

DPiMS-8060 による血漿中薬物の分析 (2) -アビラテロンの定量分析-

齋木秀和、脇華菜

ユーザーベネフィット

- ◆ 血漿中に含まれる薬剤の濃度依存性のある分析が簡単にできます。
- ◆ カラムの劣化やコンディションに左右されない分析結果が得られます。

■はじめに

血液や血漿中に含まれる薬剤の濃度測定は、研究や臨床サンプル分析の場面で頻繁に行われる分析の一つです。そのため、簡単かつ迅速に結果を得られる手法が求められています。現在、サンプル中の薬剤の濃度を測定する場合はLC/MSがよく用いられています。しかし、LC/MSはカラムを使用しているため、血液や血漿中に含まれるタンパク質など、代謝産物に由来するマトリックス成分を慎重に除く必要があります。前処理を怠るとカラムの劣化やコンディションの変化が起こり、分析結果に影響を及ぼす可能性があります。それ以外にも、不十分な前処理は装置の汚染の原因となりメンテナンス頻度の増加にもつながります。

本稿では、LCMS™-8045 へ装着した探針エレクトロスプレーイオン化 (Probe electrospray ionization ; PEI) ユニットDPiMS-8060 による分析方法を提案します。蛋白質除去のみの簡単な前処理のみで、市販血漿成分中に含まれるアビラテロンの濃度を計測した事例を紹介いたします。

■ PEI法の原理と分析可能サンプル

LC/MSにより血漿中の薬物を分析する場合、流路やカラムの劣化を避けるために除蛋白のプロセスを慎重に行う必要があります。そのため、移動相やメソッドにも左右されますが、前処理～分析まで1サンプル当たり約30分程度の時間が必要です。

今回使用したPEI法は直接イオン化技術の一つでカラムを使用しないため、カラムの劣化に由来する分析結果への影響は起こりません。さらに、一度にイオン化する液滴量が数十pLと微量であるため、イオン化を阻害するマトリックス効果の影響や装置の汚染が少ない分析方法です。このような特長をもつPEI法は、サンプル中の薬剤濃度などを簡単かつ迅速に測定したい場合に有用です。

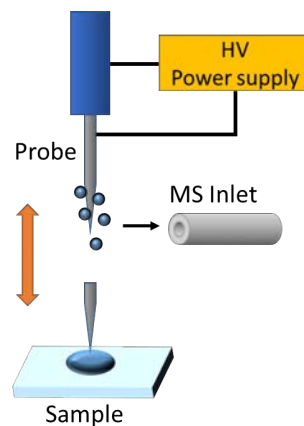


図1 DPiMS™-8060 の外観とPEI法の原理

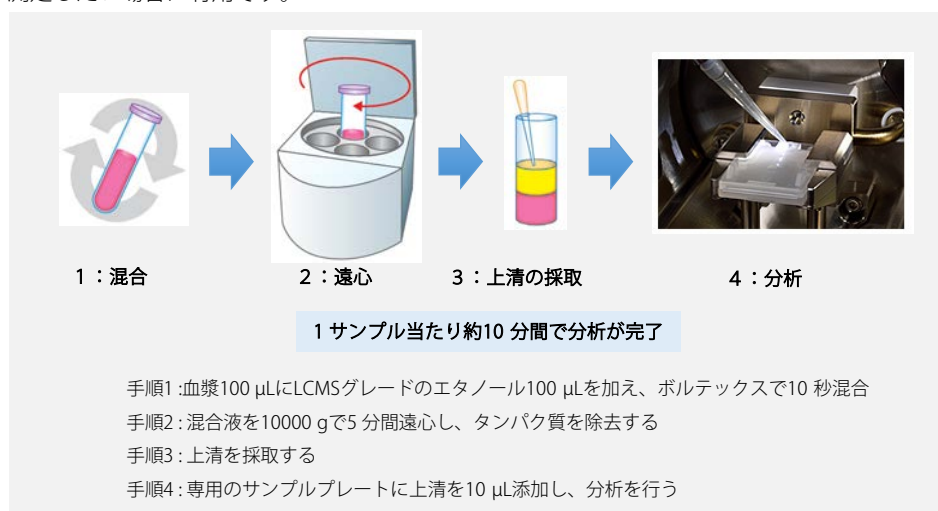


図2 サンプル調整のワークフロー

■アビラテロンの測定結果

今回はアビラテロン（図3）の血漿中の濃度を測定しました。血漿にはイオン化を阻害するマトリックス成分が多く存在しています。このような状況下でPESI法による血漿中濃度の定量が可能かを確認しました。

アビラテロン由来のイオンを検出できる分析条件を探索するため、50 %エタノール溶液に溶解したアビラテロン標準試料を用い、分析を行いました。加えて、アビラテロンの代謝物の検出のため、正イオンモードでプロダクトイオンキャンで測定を行いました。その結果、 m/z 170 と 150 が固有のフラグメントイオンとして検出されました（図3、図4）。定量分析では、 m/z 150 を使用し、確認イオンとして m/z 170 を用いることにしました。

■血漿中のアビラテロンの定量分析

血漿中のアビラテロンの定量分析を試みました。サンプル調整は図2 に示すワークフローで行いました。

アビラテロンの最終濃度を様々に変えた血漿を調製し、等量のエタノールを加えてボルテックスで混合しました。混合溶液を遠心分離し、蛋白質を除去した上清を分析サンプルとしました。DPiMS-8060 を用い、MRMモードでサンプルを分析した結果が図5 です。血漿中に添加したアビラテロンは2 ~400 ng/mLの濃度範囲で直線性が得られ、検量線の決定係数は $R^2=0.9861$ と良好でした。さらに、直線性が得られた範囲における各測定濃度のバラツキは、2 ng/mLの場合を除いて%RSDが約20 %以内に収まっており、十分な定量性を得られたといえます。また、前処理を含めた分析時間も1 サンプル当たり10 分以内でした。これらの結果から、短時間で迅速に定量を行えると考えられます。

■まとめ

直接イオン化法の一つであるPESI法を用いたDPiMS-8060 を用いて、血漿中のアビラテロンの定量分析が可能であることがわかりました（図5）。また、分析にかかる時間は1 サンプル約10 分と、前処理を含めた測定時間を大幅に短縮することが可能です。

本稿で紹介した手法は、DPiMSシステムが様々なマトリックス成分を含む溶媒中の標的物質の定量に使用できる可能性を示したものであり、将来的に臨床サンプル分析などでの活用が期待されます。

■謝辞

本報告は京都大学の井上武弘様のご協力のもと実施されました。この場を借りて感謝いたします。

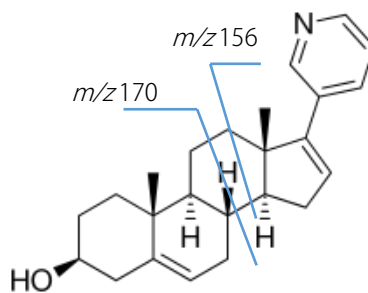


図3 アビラテロンのフラグメントイオン構造

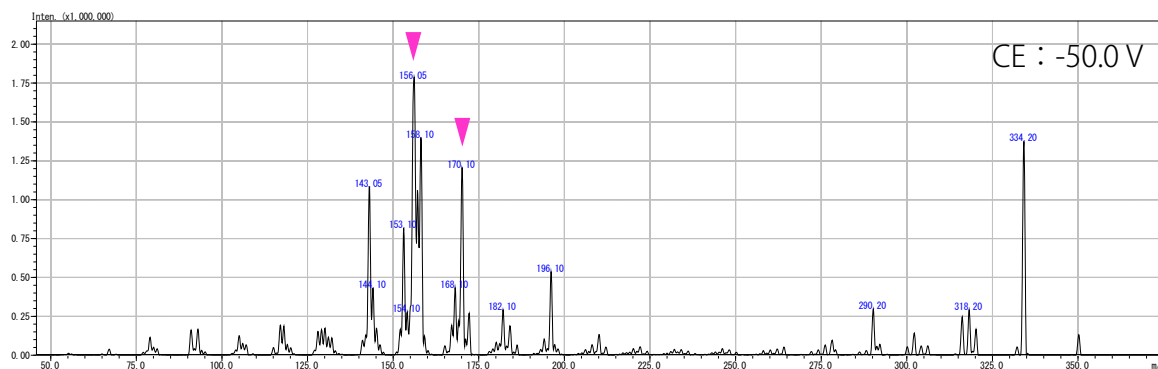
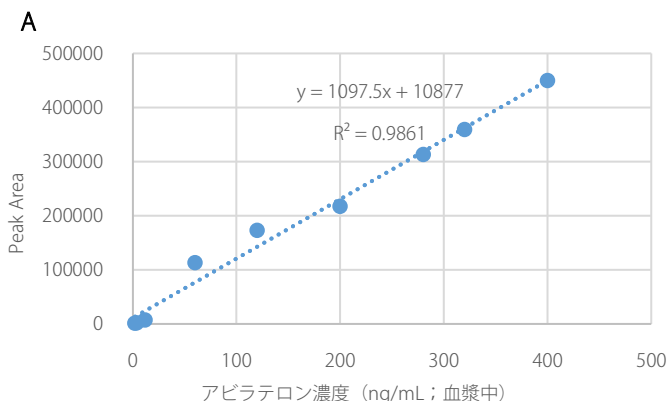


図4 アビラテロン標準品の測定結果（5 ppm）



B

アビラテロン濃度 (ng/mL)	ピーク面積の平均値	SD	%RSD
2	690	212.3	30.8
4	1439	194.3	13.5
12	6651	304.9	4.6
60	112840	17144.2	15.2
120	172832	5437.3	3.1
200	216994	6537.4	3.0
280	312745	21145.7	6.8
320	358782	16537.9	4.6
400	449258	9537.8	2.1

図5 血漿中のアビラテロン測定結果
A：血中アビラテロン濃度の検量線、B：各濃度の面積値の平均と標準偏差（SD）から算出した%RSD

DPiMSおよびLCMSは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

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

01-00340 初版発行：2022年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

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。

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。

<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022