

## LCMS のイオンサプレッションを考える

株式会社住化分析センター 鎌倉 重雄

医薬品開発における薬物動態研究では、近年質量分析を中心とした微量分析技術が研究の鍵を握る重要な手段となっています。中でも LC/MS/MS 法を用いた定量法は、高選択性・高感度を特徴とし、薬物動態研究にはかかせない中心的な微量分析技術です。一方、LC/MS/MS 法はその高選択性がゆえに、目的成分に対する夾雑物の影響がクロマトグラム上確認しづらく、しばしば定量分析の品質に影響を与えるという側面を有します。

マトリックス効果は、目的成分のイオン化の際に、そのシグナル強度に対して、生体試料中に含まれる夾雑物がイオンサプレッションやエンハンスを引き起こす現象を示します。マトリックス効果を引き起こす夾雑物としては、リン脂質などの脂質が近年報告されています。そこで本座談会では、脂質に代表される生体試料中の夾雑物が質量分析にどのような影響を与えているのか、議論を深められればと思います。

その他マトリックス効果を引き起こし得る夾雑物としては、可塑剤が挙げられます。可塑剤は、柔軟性や加工性を良くするために合成樹脂製品に添加される薬品類の総称です。LC/MS/MS 法における前処理工程において、容器・チップなどの合成樹脂製品は利便性の面から見て欠かせない製品ですが、有機溶媒の使用により溶け出す可能性も懸念されます。LC/MS/MS 法を用いた定量法に対する可塑剤の影響についても、生体試料中の夾雑物と合わせて議論できればと思います。

## LC/MS のイオンサプレッションを考える

大津 善明 (アステラス製薬株式会社)

近年、製薬会社や委託研究施設において生体試料中の低分子薬物の定量分析を実施する際、第一選択の分析手法は LC-MS/MS といえる。長年この分野で大きな役割を果たしてきた HPLC-UV に比較すると、LC-MS/MS は極めて選択性が高い手法である。このため、LC-MS/MS が生体試料中薬物の定量分析に導入された直後においては、前処理や、分析カラム上での LC 分離を軽視する意見が多く見られた。

しかしながら、LC-MS/MS の使用経験が積み重ねられ、3 年ほど前から ISR (incurred sample reproducibility ; ヒト等に薬物を投与後に採取された生体試料において定量値の再現性を検討すること) の議論が始まるに至って、前処理や LC 分離が再び重要視されるようになってきている。イオンサプレッションは試料中夾雑物等が分析対象物質と同じ保持時間で溶出することにより起こる現象であるが、この現象が定量値の再現性不良を引き起こすことがある。このため、イオンサプレッションを抑制し定量値の再現性を向上することを目的として、試料中夾雑物を除去する前処理技術や、分析対象物質と試料中夾雑物を LC 分離する技術がよく議論されている。

前処理技術については、複数の手法がある。スピードを重視する場合には、生体試料にメタノールやアセトニトリル等の有機溶媒を添加し、遠心分離することで蛋白質を除去する「除蛋白法」や、生体試料の希釈のみを行う「希釈法」が用いられるが、イオンサプレッションの回避という点では優れた手法とは言いがたい。一方で、「固相抽出」や「液液抽出」といった手法は LC/MS の登場以前から使われている手法であるが、イオンサプレッションを抑制するには実際的で効果的な方法と言ってよいと思われる。

LC 分離技術については、ODS カラムを用いた逆相分離が第一選択である。カラムメーカー各社のご尽力により優れたカラムが市場には多く存在する。したがって、ユーザーとしてはこれらのカラムから分析対象物質に適したカラムを選択し、移動相などの諸条件を設定することで、イオンサプレッションを回避することになる。

さて、これらの技術では優れた製品の利用に依存する部分と、ユーザー自身の工夫にゆだねられている部分がある。毎年優れた製品が発表されるため、ユーザーは新製品情報を追っただけで進歩した気になってしまうが、ユーザーサイドでやるべき工夫は怠ることのないようにしたい。また、工夫ではどうにもならない部分をメーカーにフィードバックすることで分析化学関連製品市場のますますの発展に寄与したいと考えている。

# LC/MS におけるイオンサプレッション

高橋 豊 (エムエス・ソリューションズ(株)・横浜市立大)

近年 LC/MS は、医学・薬学・生化学・環境科学など様々な分野で用いられている。これは、大気圧イオン化法 (Atmospheric Pressure Ionization; API) の開発に依るところが大きい。従来のイオン化法 (電子イオン化 (EI) など) ではイオン化できなかった (あるいは分子が開裂してしまう) 化合物を、分子を開裂させることなくイオン化させることができ、また液体クロマトグラフィーとの接続が可能となったためである。API としては、エレクトロスプレーイオン化 (Electrospray Ionization; ESI)、大気圧化学イオン化 (Atmospheric Pressure Chemical Ionization; APCI)、大気圧光イオン化 (Atmospheric Pressure Photo Ionization; APPI) 他、多くの種類が開発されている。中でも ESI は、全てがソフトイオン化に分類される API において最もソフトであり (イオン化エネルギーが低い)、イオン化効率が高く、広範な性質の化合物をイオン化できることから、殆どの LC/MS においてファーストチョイスとして用いられている。

ESI を採用した LC/MS において、生体試料など複雑なマトリックス成分を含む試料の分析の際、分析種とマトリックス成分が未分離の状態ではイオン源に導入されると、分析種のイオン化が阻害される現象が起こる。これがイオンサプレッションである。イオンサプレッションによって、存在する筈の分析種が検出されなかったり、定量性が低下したり、という問題が発生している。

ESI では、イオン化し易い分子が優先的にイオン化されるという特徴があるため、分析種より共存マトリックス成分の方がイオンになり易い性質 (例えばプロトン親和力が大きい) を持つとき、イオンサプレッションが起こる。また、高電界により生成した帯電液滴からイオン蒸発によって分析種がイオンになる時、分析種分子のイオン蒸発を妨害するようなマトリックス成分が液滴内に共存すると、やはりイオンサプレッションが起こると考えられる。

一方、APCI や APPI では、ESI に比べるとイオンサプレッションが起こり難いと言われている。その理由として第一に考えられるのは、APCI や APPI によるイオン化が、ESI に比べると外的エネルギーに依るところが大きいことである。第二には、APCI や APPI におけるイオン化の過程が、脱溶媒よりも後にあることがその要因であると考えられる。

現状、イオンサプレッションを減少させる方法として、試料前処理やクロマトグラフィーでの分離度向上が有効である。装置開発の観点からは、ESI のように汎用性に富み且つイオンサプレッションを起こし難い、新規イオン化法の開発が望まれる。座談会では、製薬企業や質量分析計メーカーからの問題提起を基に、イオンサプレッションの問題を包括的に議論したい。

## LC/MS におけるイオンサプレッション

滝埜昌彦（アジレント・テクノロジー（株））

近年 LC/MS は、医学、薬学、法医学、食品、環境など様々な分野で用いられている。現在の LC/MS で使用されるイオン化法は、大気圧イオン化法（Atmospheric Pressure Ionization; API）であり、特に、エレクトロスプレーイオン化（Electrospray Ionization; ESI）法はイオン化効率が高く、様々な化合物をイオン化できるイオン化法であることから最も広く使用されている。しかし ESI 法はその他の API イオン化法である大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization : APCI）や大気圧光イオン化（Atmospheric Pressure Photo Ionization : APPI）法と比較して、食品、生体試料など複雑なマトリックス成分を含む試料を分析した際、分析対象成分のイオン化が抑制される現象が生じる。この現象をイオンサプレッションと呼び ESI 法の最も重大な問題点である。このイオンサプレッションが生じることで分析対象成分が全く検出できなかつたり、定量性が低下する。

イオンサプレッションのメカニズムは十分に理解されていないが、主な要因はこのイオン化法が分析対象成分とマトリックス成分で拮抗し合ってイオン化するためであり、マトリックス成分が分析対象成分よりイオン化し易かつたり、大量に存在したりすることで生じる。また、分析対象成分が帯電液滴からイオン蒸発する際に、液滴の表面活性を高めたり、分析対象成分を共沈させるようなマトリックス成分が液滴内に共存することでもイオンサプレッションが起こると考えられる。さらに液滴中でのイオンサプレッションだけでなくイオン蒸発により気相に飛び出したイオンが気相中でマトリックス成分との作用で電荷が消失することでもイオンサプレッションは生じると考えられている。

現状、イオンサプレッションを減少させる方法としては試料前処理によるマトリックス成分の除去、クロマトグラフィーでのマトリックス成分との分離度向上などが有効である。しかし完全にイオンサプレッションの除くことは困難であり、サポゲート物質を用いた内部標準法や最近では適切な補正物質をポストカラムで導入することでイオンサプレッションを補正する方法が考案されている。この様な最近の食品中微量成分の残留分析における最近の話題について提供させて頂き議論できればと思う。