステムに導入しました。

レセルピンのプロトン付加分子イオン ( $[\text{M}+\text{H}]^+$  :  $m/z=609$ ) をプレカーサイオン、 $m/z=195$ をプロダクトイオンとして、MRM (Multiple Reaction Monitoring) 定量しました。

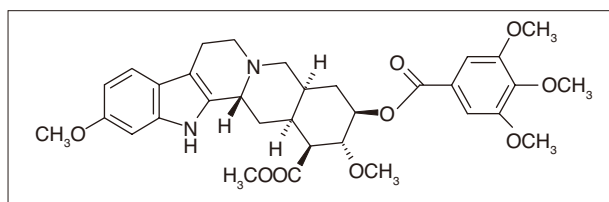


Fig. 1 レセルピンの構造式  
Structure of Reserpine

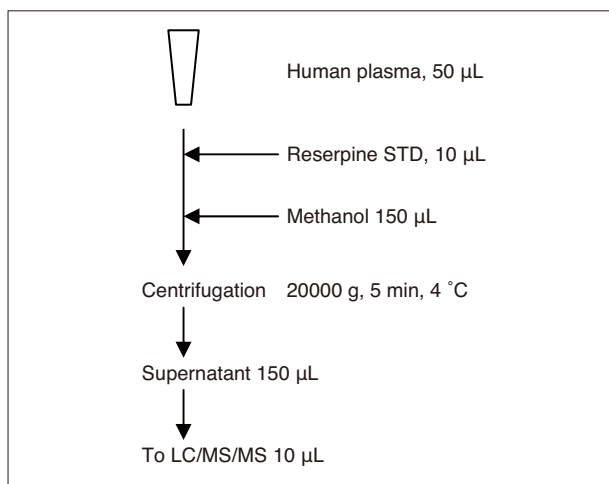


Fig. 2 前処理工程  
Pretreatment Protocol

## ■ヒト血漿中レセルピンのキャリーオーバー評価結果

### Result of Performance Evaluation of Carry Over Using Reserpine in Human Plasma

Table 1に、分析条件を示します。オートサンプラ“SIL-30AC”は、4種類の洗浄液を用いてサンプル針内外面の洗浄を行うことができます。洗浄液および洗浄方法についても、Table 1に示しています。

血漿中薬物のキャリーオーバー発生原因のひとつに血漿に存在するりん脂質がサンプリングデバイスに付着し、その上に薬物が吸着することも考えられています。そのため、針内洗浄には、りん脂質を溶解しやすい2-プロパノールをベースに、2-プロパノール濃度の高い「R1」、2-プロパノールと他の溶媒と組み合わせた「R2」を考案し、300  $\mu$ Lで交互2回洗浄しました。また、針外面は、「R3」（「R1」と同一溶液）で洗浄ポンプを用いて1秒間洗浄を行いました。

Fig. 3に、ヒト血漿中レセルピンのキャリーオーバー評価の結果を示します。まず、ヒトブランク血漿 (Fig. 2の工程でレセルピンの代わりにメタノールに変更した試料) を分析しました。そのMRMクロマトグラムが「Blank (pre)」です。次に、ヒト血漿中レセルピン濃度400 ng/mLの試料を10  $\mu$ L注入 (Fig. 3中「400 ng/mL」) 後、再度ヒトブランク血漿を分析し、レセルピン溶出位置 (1分付近) のキャリーオーバーを評価しました。0.1 ng/mLから算出したレセルピンS/N=3の検出限界値は0.027 ng/mLであり、レセルピン濃度400 ng/mL注入後のブランクノイズ値は、それ以下でした。このようにヒト血漿試料の分析においても、SIL-30ACの低キャリーオーバー性能が確認できました。

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

<HPLC Conditions>		[Auto Sampler Option]	
Column	: ODS column (50 mmL. $\times$ 2.0 mmI.D., 2.3 $\mu$ m)	Wash solution	
Mobile Phase	: A : 0.1 % Formic acid in Water B : 0.1 % Formic acid in Acetonitrile (Methanol) Isocratic, A/B = 7/3	R0	: Mobile phase A
Flow Rate	: 0.5 mL/min	R1	: 50 % 2-Propanol
Column Temperature	: 40 $^{\circ}$ C	R2	: Acetonitrile / 2-Propanol / Water / Formic acid (700 / 200 / 100 / 2)
Injection Volume	: 10 $\mu$ L	R3	: 50 % 2-Propanol Internal Rinse R1 $\rightarrow$ R2 $\rightarrow$ R1 $\rightarrow$ R2 $\rightarrow$ R0, Wash volume 300 $\mu$ L each
<MS conditions>		External Rinse	
Ionization Mode	: ESI positive (Turbo Spray) Reserpine (609 > 195)	R3	: 1 s
		Rinse mode	: Before and after aspiration
		Rinse method	: Rinse pump then port

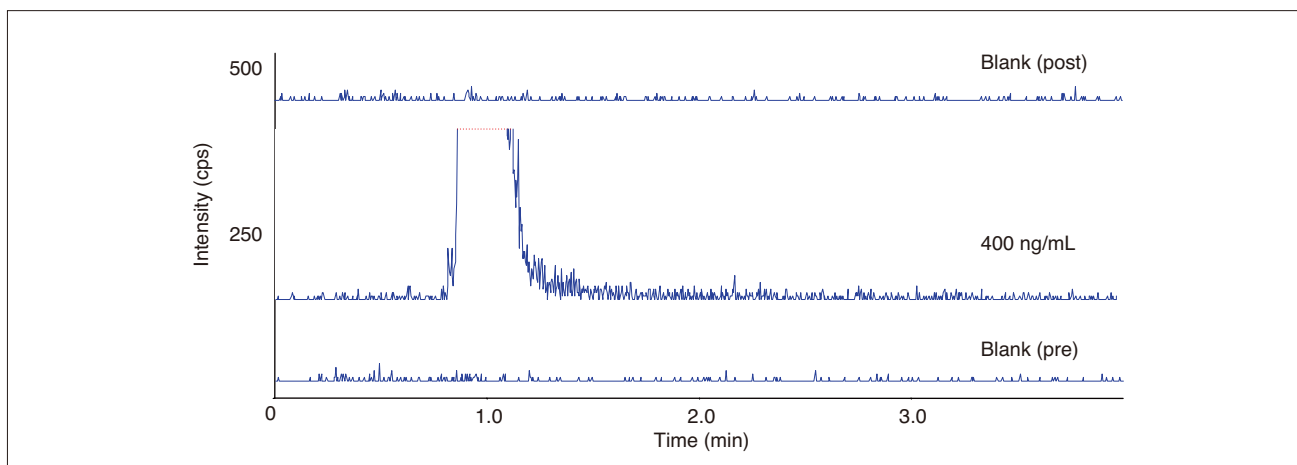


Fig. 3 ヒト血漿中レセルピンのキャリーオーバー評価  
Performance Evaluation of Carry Over Using Reserpine in Human Plasma

※掲載データは薬事承認された装置で採取したものではありません。

初版発行：2011年4月

**島津製作所** 分析計測事業部  
応用技術部

島津コールセンター

☎0120-131691  
TEL: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。

3100-04101-570-1K  
2011.4