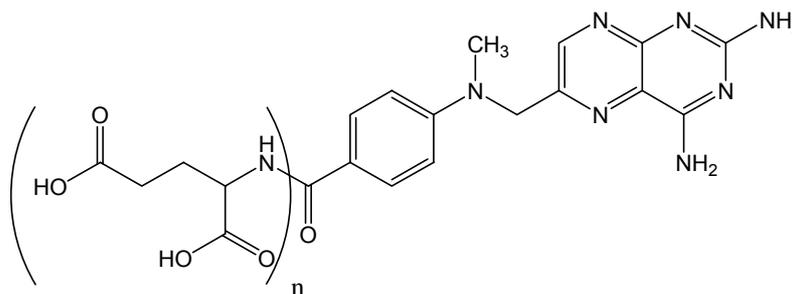


LC-MS/MS による血漿中のメトトレキサート及びポリグルタメート代謝物の分析

Analysis of Methotrexate and Its Polyglutamate Metabolites in Plasma by LC-MS/MS

葉酸代謝拮抗薬であるメトトレキサート (Methotrexate, MTX) は、抗がん剤、及び、抗リウマチ薬として幅広く使用されています。分子構造は葉酸に類似しており、内部にグルタミン酸構造を持ち、代謝物として、7-OH-MTX や、ポリグルタメート-MTX が存在することが知られています。タンパク質非結合状態の MTX の分析法として、逆相クロマトグラフィー (RPC) を用いた、MTX と 7-OH-MTX との同時分析例が報告されています。

今回、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) を用いた、血漿試料中のポリグルタメート代謝物と MTX との同時分析例を紹介します。標準試料溶液の測定において、検量線の直線性は、0.1 ~ 50 µg/L の濃度範囲で認められました。標準添加血漿試料 (最終濃度 : 0.25 µg/L) について、78% 以上の回収率、3% 以下の再現性 (N=6) の良好な結果が得られています。



- n= 1 : 4-Amino-10-methylfollic acid (Methotrexate)
- n= 2 : 4-Amino-10-methylpteroyl-di- -glutamic acid (Methotrexate-2G)
- n= 3 : 4-Amino-10-methylpteroyl-tri- -glutamic acid (Methotrexate-3G)
- n= 4 : 4-Amino-10-methylpteroyl-tetra- -glutamic acid (Methotrexate-4G)

図1 構造式

表1 分析条件

Column:	TSKgel Amide-80 3µm (2.0mmI.D. x 15cmL)	
Eluent:	A; 0.1% TFA in water B; 0.1% TFA in acetonitrile	
Gradient:	0min(B 95%) 15min(B 50%) 16min(B 50%)	
Flow rate:	0.2mL/min	
Injection vol.:	5µL	
Column temp.:	40	
Instrument:	Agilent 1200SL series QTRAP (MDS SCIEX)	
Ion source:	ESI (Positive)	
	$m/z=455.2>308.3$ (MTX)	$m/z=584.2>308.3$ (MTX-2G)
	$m/z=713.5>308.3$ (MTX-3G)	$m/z=842.3>308.3$ (MTX-4G)

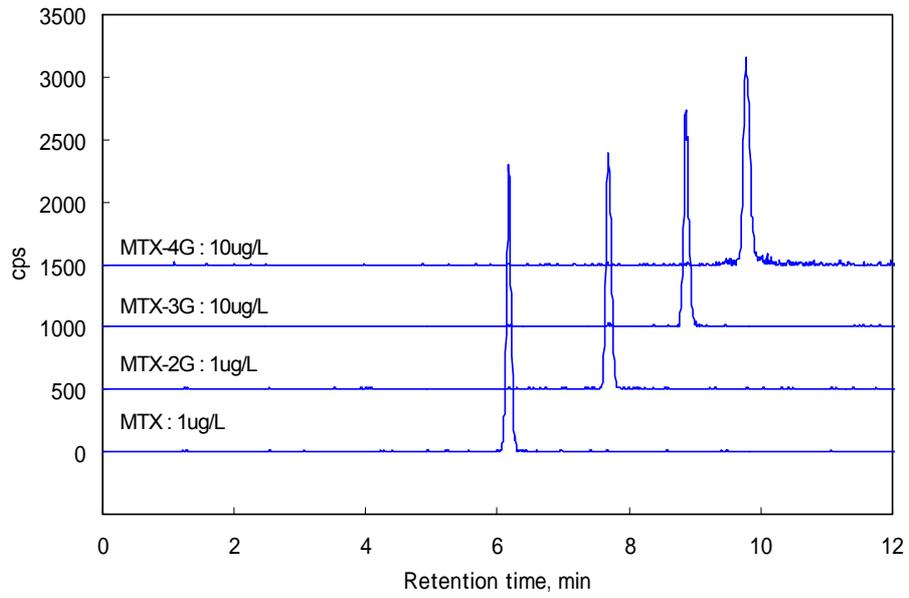


図2 標準試料のクロマトグラム

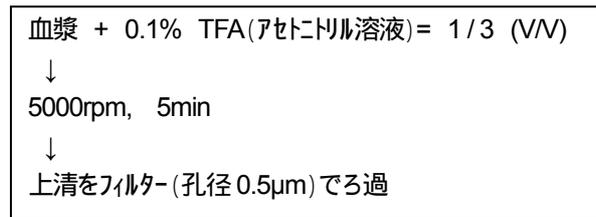


図3 試料の前処理

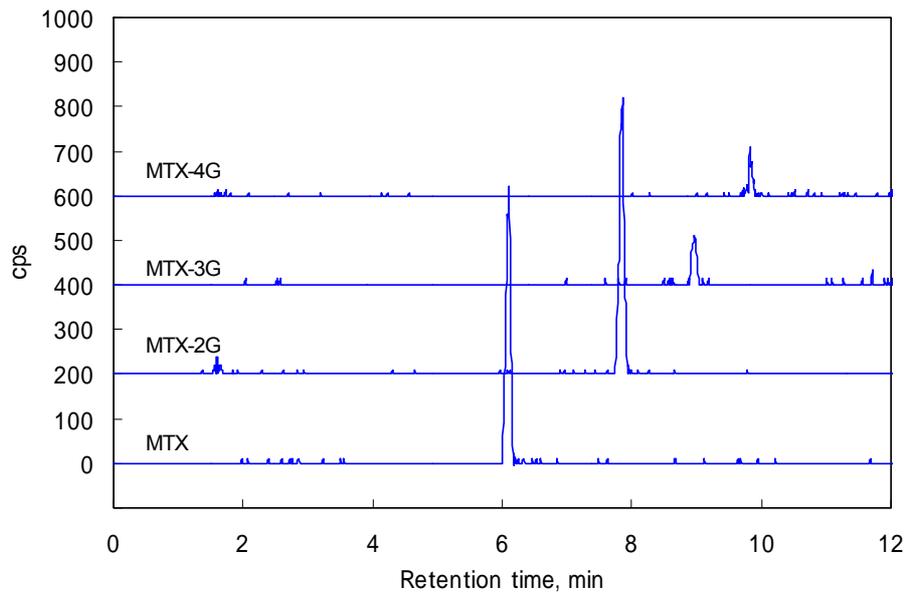


図4 添加血漿試料(各 0.25ug/L)のクロマトグラム