

## Application News

高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-9030

# LCMS-9030とMS/MSライブラリを用いた血中薬物の定性分析

小林 寛也<sup>1</sup>、新苗 智也<sup>2</sup>、荒尾 洋平<sup>2</sup>  
1 信州大学、2 島津製作所

### ユーザーベネフィット

- ◆ LCMS-9030による薬物の定性スクリーニングは、測定時間15分で実施できます。
- ◆ LabSolutions Insight DiscoveryおよびLC/MS精密質量ライブラリ 薬毒物 Ver.2により、測定データを簡便に解析できます。

### はじめに

法医中毒では、処方薬や市販薬を過剰摂取した症例が多く、服用した薬物には、睡眠薬、抗うつ薬、抗不安薬などの精神疾患治療薬が多くなっています。引地らは「過量服用による致死性の高い精神科治療薬の同定—東京都監察医務院事例と処方データを用いた症例対照研究—」<sup>1)</sup>の中で、過剰摂取により死亡リスクの高い薬物30種類を報告しています。また、浅野らは「検視における向精神薬の統計的観察」<sup>2)</sup>の中で、検視の際に現場に残されていた薬物の内、特に睡眠薬、抗不安薬、抗うつ薬および抗精神病薬について、上位20種類を報告しています。両者で報告されている薬物の大半は共通しており、これらの薬物は、法医中毒学上重要な検査対象と考えられます。そのため、法医中毒分析では、関連成分を漏れなく定性できるワークフローの構築が求められています。

本アプリケーションでは、四重極飛行時間 (QTOF) 型質量分析計LCMS-9030、LabSolutions Insight Discoveryおよび「LC/MS精密質量ライブラリ 薬毒物 Ver.2」を用いた薬物の定性スクリーニングをご紹介します (図1)。



図1 LC/MS精密質量ライブラリ 薬毒物 Ver.2

### 前処理および分析条件

ウシ全血に25種の薬物を0.02 μg/mLとなるように添加し、ウシ全血添加試料を調製しました。添加する薬物には、上記の報告で共通する薬物18種、Risperidoneの活性代謝物であり、最近Risperidoneに代わる薬物としての利用が増えているPaliperidone、近年その利用が多くなっている睡眠薬であるLemborexant、SuvorexantおよびRamelteonならびに若年層でのオーバードーズが問題となっている風邪薬の成分であるAcetaminophen、ChlorpheniramineおよびDiphenhydramineを加えた合計25種を採用しました (表1)。薬物の添加濃度は、参考文献<sup>3)</sup>に中毒域濃度が記載されている薬物 (25種中21種) のうち、最も中毒域濃度の低いBrotizolamに合わせて決定しました。

表1 ウシ全血に添加した薬物25種

#	化合物	#	化合物	#	化合物
1	Acetaminophen	10	Flunitrazepam	19	Quetiapine
2	Alprazolam	11	Haloperidol	20	Ramelteon
3	Bromazepam	12	Lemborexant	21	Risperidone
4	Brotizolam	13	Levomopromazine	22	Sulpiride
5	Chlorpheniramine	14	Lorazepam	23	Suvorexant
6	Chlorpromazine	15	Nitrazepam	24	Zolpidem
7	Diazepam	16	Olanzapine	25	Zopiclone
8	Diphenhydramine	17	Paliperidone		
9	Etizolam	18	Paroxetine		

### 前処理方法

試料前処理には、Micro Volume QuEChERS kit (P/N : S225-37870-91) を用いました。前処理法のフローを図2に示します。Micro Volume QuEChERS kitに水200 μL、アセトニトリル300 μL、薬物添加ウシ全血100 μLを添加し、十分に攪拌した後、遠心分離しました。上清を回収し、乾固後、メタノール40 μLに再溶解し、分析試料としました。



図2 Micro Volume QuEChERS kitを用いた前処理フロー

### LC/MS/MS分析条件

LC/MS/MSによる定性分析は、Nexera™およびLCMS-9030を用いて実施しました。分析条件を表2に示します。

表2 NexeraおよびLCMS-9030の分析条件

System	: Nexera XS
Column	: Shim-pack Velox™ SP-C18 <sup>*1</sup> (100 mm × 2.1 mm I.D., 2.7 μm)
Temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL 10 mM ammonium formate+ 0.1 % formic acid in Water
Mobile phases	: 10 mM ammonium formate+ 0.1 % formic acid in MeOH
Flow rate	: 0.3 ml/min
Mode	: Gradient elution (15 min)
System	: LCMS-9030 (ESI Positive)
Nebulizing gas	: 3 L/min
Drying gas	: 10 L/min
Heating gas	: 10 L/min
DL temp	: 250 °C
Heat block temp	: 400 °C
Interface temp	: 300 °C
Mode	: DDA <sup>*2,3</sup>
MS Scan Range	: m/z 100 – 600
MS/MS Scan Range	: m/z 50 – 600

\*1 P/N : 227-32003-03

\*2 溶媒のみを測定した際に検出されたイオンを、除外イオンリストに設定

\*3 外部標準により質量補正を実施

## ■ データ解析

得られたデータは、LabSolutions Insight Discoveryでライブラリ検索を行いました。LabSolutions Insight Discoveryは複数の分析データに対する解析を、バッチ形式で実行することができ、解析の手間を削減できます。ライブラリには、「LC/MS精密質量ライブラリ 薬毒物 Ver.2」(S225-45370-91)に含まれるODSメソッドライブラリを用いました。

## ■ LCMS-9030による定性スクリーニング

ウシ全血に添加した薬物25種のライブラリ類似度および質量誤差を表3、一部の薬物の実測スペクトルを図3、取得データのMSクロマトグラムを図4に示します。試料中には多くの夾雑ピークが存在し、また互いに保持時間が極めて近い薬物もありましたが、添加した全ての薬物が同定され、それら薬物のライブラリ類似度は82-99でした。また、各薬物のプリカーサーイオン $m/z$ における実測値と理論値の差は1ppm以内でした。

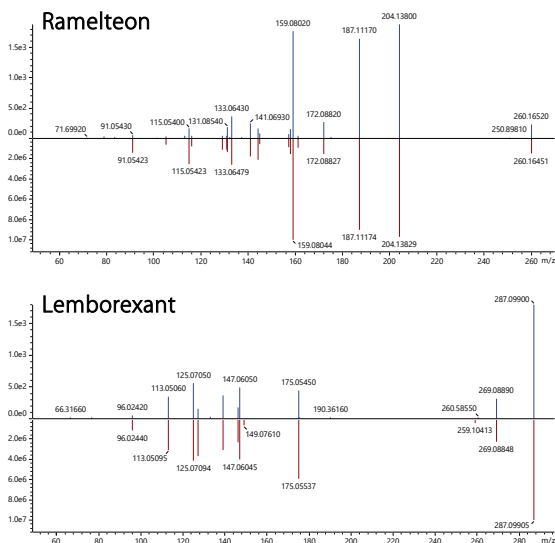


図3 (上段) ウシ全血添加試料 (0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の実測MS/MSスペクトル および (下段) 各薬物のライブラリ中のMS/MSスペクトル

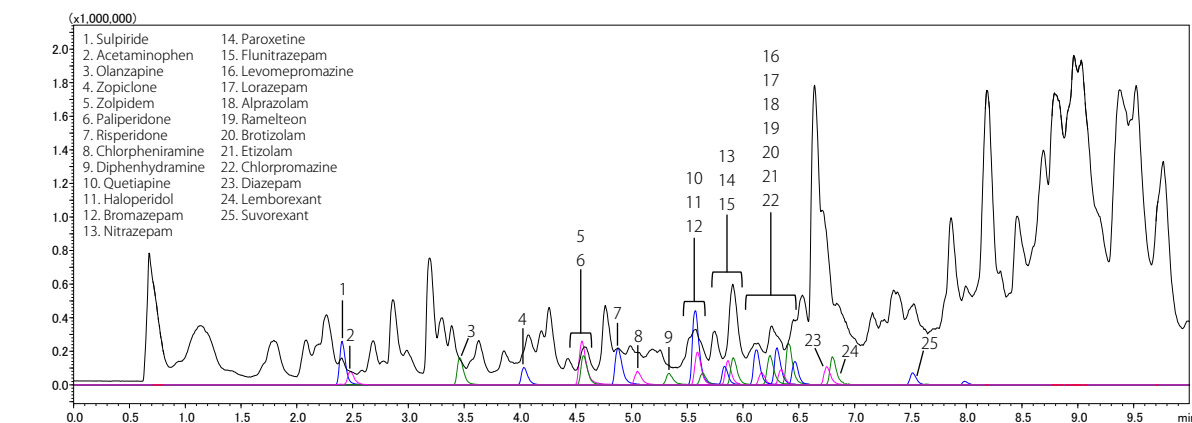


図4 ウシ全血添加試料 (0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) のTIC (黒) および各薬物のXIC (青、ピンク、緑)

XICについては、LorazepamおよびSuvorexantは倍率 $\times 10$ 、その他の薬物については倍率 $\times 5$ で表示しました。

### <参考文献>

- 1) 引地和歌子, 他. 過量服薬による致死性の高い精神科治療薬の同定—東京都監察医務院事例と処方データを用いた症例対照研究—. 精神経誌. 2016, vol.118, No.1, p.3-13.
- 2) 浅野水辺, 他. 検視における向精神薬の統計的観察. 日本医事新報. 2018, No.4925, p.49-53.
- 3) M.Schulz, et al. Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 1100 drugs and other xenobiotics. Critical Care. 2020, vol.24, p.195-198.

LCMS、Nexera、LabSolutionsおよびShim-pack Veloxは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

表3 ウシ全血に添加した薬物25種のライブラリ類似度および質量誤差

#	化合物	ライブラリ類似度	質量誤差 (ppm)
1	Acetaminophen	98	-0.79
2	Alprazolam	96	-0.39
3	Bromazepam	94	-0.60
4	Brotizolam	95	-0.20
5	Chlorpheniramine	96	-0.29
6	Chlorpromazine	82	-0.38
7	Diazepam	97	0.00
8	Diphenhydramine	98	-0.51
9	Etizolam	99	-0.44
10	Flunitrazepam	98	-0.13
11	Haloperidol	95	-0.24
12	Lemborexant	91	0.51
13	Levomepromazine	99	-0.21
14	Lorazepam	96	-0.28
15	Nitrazepam	95	-0.07
16	Olanzapine	94	-0.19
17	Paliperidone	98	-0.05
18	Paroxetine	96	0.15
19	Quetiapine	94	-0.08
20	Ramelteon	97	0.04
21	Risperidone	92	-0.05
22	Sulpiride	99	-0.26
23	Suvorexant	99	0.11
24	Zolpidem	96	0.10
25	Zopiclone	94	-0.05

## ■ まとめ

25種の薬物を添加したウシ全血を対象に、LCMS-9030による定性スクリーニングを行いました。多くの夾雑成分を含む試料から、添加した全ての薬物が80以上のライブラリ類似度および高い質量精度で同定され、良好な結果が得られました。以上より、薬物の定性スクリーニングにおけるLCMS-9030および「LC/MS精密質量ライブラリ 薬毒物 Ver.2」の有用性を示すことができました。

▶ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ LCMS-9030

四重極飛行時間型質量分析計

## 関連分野

▶ 臨床研究・法科学

▶ 法科学

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ