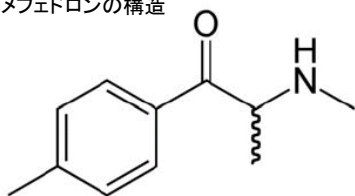


## LC-MS/MS分析サンプル前処理 EVOLUTE® CXを使用した生体サンプルからの メフェドロン抽出

図1 メフェドロンの構造



### はじめに

このアプリケーションノートは、血漿、尿、全血などの生体サンプルからのメフェドロン (MCAT) 抽出法について説明します。ミックスモード強陽イオン交換ポリマー系SPE充填剤EVOLUTE® CXを使用しています。LC-MS/MSで定量を行い、回収率は90%以上です。

### ミックスモード強陽イオン交換ポリマーベースSPE充填剤 EVOLUTE® CX

EVOLUTE® CXは、汎用性の高いジェネリックメソッドにより、血漿や尿などの生体サンプルやその他の水系マトリックスからターゲット化合物を抽出する、固相抽出用の親水性ポリマーベース充填剤です。タンパク質、塩、非イオン性夾雑物、およびリン脂質などのマトリックス成分を除去し、再現性と回収率に優れたクリーンなサンプル前処理を行うことができます。

### EVOLUTE CXによる抽出メソッド

分析化合物:	メフェドロン
使用製品:	EVOLUTE CX, 25mg, 96固定ウエルプレート (Part# 601-0025-P01)
サンプルの希釈:	サンプル (血漿、尿) 100 $\mu$ L を 50mM 酢酸アンモニウム緩衝液で希釈する (1:3 v/v)。
全血サンプルの準備:	血液 1mL に 50mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 6) を加え、10分間ソニケートする。続いて、遠心分離 (5,500rpm/10分間) し、上澄みを回収する。
コンディショニング:	メタノール 1mL
平衡化:	50mM 酢酸アンモニウム (pH 6) 1mL
サンプルロード:	pH を調整した生体サンプル 400 $\mu$ L
洗浄1:	50mM 酢酸アンモニウム (pH 6) 1mL
洗浄2:	メタノール 1mL
溶出:	5% 水酸化アンモニウム・メタノール溶液 1mL
エバポレーション・再溶解:	溶媒を留去し、分析前に水/メタノール (80/20 (v/v)) 200 $\mu$ L で再溶解する。

## HPLC条件

機器:	Waters Acquity UPLC (Waters Assoc., Milford, MA, USA)
カラム:	Acquity UPLC BEH C18 カラム(1.7 $\mu$ m, 50 x 2.1 mm id) (Waters Assoc., Milford, MA, USA).
移動相:	溶媒A: 0.1%ギ酸水溶液 溶媒B: 0.1%ギ酸/MeOH 流量: 0.5mL/min
グラジエント:	アイソクラティック 溶媒A 60%/溶媒B 40%
注入量:	5 $\mu$ L
カラム温度:	35 ° C

## MS条件

機器:	エレクトロスプレー・インターフェイス装備 Premier XEトリプル四重極型質量分析装置(Waters Assoc., Manchester, UK)
脱溶媒和温度:	450 °C
イオン源温度:	150 °C
ガス圧力:	3.46 x 10 <sup>-3</sup> mbar

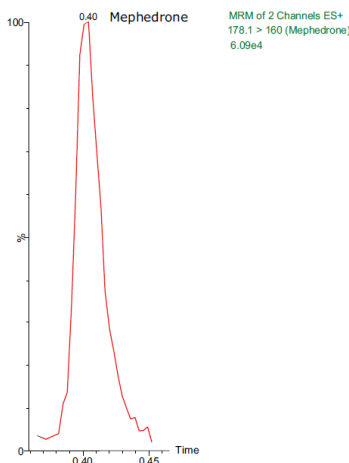
表 1.メフェドロン(MRM)トランジション

Scan Function	Analyte	MRM Transition	Cone Voltage (V)	Collision Energy (eV)
1	メフェドロン (定量)	178.1 > 160.0	35	12
2	メフェドロン (定性)	178.1 > 145.0	35	19

## 結果

分析した全てのサンプルで回収率90%以上、平均RSDは10%未満だった。全血中のメフェドロン(10 ng/mL)を分析したマスクロマトグラムの例を図2に示した。

図2 全血中メフェドロン(10 ng/mL)のマスクロマトグラムの例



## 使用製品一覧

Part number	Description	Quantity
601-0025-P01	EVOLUTE CX 25 mg 96-well plate	1

このアプリケーションノートは、2010年TIAFTで発表されたポスターの内容に基づいています (Mephedrone: Evaluation of Extraction using Mixed-Mode Cation Exchange SPE with UPLC-MS/MS Analysis., R Jones et al, presented at TIAFT, Bonn, Germany, Aug 31-Sep 2, 2010.)

## 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](mailto:Japan_info@biotage.com)

