

AFFINILUTE MIP – アンフェタミン

分子認識ポリマー (Molecular Imprinted Polymer: MIP) は、ターゲット化合物や類似の構造を持つ化合物のグループを高い選択性で捕足することを目的と設計された、高度に架橋された特殊なポリマーです。MIPはターゲット化合物と構造の似た鋳型分子を導入して合成し、構造的かつ化学的にターゲット化合物と補完的な空洞を形成することで大変優れた選択性を実現しています。MIPを用いた化合物抽出を行う場合は、このアプリケーションノートに記載するメソッドを実践することが大変重要です。

尿からのアンフェタミン抽出

尿サンプルからアンフェタミン、メタンフェタミン、フェンテルミン、MDA、MDMA、MDEAをクラス選択的に抽出するために開発されたメソッドです。このメソッドは再現性が高く、平均80%以上の回収率を実現します。LC-MS-MSを使用して分析した際の、検出限界と定量限界は下表の通りです。

	検出限界 (ng/mL)	定量限界 (ng/mL)
メタンフェタミン	0.0020	0.0066
アンフェタミン	0.0022	0.0073
MDA	0.0129	0.0430
MDMA	0.0009	0.0030
MDEA	0.0008	0.0025
フェンテルミン	0.0044	0.0150

抽出手順：流速～0.5mL/min(サンプルロード)、0.5-1mL/min(洗浄)、～0.2mL/min(ターゲット溶出)を推奨
 サンプルロードはできるだけ重力下で行ってください。各洗浄ステップ間、溶出ステップ間には軽く吸引(-0.4barまたは-12inHg、5-10秒間)を行ってください。

ターゲット	アンフェタミン、メタンフェタミン、フェンテルミン、MDA、MDMA、MDEA
サンプルマトリックス	ヒト尿
一般事項	ヒト尿中の、ごく微量のアンフェタミン類をクラス選択的に抽出するために最適化されたメソッドです。従来のSPE法に比較して大変優れた検出限界を実現できます。
サンプルの準備	～5mL尿を10mM/pH8.0酢酸アンモニウムで1:1 (v/v)に希釈し、アンモニアまたは酢酸でpH7.5-8.5に調整する。 粒子を含む尿サンプルは3000g/10分間遠心分離し上澄みを使用する。
1.コンディショニング/平衡化	<ul style="list-style-type: none"> 1 mL メタノール 1 mL 10mM/pH8.0酢酸アンモニウムバッファー
2.サンプルロード 推奨流速: 3mL/min(水)、～0.5mL/min(尿、血漿)	希釈尿1mLを重力下でアブライ(10mLまでアブライ可能)
3.洗浄(干渉成分の溶出) 注意事項: 各洗浄ステップ間に軽く吸引を行ってください 推奨流速: 0.5-1mL/min	<ul style="list-style-type: none"> 1 mL 脱イオン水 x 2回 (塩およびマトリックス成分の溶出・除去) 注意:水洗後、カラムを乾燥させない 1 mL 60%アセトニトリル水溶液 (疎水性マトリックス成分の除去) 注意:5-10分間吸引し水分を十分に除去 1 mL 1%酢酸/アセトニトリル ターゲット溶出前に～30秒間軽く吸引(-0.4barまたは-12inHg)を行う
4.ターゲット溶出 推奨流速: ～0.2mL/min	1 mL の1%ギ酸/メタノール×2回 各溶出ステップ間に～30秒軽く吸引(-0.4barまたは-12inHg)する 溶媒を留去し分析移動相100μL(90% A、10% B)で再溶解する (GC-MS分析の場合は適切な処理を行う)

Note: このLC-MS-MSメソッドは、Fuhら1によって提唱されたメソッドに基づき、TFAを移動相のpH調整剤/イオンペア試薬として用いて開発した手法です。以下の条件下では、鮮明なピーク形と高い分離効率、イオンサプレッションの低減によって最高レベルのクロマトグラフ分析感度を実現できます。

TFAを移動相のイオンペア試薬として使用することが適していない場合には、酢酸アンモニウムバッファーを用いた代替手法が確立されています。酢酸アンモニウムを用いたメソッドでは、TFAを用いた場合に比べアンフェタミンの定量限界が劣ります。また、HPLCカラムの再平衡化に少なくとも17分のランタイムを要します。

Column: Ascentis® C18, 15cm x 2.1mm I.D., 5µm particles (581304-U)
 Instrument: Sciex API 3200
 Mobile phase A: 0.05% TFA in DI water **OR** 13mM ammonium acetate, pH7
 Mobile phase B: 0.05% TFA in acetonitrile **OR** 13mM ammonium acetate in acetonitrile (when using ammonium acetate buffer as mobile phase A)

Temperature: 22°C
 Flow rate: 0.2mL/min. split
 Gradient:

Min	A%	B%
0.0	90	10
7.0	70	30
10.0	70	30
11.0	10	90
11.2	90	10
15.0	90	10

Detection: **MS/MS, MRM transitions:**

Compound	Rt (min.)	Q1/Q3	DP	EP	CEP	CE	CXP
Amphetamine	7.80	136/119	20	7.5	12	13	2
		136/91				30	2
Methamphetamine	8.33	150/119	25	5	12	14	2
		150/91				29	2
Methamphetamine D8 (IS)	8.33	158/124	30	5	12	14	2
		158/93				25	2
Phentermine	8.66	150/133	25	5	12	13	2
		150/91				29	2
MDA	8.04	180/163	25	5	12	14	2
		180/105				33	2
MDMA	8.48	194/163	27	5	15	18	2
		194/105				33	2
MDMA D ₅ IS	8.48	199/165	25	4	10	17	4
		199/136				29	4
MDEA	9.18	208/163	27	5	15	18	2
		208/105				35	2

Polarity: Positive
 Ion source: Turbospray
 Ion spray voltage: 5500V
 Source temp: 600°C
 Collision gas: 6psi
 Curtain: 10psi
 Ion source gas 1: 60psi
 Ion source gas 2: 60psi
 Dwell time: 100msec.
 Run time: 15min.
 injection Volume: 20µL

1. Determination of amphetamine and methamphetamine in urine by solid phase extraction and ion-pair liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry, Fuh M, Wu T, Lin T, Talanta 68 (2006) 987-99.

オーダーインフォメーション

品番	製品	クラス選択性※	数量	定価(税別)
M28-0002-B	AFFINILUTE MIP – アンフェタミン 25mg/3mL	○	50	¥45,600

※クラス選択性:類似構造を持つ複数の化合物を補足する性質

バイオタージ・ジャパン株式会社

本社: 〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F
 TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121
 大阪: 〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-1-29, 6F
 TEL 06-6838-9311 FAX 06-6838-9312
 URL: <http://www.biotage.co.jp/> E-mail: Japan_info@biotage.com



www.biotage.com