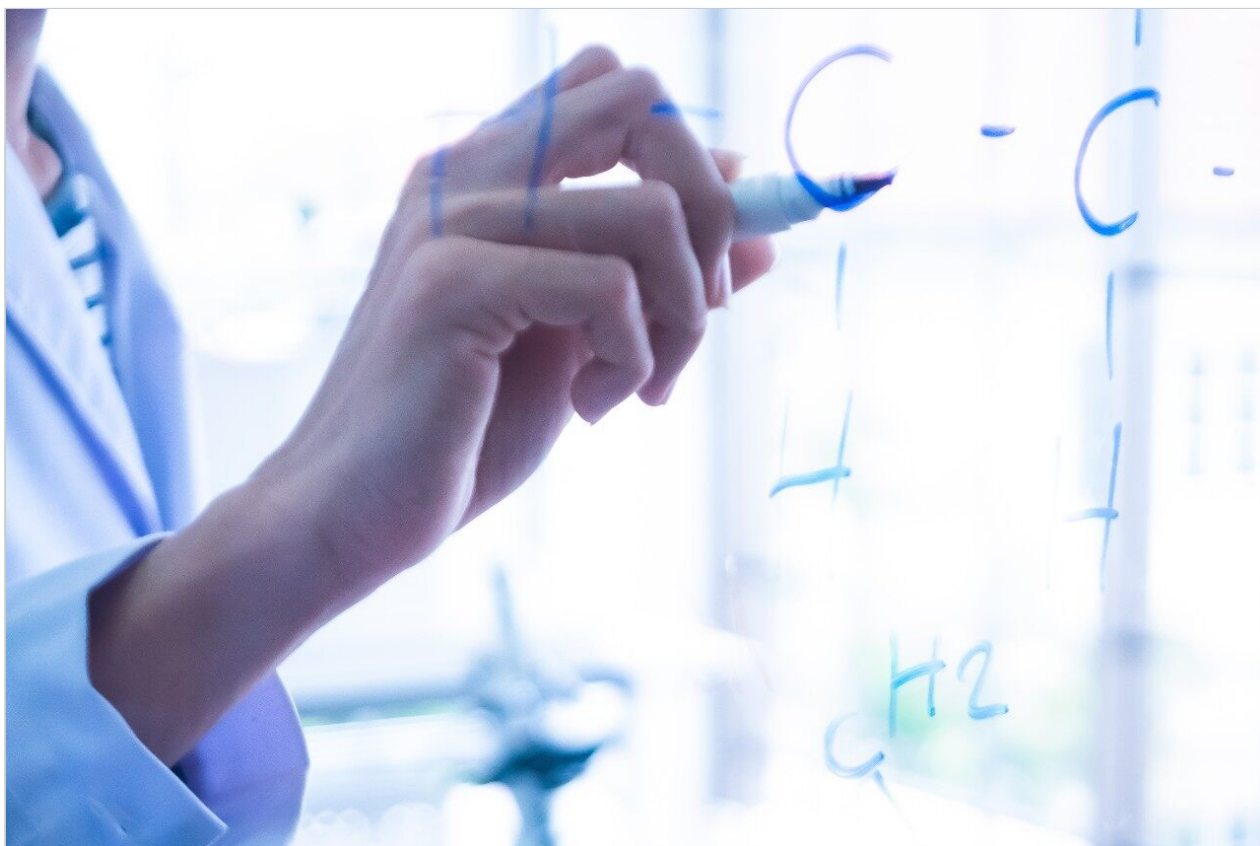


代謝物の特性解析のためのイオンモビリティー：データ非依存的測定におけるスペクトルの明瞭度の向上

Lisa Reid, Lauren Mullin, David Higton, Nathan Anderson

日本ウォーターズ株式会社



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、ドリフト時間と保持時間を適用したスペクトルのアラインメントにより、スペクトルの明瞭度が大幅に向上し、デキストロメトルファンのインキュベーションにおける代謝物/分解物の解釈のための構造特性評価に役立つことを説明しています。

アプリケーションのメリット

MS^E 取り込み (HDMS^E) でイオンモビリティ分離を活用することで、創薬および医薬品開発での分析において、データ非依存的測定 (DIA) の代謝物構造推定の信頼性が大幅に改善されます。

はじめに

DMPK 研究を行う際には、薬物代謝物および/または薬物分解物の高感度で正確な割り当てが必須となります。同定における信頼性を向上させることで、候補化合物を先に進める前に、有効性と安全性の迅速で正確に評価することが可能になります。代謝物が含まれるマトリックスの複雑な性質により、代謝物の同定が困難になる場合があります。これには、共溶出する化合物や、対象となる分析種と類似の質量を持つ化合物の場合が挙げられます。これにより干渉が起きて、ピーク面積の評価または正確な同定に疑問が生じる場合があります¹。

イオンモビリティ分離を用いた HDMS^E 取り込みと MS^E を組み合わせることで、気相ドリフト時間 (ms 単位で測定) に基づいて共溶出する成分を分離します²。Waters UNIFI 科学情報システム (またはその他の CCS 解析ソフトウェア) でデータ解析を行い、ドリフト時間を用いたプリカーサーの分離を組み込むことで、スペクトルの明瞭度が大幅に向上し、標準値または理論値と比較できる追加の一意の化合物識別子が得られます。その結果、LC の保持時間、精密質量、衝突断面積 (CCS) の値、そしてより具体的で選択的なプリカーサーおよびフラグメントイオンスペクトルに基づいて化合物を同定できます。

構造解析については、各プリカーサーイオンに一意のフラグメントのみを表示することにより、化合物の同定、割り当て、および定量における信頼性を更に高めることができます。これにより、重要なイオンを除外する可能性がある除外リストや内包リストを作成する必要がなくなり、データ非依存型測定 (DDA) で表示されるスペクトルの明瞭度が高まります。

結果および考察

イオンモビリティ分離（IMS）では、ガスを充填したセルを通過する際の変化させる立体構造に基づいた、共溶出する分析種の分離が可能になります。この更なる分離により、LC の保持時間が同一の分析種や同一化合物の異性体も区別することができます。この手法を衝突誘起解離（CID）フラグメンテーション（ HDMSE^{F} ）の前に適用することで、各分析種について、セルを通過する際の一意のドリフト時間により、個別のフラグメントイオンスペクトルを得ることが可能になり、共溶出するマトリックス化合物からのフラグメントイオンの干渉のない、明瞭なフラグメンテーションパターンが得られます。

この分析によって候補薬物の潜在的な代謝物または分解物を探索する際、これらの化合物の含有量が非常に低い場合があります。そのため、マトリックスからの共溶出による干渉により、対象分析種の存在が隠されたり、信頼性の高い割り当てがさらに複雑化する可能性があります。図 1a は、IMS を使用しない場合のデキストロメトルファン代謝物 $2x + O$ のスペクトルを示しています。高エネルギー（フラグメント）スペクトル（下）は、対象分析種の実際のプロダクトイオンよりも強度が高いイオンシグナルを有する共溶出するマトリックス化合物による著しい干渉を示しています。図 1b は、IMS 機能を有効にした場合の、同じ代謝物のスペクトルを示します。対象分析種の一意的識別子としてドリフト時間を使用したところ、高エネルギースペクトル内（上）の干渉フラグメントの数が大幅に減少しています。高エネルギースペクトルが明瞭になったことで、データ解釈にかかる時間を短縮でき、分析種の同定および構造割り当ての信頼性を高めることができます。

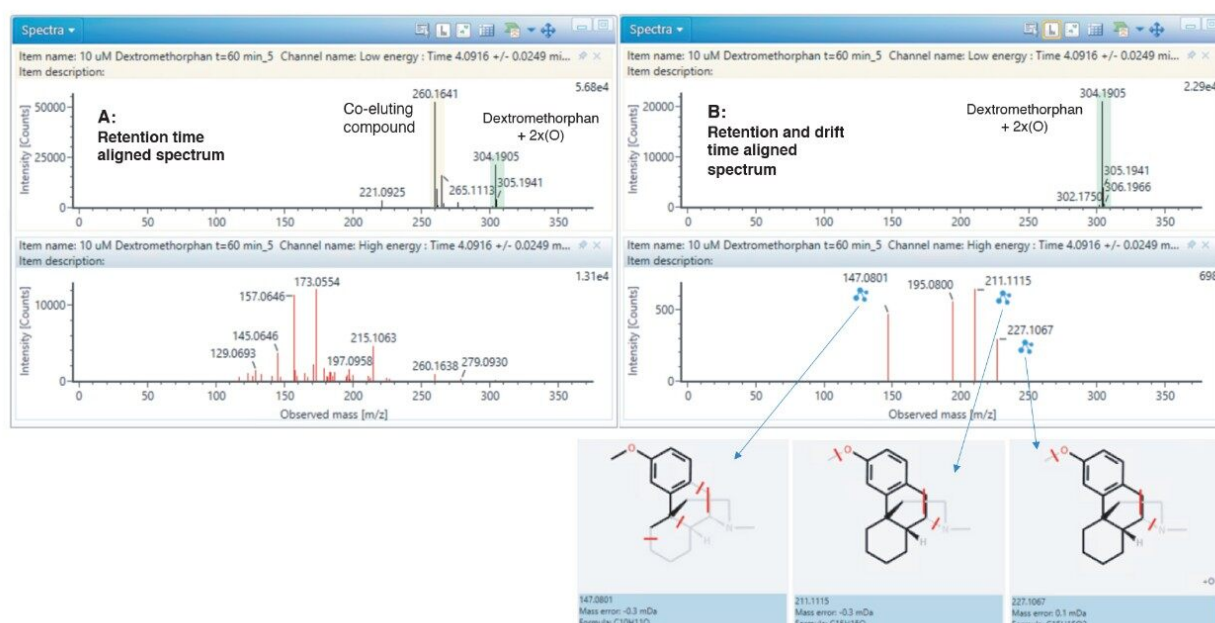


図 1. ドリフト時間をフィルターとして使用した場合としない場合に得られたデキストロメトルファン $2x + O$ 代謝物のスペクトル。上の線は MS （低エネルギー）スペクトルで、下の線は HDMSE^{F} （高エネルギー）スペクトルです。a) スペクトルのアラインメントに保持時間のみを使用、b) スペクトルのアラインメントに保持時間およびドリフト時間の両方の値を使用。スペクトルの品質に顕著な改善が見られます。そのため、プリカーサーイオンのドリフト時間をフィルターとして使用すると、フラグメントイオンの割り当てが簡単にできます。

結論

このデータは、DMPK 研究における DIA とイオンモビリティ分離との組み合わせの利点を実証しています。この補完的な分離技術を使用することで、薬物代謝物および分解物の同定における信頼性と速度を大幅に向上させることができます。デキストロメトルファン代謝物 $2x + 0$ のプロダクトイオンシグナルは、干渉するマトリックスイオンと比べて小さいため、従来の LC-MS 分析を使用した場合は分離できず、割り当てが複雑になることがあります。イオンモビリティの次元を組み込んで同じデータを分析すると、マトリックスプロダクトイオンが除去されるため、代謝物のプロダクトイオンが簡単に同定され、信頼性の高い割り当てができます。

参考文献

1. Schadt S. *et al.* (2017) A Decade in the MIST: Learnings from Investigations of Drug Metabolites in Drug Development under the “Metabolites in Safety Testing” Regulatory Guidance. *Drug Metab Dispos.* 46, 865-878.
2. Waters Corporation (2011) An Overview of the Principles of MS^E, the Engine That Drives MS Performance. 720004036en. <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004036en.pdf> <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004036en.pdf>>

ソリューション提供製品

Vion IMS QToF イオンモビリティ四重極飛行時間型質量分析計 <<https://www.waters.com/134845751>>

UNIFI 科学情報システム <<https://www.waters.com/134801648>>

720006919JA、2020 年 6 月

