

Application News

No. B75

成像质谱显微镜

模型毛发样本中的药物成像 —面向药物摄取履历的观察—

成像质谱分析法越来越广泛地应用于各领域中。由于毛发增长时会极微量地吸收当时所摄取的药物，因此，毛发作为记录药物使用履历的“磁带”式的样本备受关注。实际应用中经常使用 LCMS 等对从毛发中提取的药物进行分析。但是因提取操作的原因导致毛发中药物分布信息损失。如果能进行毛发纵轴方向截面的成像质谱分析，则可实现观察伴随毛发生长药物分布的变化情况、即实现药物使用履历的可视化。这项技术有望在法医学、临床医学、用药管理以及科学搜查等领域进行应用。

E. Matsuo, T. Yamamoto

■ 药物摄取模型毛发样本的制作

选择与兴奋剂（甲基苯丙胺）结构类似的、市售止咳成分甲氧那明（MOP）作为模型化合物（分析对象）。原本应在口服药物通过血液循环被输送到发根和头皮后，对毛发所吸收的物质进行观察。本实验采用制作添加 MOP 的“模型毛发样本”的方法，如表 1 所示。具体而言，通过将未摄取药物的人的毛发浸入 MOP 水溶液（配制多种不同浓度）中使其进行物理吸收，按照上述方式制作高浓度（A）、低浓度（B）的模型毛发样本以及在不含 MOP 的水中处理的阴性控制样本（C），以供分析。

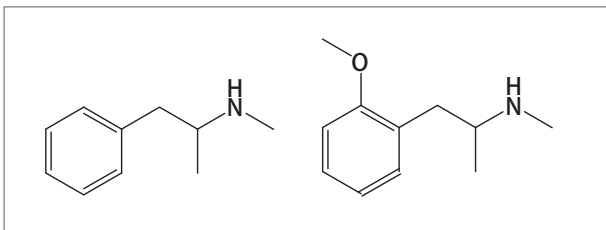


图 1 甲基苯丙胺（左）、甲氧那明（MOP）（右）的结构式

表 1 模型毛发的制作流程

按照下列浓度配制甲氧那明（MOP）水溶液
样本 A：100 μg/mL
样本 B：10 μg/mL
样本 C：0 μg/mL（negative control）
将毛发切断至长度 2cm 左右
↓
将 50-100 根左右的毛发浸入上述溶液中
↓
在 37 °C 下静置 24 小时（中途搅拌 1-2 次）
↓
根据试验法对这些毛发进行清洗

* 药物毒物试验法和注解 2006 - 分析・毒性・对应法 -【7・2・4 来自毛发样本的实验（甲基苯丙胺及其代谢物的实验）】

■ 模型毛发样本的前处理和定量评价

清洗模型毛发样本 A 以及 B 的表面后，根据试验法* 提取 MOP，使用液相色谱进行分析。结果显示，毛发中的 MOP 含量在模型毛发样本 A 中定量 83.1 ng/mg、在 B 中为 20.0 ng/mg，与实际摄取了 MOP 和兴奋剂的人的毛发样品所报告的浓度没有较大偏差。

■ 甲氧那明标准品的分析

在模型毛发样本的分析之前，对 MOP 的标准溶液（50 pmol/mL），使用微滴法进行质谱分析（图 2）。使用 CHCA 作为基质进行分析，观察到 m/z 180.14 的 $[M+H]^+$ 峰（图 2 上 ▼）。将其作为前体离子进行 MS/MS 分析得到的质谱图如图 2 下所示。本次分析考虑到今后在实际样品中的应用，选择特异性较高的 MS/MS 方式（ m/z 180.14 > 149.10），进行成像质谱分析。

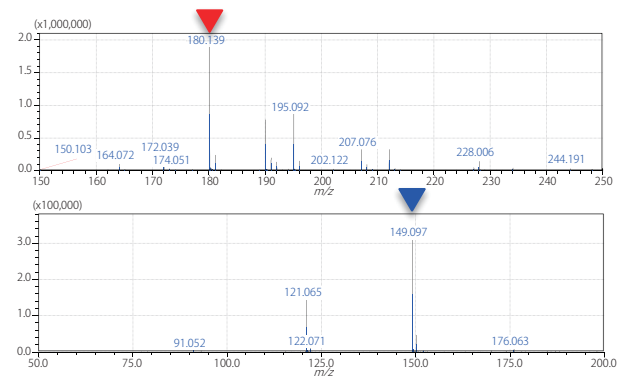


图 2 甲氧那明（MOP）标准品的一级质谱图（上）、MS/MS（下）质谱图



图 3 iMScope TRIO（左）和 iMLayer（右）

表 2 成像质谱分析的测量条件

测量间距 (空间分辨率)	: 10 或 50 [μm]
离子种类	: 正离子
测量范围	: Precursor m/z 180.14 → m/z 50 ~ 190
累积次数	: 2 [次 / pixel]
样品电压	: 3.50 [kV]
检测器电压	: 2.0-2.1 [kV]
激光照射次数	: 50-100 [shots]
激光频率	: 1000 [Hz]
激光照射径设定值	: 1 (约 10 μm) 或 4 (约 50 μm)
激光强度	: 21.7-30.0 或 56.4-63.0

■ 成像质谱分析用毛发切片的制 作和分析结果

使用导电双面胶带固定模型毛发，使用切片机仔细地切片，切去大约毛发直径一半左右，制成毛发的纵切切片。通过 iMLayer (图 3 右) 升华 CHCA 处理样本，使用 iMScope TRIO (图 3 左)，按照表 2 中所示的条件进行分析。

首先，按照较大激光直径 (50 μm) 进行测量，得到毛发整体成像 (图 4)。光学图像中仅在毛发部位，检测到目标化合物甲氧那明的离子，并确认在阴性控制样本中无该化合物的信号 (图 4c)。毛发从表面按顺序由角质层 (Cuticle)、皮质 (Cortex)、髓质 (Medulla) 三层结构构成。但是，使用 50 μm 的空间分辨率无法对直径为 50~150 μm 的毛发内部不同结构进行分析。另一方面，如果使用 iMScope TRIO 进一步进行更高空间分辨率 (激光径的最小设定 5 μm) 的测定，则有望实现更加详细的药物分布的可视化分析。因此，接下来进行了激光直径为 10 μm 时的测定 (图 5)。结果表明，在本次制作的模型毛发中，甲氧那明在角质层到皮质的范围内分布，在中心的髓质部分基本没有分布。

上述使用的“升华法”能够在保持高空间分辨率的前提下进行测定，但是，有时会对灵敏度有影响 (参考 Application News No. B62)。因此，对于该毛发样本，使用“两步法”采用升华后再进一步追加喷雾的方式涂覆基质后，再进行成像分析。结果如图 6 所示，检测信号的强度 (采用 BG 的峰值补偿后的值) 约提高 3~6 倍，能够更加明确地显示药物的定位分布情况。

■ 考察

本次使用甲氧那明添加的毛发样品，进行了高空间分辨率的成像质谱分析，获得详细显示毛发中药物分布的成像结果。

毛发在生长过程中，一边在根部吸收血液中的药物等，一边以每个月约 1cm 的速度生长。因此，毛发也被比喻为记录药物使用履历的磁带，在法医学和科学搜查中得到了应用，今后有望在用药管理、兴奋剂检查等更广泛的领域中应用。

本应用报告中记载的添加毛发样本的制作过程与洗发香波、头发营养产品、头发定型产品和染发剂等头发护理用品的使用情况有很多共通点，因此，上述分析技术可以用于这些产品的开发和评价工作、进一步为头发的美容、健康作出贡献。

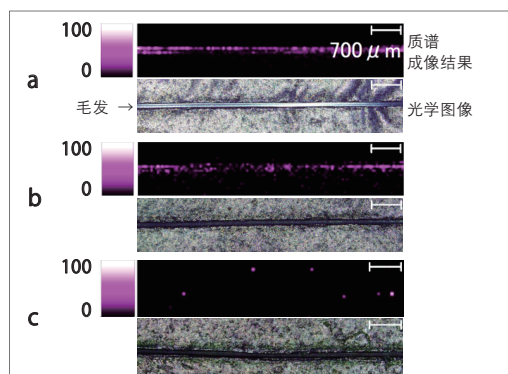


图 4 激光径 50 μm 下的毛发样本 A (a)、样本 B (b)、样本 C (c)、等药剂成像

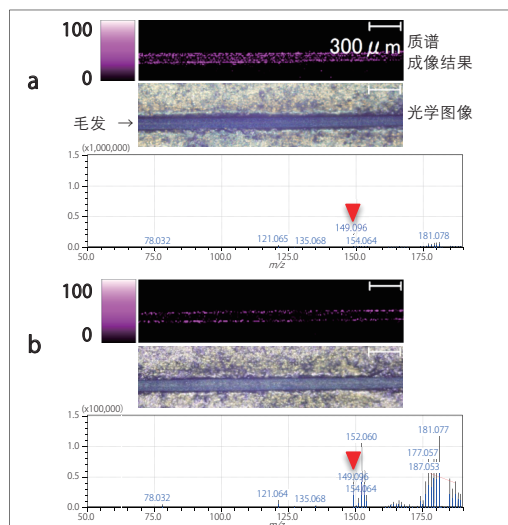


图 5 激光直径 10 μm 下的毛发样本 A (a) 以及样本 B (b) 的目标药物成像结果

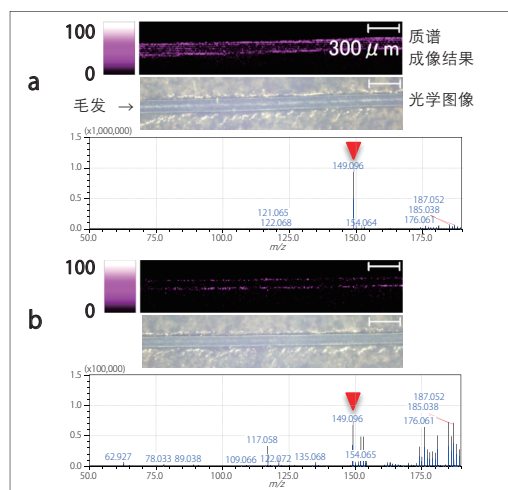


图 6 采用两步法 (升华 + 喷雾) 在激光直径 10 μm 下的毛发样本 A (a) 以及样本 B (b) 的目标药物成像结果



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2017 年 11 月