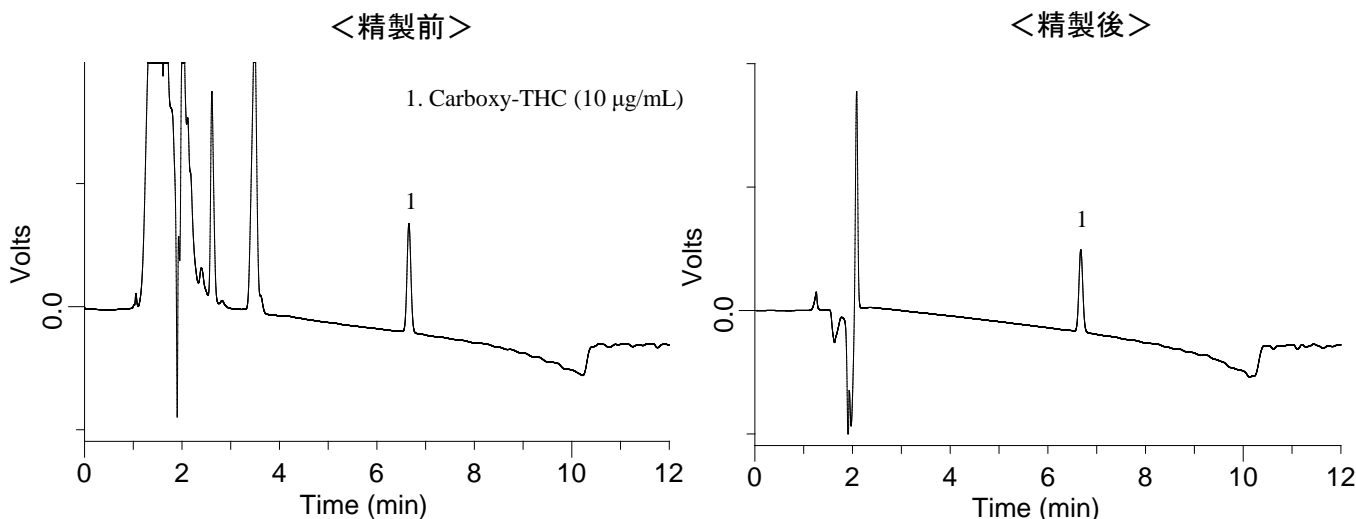


尿から大麻の使用を証明するには、大麻成分テトラヒドロカンナビノール(THC)の代謝物である11-nor-9-carboxy- Δ^9 -carboxylic acid (THCA)を検出、定量することが必要です。しかし、尿中のTHCA含有量はppbオーダーであることから、低濃度・低容量のサンプルを再現良く処理するのに適した前処理法が望まれています。

そこで今回は、微量サンプル用の固相抽出カラムであり、サンプル量が100 μ L以下でも高い回収率が得られるMonoSpinを用いて前処理を行いました。得られた精製サンプルをLC/MS/MSで分析したところ、直線性・回収率・再現性の全てにおいて良好な結果が得られました。(Y. Yui and S. Ota)

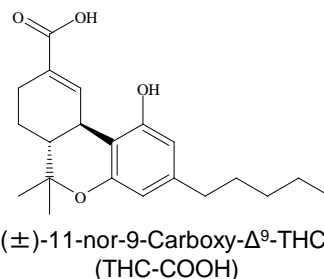
HPLC-UVを用いた、MonoSpin C18-CXによるクリーンアップ効果の評価



Conditions:

Column : Inertsil ODS-3 (5 μ m, 150 \times 4.6 mm I.D.)
 Eluent : A) 0.1% HCOOH in H₂O
 B) 0.1% HCOOH in CH₃CN
 A/B = 60/40 - 10 min - 0/100, v/v
 Flow rate: : 1.0 mL/min
 Col. Temp.: : 40 $^{\circ}$ C
 Detection: : UV 214 nm
 Injection Vol.: : 10 μ L
 Sample: : (\pm)-Carboxy-THC 10 μ g/mL

構造式

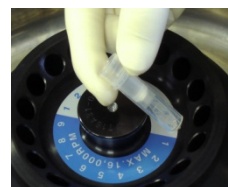
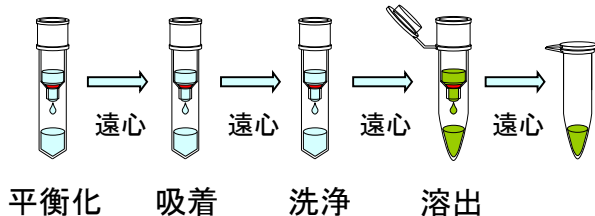


Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.

MonoSpin とは？

MonoSpinシリーズは、均一な連続孔を持つシリカモノリスを用いたスピнкаラムです。空隙率の高いシリカモノリスを担体として用いているので、遠心操作だけで通液させることができます。そのため、短時間の簡便な操作で試料の精製・濃縮を行うことができます。また、ベッドボリュームが小さく液のきれも良いので、試料量が少ない場合にも適しています。

操作方法例



遠心チューブにスピнкаラムを装着し、遠心力を利用することで通液させます。

MonoSpin C18-CXを用いた前処理法について

MonoSpinのシリカモリスの表面に、オクタデシル基および陽イオン交換基の2種類を導入したカラムです。今回のメソッド構築時には、サンプルロード時においてサンプル溶液を酸性とすることで、酸性化合物であるTHC-COOHの解離を抑制し、分離剤に逆相分配で保持させました。

サンプル溶液

0.1%ギ酸水溶液	490 μ L
マトリックス	490 μ L
STD試料	10 μ L
+) 内部標準試料	10 μ L
<hr/>	
	1000 μ L

※試料濃度は試験結果に記載

1. コンディショニング (平衡化)

メタノール300 μ Lを通液(2 min)した後、
0.1%ギ酸水溶液300 μ Lを通液(2 min)

遠心*

2 min

2. サンプルロード

サンプル溶液200 μ Lを通液

遠心

2 min

3. カラム洗浄

0.1%ギ酸水溶液300 μ Lを通液

遠心

2 min

4. 溶出

5%アンモニア-メタノール
100 μ Lを通液

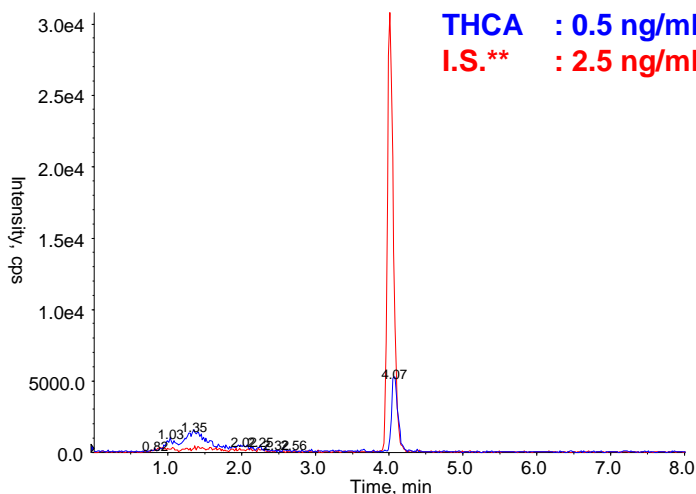
遠心

1 min

5. HPLCで分析

* 遠心は全て3,000 x gで行いました。

添加回収試験を行った時に得られたクロマトグラム



Conditions:

System	: LC800 (GL Sciences) API3000 (AB SCIEX)
Column	: InertSustain C18 (2 μ m, 100 \times 2.1 mm I.D.)
Eluent	: A) 0.1% HCOOH in H ₂ O B) 0.1% HCOOH in CH ₃ CN A/B = 35/65 - 6 min - 5/95 - 4 min - 5/95 - 0.1 min - 35/65 - 5 min - 35/65, v/v
Flow rate	: 200 μ L/min
Col. Temp.	: 40 $^{\circ}$ C
Detection	: MS/MS (ESI, Nega, MRM)
Injection Vol.	: 5 μ L

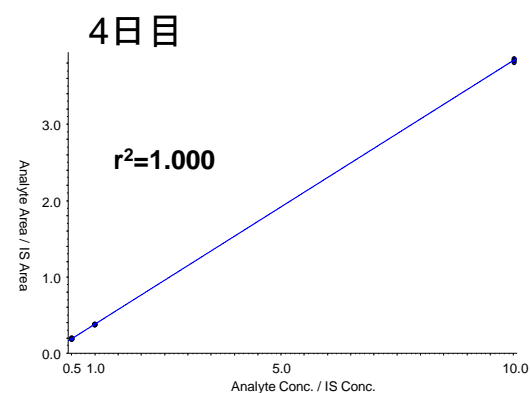
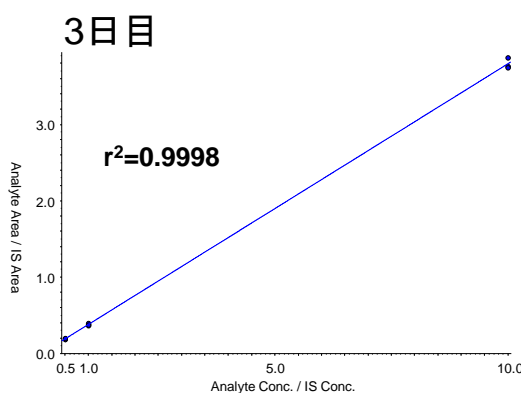
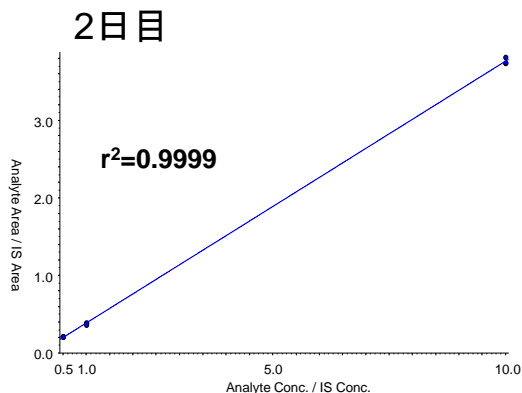
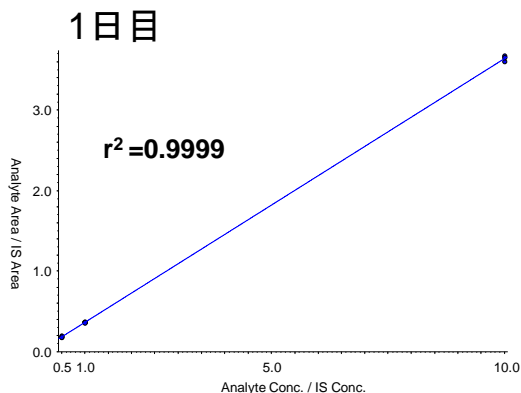
** I.S.には、重水素標識体である(±)-11-nor-9-Carboxy- Δ^9 -THC-D₉ (THC-COOH-d9)を使用しました。

Scan Parameters

Analyte	Precursor Ion (<i>m/z</i>)	Product Ion (<i>m/z</i>)
(±)-Carboxy-THC	343.0	299.0
(±)-Carboxy-THC-d9	352.1	308.1

検量線

4日間同一の分析を行い、それぞれの結果から目的成分であるTHCAの検量線を作成したところ、いずれも相関係数0.9998~1.000の良好な直線性が示されました。



回収率及び再現性、正確度

4日間それぞれについて、回収率及び再現性(C.V.値)、正確度(Accuracy)を求めたところ、いずれも概ね良好な結果が得られました。

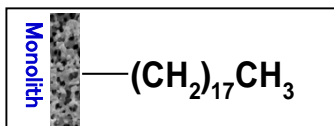
回収率(%)	1日目	2日目	3日目	4日目	日間平均
0.5 ng/mL	86.8	94.4	87.0	88.5	89.2
1.0 ng/mL	99.0	100.8	101.4	101.7	100.7
10 ng/mL	88.1	91.1	91.6	92.8	90.9

再現性(%)	1日目	2日目	3日目	4日目	日間平均
0.5 ng/mL	2.67	0.74	2.17	3.20	2.2
1.0 ng/mL	1.00	2.85	2.79	0.57	1.8
10 ng/mL	1.14	1.05	1.79	0.80	1.2

正確度(%)	1日目	2日目	3日目	4日目	日間平均
0.5 ng/mL	101.0	105.3	101.0	101.7	102.2
1.0 ng/mL	99.2	97.1	99.5	98.9	98.7
10 ng/mL	99.9	99.9	99.9	100.1	100.1

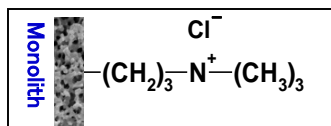
MonoSpinシリーズのラインナップ

MonoSpin C18



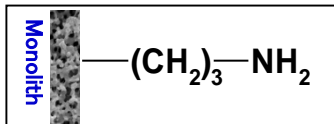
オクタデシル基を結合し、無極性相互作用をもつカラムです。生体試料などからの薬物抽出や、ペプチドサンプルの脱塩・濃縮に最適です。

MonoSpin SAX



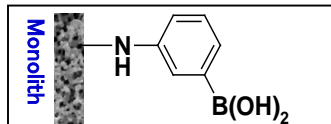
トリメチルアミノプロピル基を結合したカラムです。強陰イオン交換作用と弱い無極性相互作用を併せ持ちます。酸性薬物の抽出に最適です。

MonoSpin NH₂



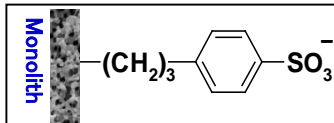
アミノプロピル基を結合したカラムです。HILICモードによる糖鎖など、親水性化合物の抽出に最適です。

MonoSpin PBA



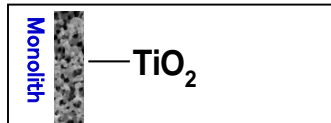
官能基にフェニルホウ酸を用いた結合特異性の高いカラムです。カテコールアミンなどシス型ジオールを有する化合物に対する、選択的な抽出に最適です。

MonoSpin SCX



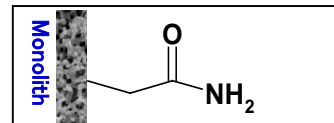
プロピルベンゼンスルホン酸を結合したカラムです。強陽イオン交換作用と無極性相互作用を併せ持ちます。塩基性薬物の抽出に最適です。

MonoSpin TiO



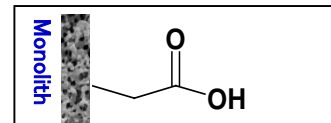
二酸化チタンをコーティングしたカラムです。リン酸基を有する化合物の抽出に最適です。

MonoSpin Amide



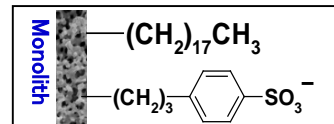
アミド基を結合したタイプです。HILICモードにより、糖鎖を始めとした幅広い親水性化合物の抽出に適しています。

MonoSpin CBA



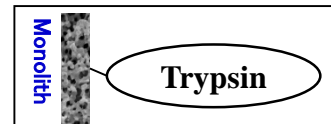
カルボキシル基をシリカモノリスに結合したタイプです。弱陽イオン交換作用により、塩基性化合物の抽出に適しています。

MonoSpin C18-CX



(今回使用しました)
C18とSCXの両方の官能基を結合したタイプです。血清や尿中の塩基性薬物の前処理において、C18やSCXの単体と比べて高いクリーンアップ効果が期待できます。

MonoSpin Trypsin



タンパク質消化酵素であるトリプシンを固定化したカラムです。タンパク質の迅速消化が可能になります。

使用した前処理カラム;

MonoSpin C18-CX 50/pk
Cat.No. 5010-21731

MonoSpin C18-CX 100/pk
Cat.No. 5010-21732



ジーエルサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行っております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く 9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html