

## ACQUITY QDa 質量検出器を用いた体系的毒性学分析 (STA) - パート 1: 法中毒学スクリーニングでの質量検出器の使用の概要

---

Robert Lee, Nayan S. Mistry, Michelle Wood

Waters Corporation



法中毒学目的のみに使用してください。

本書はアプリケーションブリーフであり、詳細な実験方法のセクションは含まれていません。

---

## 要約

このアプリケーションブリーフでは、ACQUITY QDa 質量検出器でウォーターズ STA 分析法を評価して、さまざまな生体マトリックス中の毒性学的類縁物質のスクリーニングを容易に行う方法を実証します。

## アプリケーションのメリット

ACQUITY QDa 質量検出器を使用した STA についての 2 部構成のシリーズのパート 1 では、従来のスクリーニング分析法の長所と短所を確認し、生体マトリックス中の毒性学類縁物質を検出するための簡略化されたスクリーニング手法について説明します。

---

## はじめに

全般的な未知試料のスクリーニングまたは体系的毒性学分析（STA）は、法中毒学ラボ内で適用されるワークフローの重要な要素です。この初期スクリーニング手法の主な目的は、陽性と思われるサンプル、つまり関連する薬物を含むサンプルを特定すると同時に、その後の分析から陰性サンプルを除去することです。通常、尿および血漿/血清が適切な検体です。

従来の手法には、免疫測定法（IA）、ガスクロマトグラフィーと質量分析の組み合わせ（GC-MS）、および紫外線（UV）またはフォトダイオードアレイ（PDA）を使用した液体クロマトグラフィー（LC）が含まれます。これらの手法は一般的に使用されていますが、表 1 に示すように、重大な制限事項がいくつかあります。

手法		長所	短所
免疫測定法		クロマトグラフィー分離が不要なため、迅速かつシンプル	<p>包括的なスクリーニングではなく、各検体に対して複数の免疫測定法が必要 - 費用がかさむ可能性がある</p> <p>クラス固有の試験のみ (例、「ベンゾジアゼピン陽性」は報告されますが、どのベンゾジアゼピン系薬物が存在しているかは示されません)</p> <p>一部の薬物/薬物クラス (NPS など) では使用できない</p> <p>一般的な免疫測定法での NPS の交差反応性は不明あるいは変動的</p> <p>一部の免疫測定法では、偽陽性または偽陰性の結果が生じる可能性がある</p>
ガスクロマトグラフィー	質量分析法	<p>クロマトグラフィー分離- 生体サンプルに適しており、同定プロセスで使用するレファレンス保持時間 (RT) が得られる</p> <p>電子衝撃 (EI) イオン化に基づくマスマスペクトルライブラリーの可用性と再現性がメリットになる。プリカーサーイオンおよびフラグメントイオンの質量電荷比 (m/z) に基づく同定</p> <p>過去のデータ照会が可能</p>	<p>包括的なスクリーニングには、一般的なクロマトグラフィー条件を適用する必要がある - すべての分析種に最適な条件であるとは限らない</p> <p>適切な感度を達成するには、通常は化学的誘導体化が必要です。検体ごとに異なる誘導体化プロトコルの適用が必要な場合がある</p> <p>ベンゾジアゼピンなどの熱不安定性の分析種は、GC に適用される高温に適していない</p> <p>極性薬物、代謝物、不揮発性物質に対する感度が悪い</p> <p>分解生成物および残存する誘導体化化合物により、スペクトルデータの解釈が複雑になる場合がある</p>
液体クロマトグラフィー	質量分析法	<p>直接分析 - 化学的誘導体化は不要</p> <p>LC は幅広い分析種に適している</p> <p>クロマトグラフィー分離- 複雑な生体サンプルに適しており、同定に使用するためのレファレンス RT が得られる</p> <p>マスマスペクトルライブラリーの可用性がメリットになり、高い特異性が得られる</p> <p>エレクトロスプレーは「ソフト」イオン化手法であり、豊富な構造情報が得られる - 同定は、プリカーサーイオンとフラグメントイオンの m/z のマッチングに基づいている</p>	<p>包括的なスクリーニングには、一般的なクロマトグラフィー条件を適用する必要がある - すべての分析種に最適な条件が得られるとは限らない</p>
液体クロマトグラフィー	UV または PDA 検出	<p>直接分析 - 化学的誘導体化は不要</p> <p>LC は幅広い分析種に適している</p> <p>クロマトグラフィー分離- 複雑な生体サンプルに適しており、同定に使用するためのレファレンス RT が得られる</p> <p>UV または PDA スペクトルライブラリーの可用性がメリットになる</p>	<p>単一のスペクトルを同定に使用 - 特に複雑な混合物やマトリックスでは感度および特異性が低下</p>

表 1. さまざまなスクリーニング手法の長所と短所の比較

簡単に言うと、免疫測定法では通常、クラス固有のスクリーニング結果が生成されるため、主な薬物クラスの情報を提供するには複数のキットが必要になります。さらに、一部の薬物および薬物クラスに対してアッセイを使用できない場合があるため、このアプローチで得られるスクリーニング範囲は、非常に制限されます。また、偽陽性や偽陰性も免疫測定法の重大な欠陥であり、十分に立証されています<sup>1</sup>。

長い間、ガスクロマトグラフィーと質量分析の組み合わせは「ゴールドスタンダード」で包括的なスクリーニングであると考えられており、多くの毒性学ラボの主力となっていました。生体外異物のデータを含む、電子衝撃 (EI) イオン化に基づく大規模な市販ライブラリーが利用できることは、ユーザーにとって大きなメリットがあります。EI はハードイオン化手法と見なされ、過剰なフラグメンテーションが原因で一部の分析種が検出されないことがあります。感度を向上させるために、多くの場合、化学的誘導体化が使用されます。これには、時間がかかり、別の問題を引き起こす可能性があります。これらの理由により、過去 20 年以上にわたって、液体クロマトグラフィー技術は GC に着実に取って代わりつつあります。

GC とは対照的に、LC では、分子を化学的に変化させる必要なく、薬物を直接分析できるため、より幅広い薬物に適しています。LC と MS の組み合わせに基づく手法により、よりシンプルかつ感度の高いアプローチが得られます。また、PDA 検出や UV 検出よりも優れた選択性を提供する質量分析検出は、免疫測定法でのクラス固有のアプローチではなく、分析種固有の検出が可能になります。これらの利点を組み合わせることで、LC-MS は、法中毒学市場でのスクリーニングに最適なツールとなります。

ウォーターズは 2007 年に STA 用に LC と MS 検出の組み合わせを初めて導入しました<sup>2</sup>。その後の長い年月の間に、この分析法はウォーターズのテクノロジーの進歩を反映して進化を遂げ、現在では 1200 種の化合物を含むスペクトルライブラリーを検索できるようになりました<sup>3-5</sup>。

ウォーターズは 2013 年に ACQUITY QDa 質量検出器を導入しました。この装置は、医薬品と違法薬物のいずれの同定にも適用できることがすでに示されています<sup>6</sup>。

このテクノロジーブリーフでは、包括的な毒性学スクリーニングを目的として、同じアプローチを生体サンプルに適用する方法について説明します。

---

## 結果および考察

### スクリーニング分析法

エレクトロスプレーイオン化 (ESI) を使用する LC-MS は、極性化合物、不揮発性化合物、および熱安定性が低い化合物に最も適しています。そのため、GC-MS とは異なり、サンプルを誘導体化する必要なく、多くの毒性学的類縁物質を迅速に同定する強力な手段が得られます。エレクトロスプレーはソフトイオン化手法であり、ポジティブモードでは

主にプロトン化分子、ネガティブモードでは脱プロトン化分子が得られます。より特異的な構造情報を得るために、QDaのイオン源領域でこれらの分子イオンのフラグメンテーションを誘導することができます。そのためには、サンプリングコーンにかかる電圧を上げます。その後、分子イオンがイオン源領域で中性分子と衝突し、特徴的なイオンにフラグメント化されます。これは、イオン源内衝突誘起解離（CID）と呼ばれます。イオン源内CIDを使用すると、イオン源で印加されたコーン電圧の値に応じて、異なるフラグメンテーションパターンのマススペクトルを生成できます（図1を参照）。このプロセスにより、再現性のあるLC-MS マススペクトルを使用して、マススペクトルのライブラリーを作成できます。

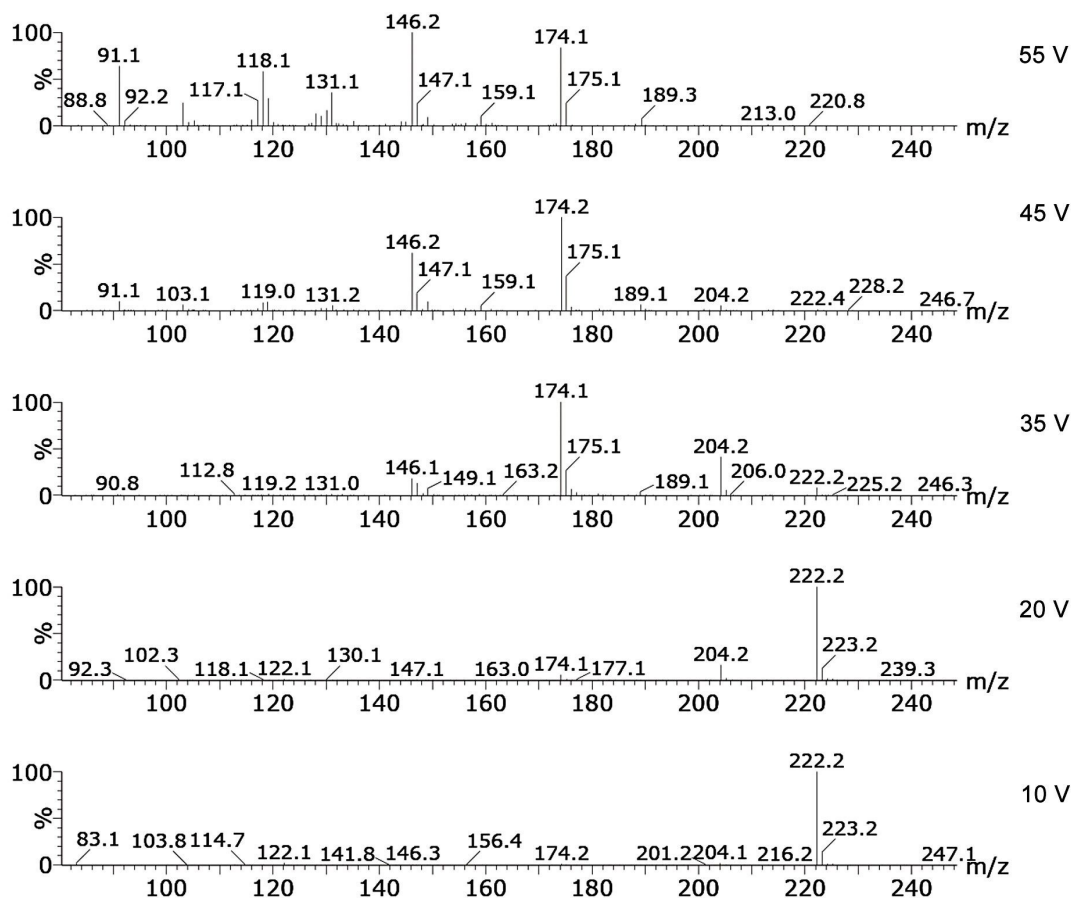


図1. さまざまな電圧をコーンに印加した際に、200 ng/mL の新規向精神薬（NPS）、エチロン（bk-MDEA）について取得されたイオン源内CIDフラグメンテーションパターンを示すスペクトル

ウォーターズのACQUITY QDa質量検出器は、専門的なトレーニングや専門知識の必要なくセットアップが可能です。ここで用いられているすべての取り込みおよび解析メソッドは、Waters Marketplace から無料で入手できます。お使

いの装置との統合が可能で、既存の装置の上に設置することも可能な唯一の質量検出器です。従来の質量分析計に比べ、設置スペースと使用エネルギーを節約できます。洗浄や日常的な保守点検は最低限で済むため、稼働時間を最大限にすることができます。UV や PDA など、他のウォーターズソフトウェアプラットフォームおよび検出手法と統合できます。

ChromaLynx は MassLynx 内のアプリケーションマネージャーであり、マススペクトルデータのデコンボリューションを実現し、データを自動的に解析して、(1200 種の化合物を含む) 事前設定されたライブラリーと比較します。これによって、スペクトルライブラリー検索による同定が可能になります。物質の同定の信頼度を、平均一致係数 (最大値 1000) として表しています。すべての化合物は、提供されるライブラリーの保持時間の 0.35 分以内に溶出する必要があります。お客様は、標準物質や真正物質のデータを用いて、独自のライブラリーを作成できます。さらに、新しいサンプルを調製する必要なく、更新されたライブラリーを使用して、以前に取り込んだデータを再解析することも可能です。

## 結果

100 種の毒性学的類縁物質を、コントロール群のヒト尿とヒト血漿の両方に 200 ng/mL になるようにスパイクし、シンプルな Oasis PRiME HLB  $\mu$ Elution メソッドを使用して調製して、Waters ACQUITY QDa 質量検出器でウォーターズの毒性学 STA スクリーニング分析法を使用して分析しました<sup>7</sup>。

この試験では、平均一致係数が 700 を超えており、ポジティブな結果が得られました。200 ng/mL になるようにヒト尿中にスパイクされた化合物の混合液について、ChromaLynx を使用して得られた結果の例を図 2 に示します。

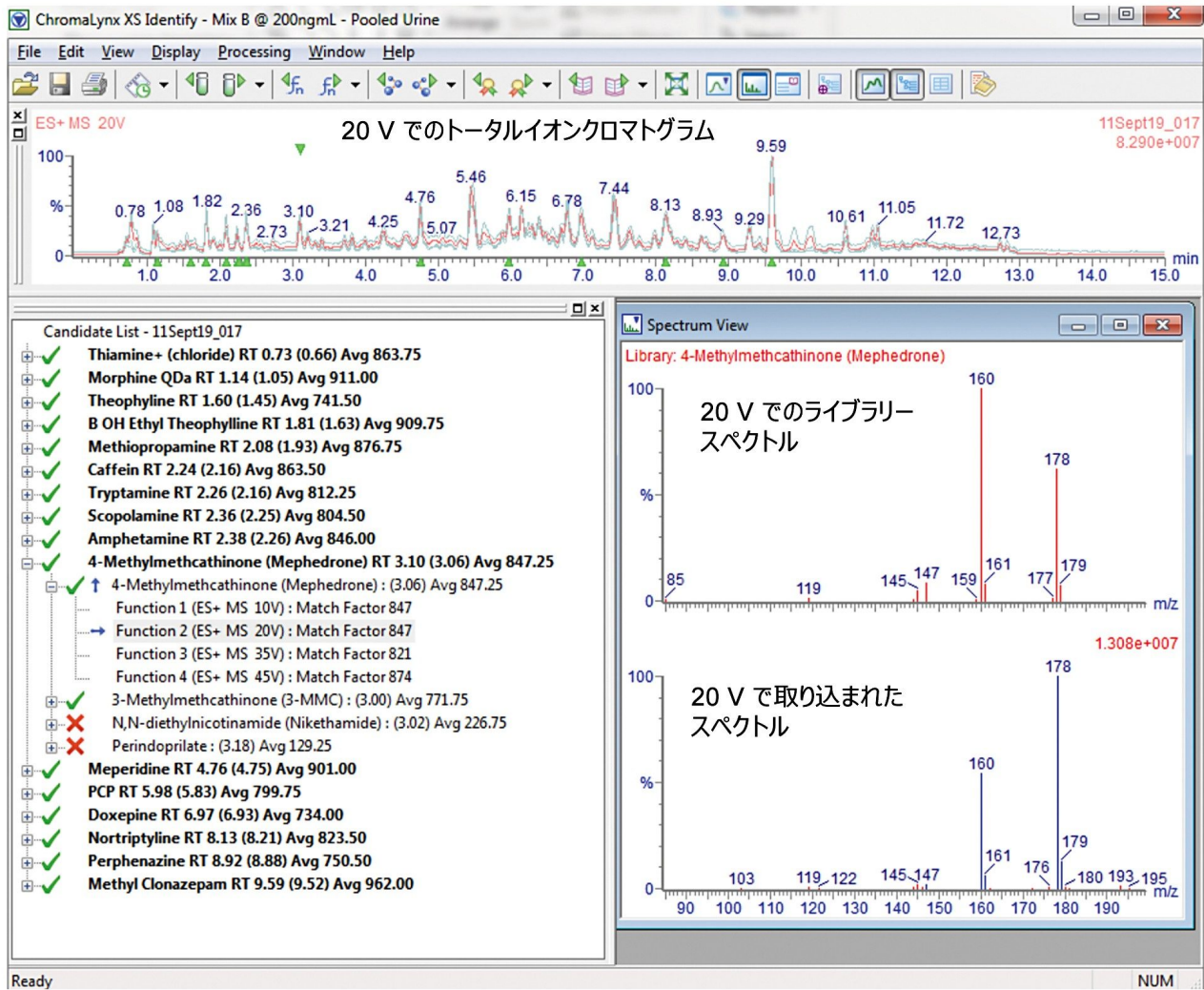


図 2. ヒトの尿中に 200 ng/mL でスパイクした化合物の混合物の分析結果が表示されている ChromaLynx 結果ブラウザー。4-メチルメトカチノン（メフェドロン）の同定が強調表示されています。

## 結論

このテクノロジーブリーフでは、液体クロマトグラフィーと ACQUITY QDa 質量検出の組み合わせにより、さまざまな生体マトリックス中の毒性学的類縁物質をスクリーニングするための迅速、シンプル、効果的な方法が得られることを示しています。この手法は、免疫測定法、GC-MS および LC-UV などの他の確立されたスクリーニング手法と比較して

、費用の節約、速度、特異性の面で利点が得られます。Mistry らによって説明されているように、同じシステムを使用して、定量データを提供することもできます<sup>8</sup>。

---

## 参考文献

1. Saitman A, Park H. and Fitzgerald RL. False-Positive Interference of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. 2014, *Journal of Analytical Toxicology*; 38: 387-396.
2. Humbert L, Lhermitte M, and Grisel F. General Unknown Screening for Drugs in Biological Samples by LC/MS. 2007, Waters Application Note 720001552EN.
3. Humbert L, Grisel F, Richeval C. and Lhermitte M. Screening of Xenobiotics by Ultra-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Using In-Source Fragmentation at Increasing Cone Voltages: Library Constitution and an Evaluation of Spectral Stability. 2010, *Journal of Analytical Toxicology*; 34: 571-580.
4. Rosano T, Wood M. and Swift T. Postmortem Drug Screening by Non-Targeted and Targeted UltraPerformance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Technology. 2011, *Journal of Analytical Toxicology*; 35: 411–423.
5. Lee R and Wood M. Extension of the Systematic Toxicological Screening Library for use with the Waters Nominal Mass Screening Solutions. 2019, Waters Technology Brief 720006502EN.
6. Goshawk J, Lee R. and Wood M. Evaluation of the Potential of the ACQUITY QDa Mass Detector for Use in Forensic Chemistry and Drug Control Laboratories. 2017, Waters Technology Brief 720006004EN.
7. Mistry N, Lee R, and Wood M. Systematic Toxicological Analysis (STA) Using the ACQUITY QDa Mass Detector, Part 2: Evaluation of a fast and simple OASIS PRiME HLB SPE method for Xenobiotics in Biological Samples. 2019 Waters Technology Brief 720006726EN.
8. Mistry N, Lee R, and Wood M. Evaluation of the ACQUITY H-Class System with ACQUITY QDa Mass Detector for the Determination of Amphetamine, Methamphetamine, Ketamine, and Norketamine in Human Urine for Forensic Toxicology. 2019, Waters Technology Brief 720006595EN.

---

## ソリューション提供製品

---



[ACQUITY QDa 質量検出器 <https://www.waters.com/134761404>](https://www.waters.com/134761404)

[ChromaLynx <https://www.waters.com/513759>](https://www.waters.com/513759)

720006725JA、2020 年 1 月



©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシーポリシー](#) [商標](#) [キャリア](#) [法的通知およびプライバシー通知](#) [Cookies](#)  
[Cookie 環境設定](#)