

MassHunter GC スクリーニング機能 および法中毒データベース（725 化合物）を 用いた薬物の定性および半定量

著者

小笠原 亮

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

MassHunter Quantitative Analysis の GC スクリーニング機能（GC スクリーニング）を用いると、デコンボリューションで得られたマスペクトルと保持時間のデータベース照合による高度な定性と同時に、半定量を行うことができます。定量精度は標準品で検量線を作成する場合に比べると劣りますが、追加の測定なしで濃度の目安を知ることができ実用的です。本アプリケーションノートではアジレント法中毒ライブラリに相対保持指標（RI）、Phenanthrene-d10 と各薬物の相対レスポンスを追加したデータベースを用い、サンプルの GC スクリーニングを実施しました。

はじめに

GC スクリーニングでデータベースとして使用した G1674AA アジレント法中毒ライブラリには 725 の薬物（誘導体化されたものを含む）のマススペクトルが登録されています¹⁾。DB-5ms および DB-35ms の各カラムの特定の分析条件で得られた保持時間が登録されており、それぞれ FT5.L および FT35.L という名称です。拡張子 .L の弊社用ライブラリは MassHunter に付属する Library Editor で拡張子 .mslibrary に変更することで新規追加や情報の変更などの編集が可能になります。本報では上記 FT5.L ライブラリに内部標準 (IS) として Phenanthrene-d10 のマススペクトル、各薬物の DB-5ms カラムにおける RI、Phenanthrene-d10 と各薬物の相対レスポンスを追加したデータベース (FT5-RI.mslibrary) を使用しました。RT の代わりに RI を登録することにより、(同条件でアルカン mix を測定する必要は生じるものの) 昇温条件など分析の自由度が向上するメリットがあります。

実験方法

測定

生体抽出サンプルに IS として Phenanthrene-d10 を 10 ppm 相当添加し、7000D トリプル四重極 GC/MS の Scan モードで測定しました。また、同条件で C7-C33 の n-アルカン混合標準溶液 (各 10-20 ppm) の測定を行い、データベースに登録されている RI から各薬物の予想 RT の算出に用いました。条件の詳細を表 1 に示します。

表 1. 分析条件

装置	
GC	Agilent 7890B
オートサンプラー	Agilent 7693A
MS	Agilent 7000D
GC 条件	
注入口ライナ	スプリットレス用シングルテーパ、ウルトラナート、ガラスウール入り (P/N : 5190-2293)
注入量	1 µL
注入モード	スプリットレス
注入口温度	280 °C
カラム	DB-5ms, 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm (P/N : 122-5532)
オープン昇温	100 °C (1min) - 10 °C/min - 325 °C (5 min)
キャリアガス	19 psi, 定圧力 (ヘリウム)
インターフェース温度	300 °C
MS 条件	
イオン化法	EI
イオン源温度	230 °C
スキャン範囲	m/z 40-570
四重極温度	150 °C

解析メソッドの作成 (更新) とスクリーニングの実施

解析には MassHunter Quantitative Analysis の GC スクリーニング機能を使用しました。解析メソッドはライブラリ (FT5-RI.mslibrary) から簡単に作成することができ、化合物名や定量イオンなどが登録されたメソッドテーブルが自動作成されます。その中から Phenanthrene-d10 を選択して IS に指定し、濃度を入力します。また n-アルカン mix のデータから各アルカンの RT を登録した .csv ファイルを作成してメソッドに読み込みます。これによりライブラリに登録されている RI から各薬物の予想 RT が算出され、メソッドテーブルに登録されます。定性の際の目安となる一致スコアは基本的にマススペクトルの一致度により決定されますが、予想 RT と実測 RT の差もスクリーニング結果に加味されます。

作成した解析メソッドをデータに適用すると解析がスタートし、予想 RT 付近に存在するピークはデコンボリューションされ高精度なマススペクトルが抽出されます。マススペクトルはライブラリサーチにかけられ、一致スコアが算出されると同時に半定量値が算出されます。

結果と考察

GC スクリーニング結果

スクリーニング結果は化合物ごとに「検出」(✓、緑)、「要検討」(!、橙)、「非検出」(X、赤) で示されます。今回は最低一致スコア 85 に設定しましたが、検出と判定されたのは Cotinine (図 1, スコア 93.9) と Zolpidem (図 2, スコア 90.7) の 2 化合物でした。要検討の化合物は 53 化合物でしたが、確認したところほとんどは予想 RT 付近の夾雑物由来ピークが原因であり、マススペクトルはかなり異なることから最終的に非検出と判断されました。要検討の中では Nicotinamide (図 3, スコア 61.7) は極微量検出されている可能性がありました。半定量値は Cotinine が 34.2 ppm、Zolpidem が 18.9 ppm、Nicotinamide は 0.6 ppm でした。

GC スクリーニングと Unknowns analysis の違い

ライブラリを使用して化合物同定を行うためのソフトウェアとしては MassHunter Unknowns analysis も法医学分野で広く使用されています²⁾。Unknowns analysis は使用するデータベースやメソッド設定に関して GC スクリーニングと共通部分も多いですが、こちらは定性に特化したソフトウェアであり半定量値を算出することはできません。一方利点は NIST ライブラリなど数十万のマススペクトルに対してサーチを行うことができる点です。1 データにつき数秒〜数十秒で定性結果が得られます。したがって定性のみが目的の場合は Unknowns analysis をお勧めします。一方、GC スクリーニングは半定量が可能ですが、定量メソッドテーブルにすべての化合物を登録する必要上、処理できる化合物数に限度があります。一般に化合物数は千以下程度が目安です。

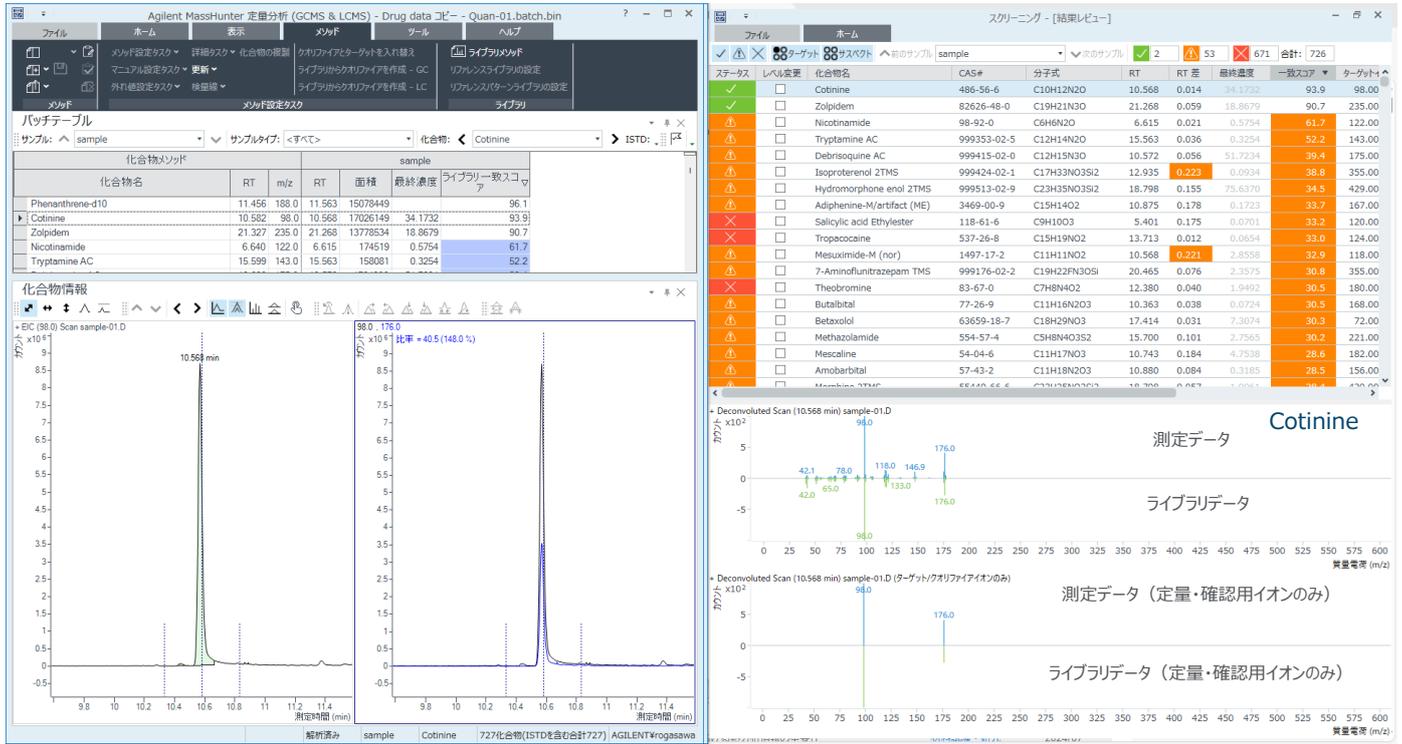


図 1. GC スクリーニング結果 (Cotinine; 検出判定)

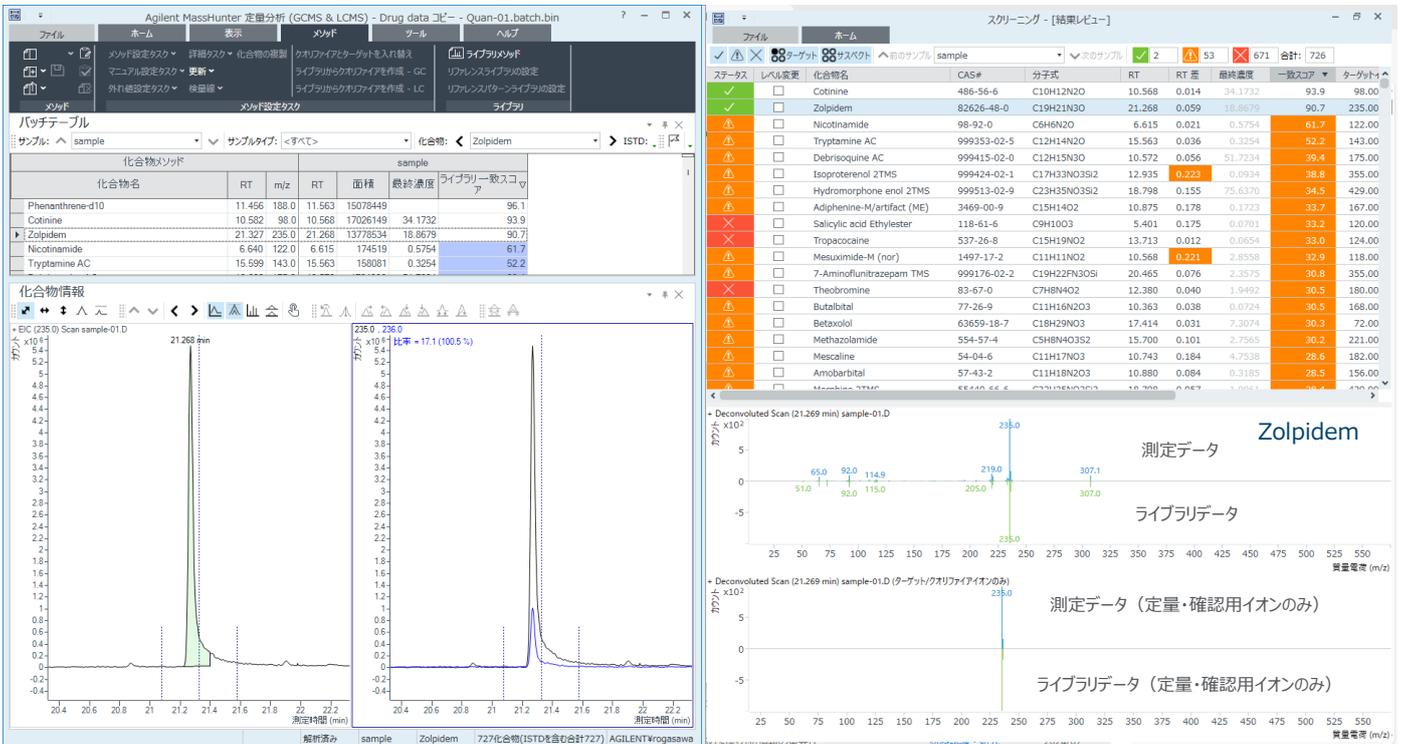


図 2. スクリーニング結果 (Zolpidem; 検出判定)

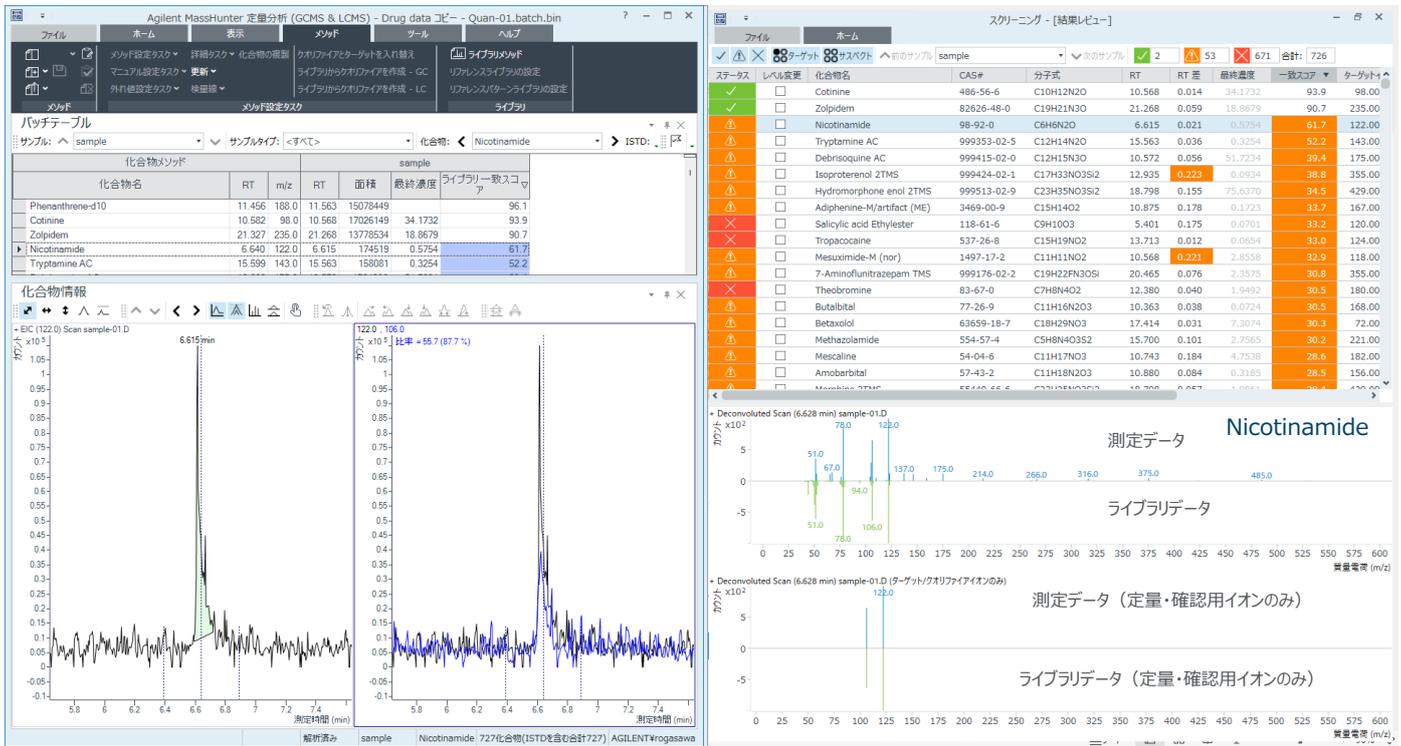


図 3. GC スクリーニング結果 (Nicotinamide; 要検討判定)

結論

GC スクリーニングにより薬物の定性と半定量を同時に迅速に行うことができるようになりました。検出と断定されない場合でも、疑わしい化合物については解析画面上でマニュアル解析することで検出の可否を効率的に判断することが可能でした。薬物スクリーニング分析の生産性と正確性を向上させることが期待されます。今回は 7000D トリプル四重極 GC/MS の Scan モードを使用して実験を行いました。5977 シリーズ GC/MSD で得られたデータでも同様の解析が可能です。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-001734

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2024
Printed in Japan, October 10, 2024
5994-7886JAJP

参考文献

- 725 化合物 DRS データベースと GC/MS/NPD システムを使用した法中毒スクリーニングの改善
5989-8582JAJP, 2008. *Agilent Technologies Application Note*
- GC/MS ライブラリとデコンボリューション技術を用いた高速・高精度な薬物スクリーニング
GC-MS-2018100G-001, 2018. *Agilent Technologies Application Note*