同位体による薬物代謝の研究 (第 12 報¹⁾) 質量分析法による
ベンゼン核重水素標識化合物の定量²⁾

馬場茂雄, 川井邦男, 志田保夫
東京薬科大学³⁾

Studies on Drug Metabolism by Use of Isotopes. XII.¹⁾ Quantitative
Analysis of ²H-Labeled Compounds on Benzene Ring
by Mass Spectrometry²⁾

SHIGEO BABA, KUNIO KAWAI and YASUO SHIDA
Tokyo College of Pharmacy³⁾

(Received December 5, 1973)

Mass spectral problems on the applicability of a drug labeled with deuterium on the benzene ring for the metabolic studies in man were investigated using benzoic acid [arom.-²H₅] and hippuric acid [arom.-²H₅]. By comparing the mass spectra of deuterated compounds with those of unlabeled analogues, an intramolecular exchange reaction between deuterium on the benzene ring and hydrogen on the side chain was recognized slightly in the phenyl ion and remarkably in the benzoyl ion from the deuterated benzoic acid. However, such an exchange reaction was not observed in any ion from the deuterated hippuric acid. Deuterium radical from the M-CO₂⁺ of labeled hippuric acid was lost during the fragmentation. Moreover, an isotope effect of a few percent was observed in the production of the phenyl ion and the C₄H₃⁺ ion by examination of the mass spectrum of an equimolar mixture of nonlabeled and labeled compounds. From these results, the molecular ion and the benzoyl ion of benzoic acid, and the benzoyl ion of hippuric acid were chosen as the main peak for quantitative analysis. By comparing the total peak height in the region of the ± 1 mass unit of the main peak from deuterated compound with those from protiated counterpart, the former diluted in the order of 100-fold amount of the latter was determined with a precision within 3%.

現在、薬物代謝の研究はほとんどすべて実験動物についてなされているが、薬物はヒトに対して用いられるものであることから、その代謝研究は最終的にはヒトで行なわれるべきである。著者らはすでにヒトにおける薬物代謝の研究に安定同位体 (stable isotope, SI) トレーサー法がきわめてすぐれた方法であることを指摘し、*l*-ephedrine[α -¹⁴C, arom.-³H] を用いてベンゼン核重水素標識薬物による SI トレーサー法が可能であることを明らかにした。⁴⁾ さらに前報¹⁾ において実際にヒトに適用するために必要な *l*-ephedrine[arom.-²H₅] (Id) を C₆²H₆ より合成し、その物理化学的性質について報告した。また、Id を用いてヒトでの代謝実験を予試験的に行ない、その結果を本誌に速報した。⁵⁾

最近、質量分析法は薬物代謝産物の同定⁶⁾ に盛んに利用され始めたが、この方法を薬物の定量分析に利用した報告例はきわめて少ない。立松らは製剤分析の一例としてコデインの定量について報告している。⁷⁾ すなわち、立松らは内部標準物質として SI 標識コデインを用いることの有用性を指摘しながらも SI 標識体を調製すること

1) 第 11 報: 馬場茂雄, 川井邦男, 薬誌, 94, 783 (1974).

2) 第 10 回理工学における同位元素研究発表会, 東京, 1973 年 4 月に一部発表.

3) Location: 3-20-1, Kitashinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo.

4) 馬場茂雄, 堀江正信, 薬誌, 94, 779 (1974).

5) 馬場茂雄, 川井邦男, 堀江正信, 志田保夫, 薬誌, 92, 1569 (1972).

6) B.J. Millard, "Advances in Drug Research," Vol. 6, ed. by N.J. Harper and A.B. Simmonds, Academic Press, Inc., London and New York, 1971. p. 157.

7) 立松 晃, 後藤俊夫, 薬誌, 85, 786 (1965).

が困難なことからジヒドロコデインを用いて 3—5% の精度でコデインを定量している。一方, Baczynskyj 等⁸⁾ は prostaglandin の定量に prostaglandin- d_4 を, Cho 等⁹⁾ は実際に血液中の amphetamine の定量に amphetamine- d_3 を内部標準物質として用いている。しかしながら, これらの SI 標識体の利用例はいずれも目的物質だけを定量するもので, SI 標識体をヒトに投与し, その代謝産物の定量を目的としていない。また, 後述するように重水素標識体には質量分析計内における重水素と軽水素の交換反応および同位体効果の可能性があるにもかかわらず, これらの諸問題について基礎的な検討は全く加えられていない。

ベンゼン核重水素標識薬物をヒトに投与し, その代謝産物を定量する方法を確立するための基礎的な問題点はすでに指摘したが,⁴⁾ そのうち質量分析法に関する問題点

1) ベンゼン核重水素標識の質量分析計内における安定性

2) 質量スペクトルにおける同位体効果

3) 逆希釈分析法で重水素標識代謝産物を定量する場合, キャリヤーとして加えた非標識体で, あるいは内因性物質で希釈される倍率で前者を定量する方法

などについて基礎的な検討を行なう必要がある。本報では benzoic acid [arom.- $^2\text{H}_5$] (IIId¹⁰⁾) および hippuric acid [arom.- $^2\text{H}_5$] (IIIId) を用いて, これらの諸問題を検討した。

実 験 の 部

重水素標識化合物 Benzoic acid [arom.- $^2\text{H}_5$] (IIId) は Merck 製 (99.0 atom% ^2H) を使用した。また, hippuric acid [arom.- $^2\text{H}_5$] (IIIId) は IIId より合成した。¹¹⁾

非標識化合物 Benzoic acid (IIp) は和光純薬工業株式会社製の, hippuric acid (IIIp) は東京化成工業株式会社製の特級試薬を使用した。

質量スペクトル (MS) の測定 日立 RMU-7L 型質量分析計を使用し, 定量のための測定条件は次のとおりである。II は間接導入系により, III は直接導入系の sample heater で加熱調節することにより測定中の全イオン量を一定に保ち, chamber temperature 180°, collector slit width 0.5 mm, filter 3, scanning speed 5, chart speed 0.4 mm/sec を, また分子イオン (M^+) やベンゼン骨格を有するフラグメントイオンの相対強度を大きくするためにイオン化電圧は 30 eV を用い, visicorder で記録した。なお, back ground は試料導入前に空の試料びんにて同一測定条件下で測定した。また, 全体の MS は上記条件のうち, filter を 2 に, scanning speed を 7 に変えて測定した。

結 果 と 考 察

重水素標識体の MS は, 標識体中に混在する軽水素体の量,¹²⁾ 質量分析計内での重水素と軽水素の交換反応および同位体効果などが重なり合った状態で測定されるので, その MS は非標識体のそれよりも複雑になる。また, 上記の因子を独立に論ずることは困難であるが, これらの相互の影響を考慮しながら各因子を論ずることとする。

Fig. 1 には benzoic acid (IIp), hippuric acid (IIIp) およびこれらの重水素標識体の MS を示した。IIp の主ピークは m/e 51 (C_4H_3^+), m/e 77 (C_6H_5^+ , フェニルイオン), m/e 105 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$, $\text{C}_6\text{H}_4\text{C}=\text{OH}^+$ の 2 種の異性体が考えられるが,¹⁴⁾ 以下ベンゾイルイオンと称する), m/e 122 (M^+) に認められ, 一方, IIId の主ピークは II のそれらに対して C_4^2H_3^+ では +3 に, それ以外のピークでは +5 に現われている。また, IIIp では m/e 77, m/e 105, m/e 135 ($\text{M}-\text{CO}_2^+$) のピーク強度は強いが, m/e 51, m/e 179 (M^+) の強度は著しく弱く, IIIId ではこれらの主ピークに対していずれも +5 に対応した m/e 値にピークが認められている。以上のことから, 標識体と非標識体の混合物の MS では, ピークの相互の重なりは考慮しなくてもよいことが明らかになった。

8) L. Baczynskyj, D.J. Duchamp, J.F. Zieserl, Jr., U. Axen, *Anal. Chem.*, **45**, 479 (1973).

9) A.K. Cho, B. Lindeke, B.J. Hodshon, D.J. Jenden, *Anal. Chem.*, **45**, 570 (1973).

10) 以下, 本論文では, 重水素標識体, 非標識体を区別しなければならないときには, それぞれの化合物に d (標識体), p (非標識体) をつけることにする。

11) 宮道悦男, 中沢浩一, “反応別有機化合物実験法集成,” 広川書店, 東京, 1959, p. 334.

12) IIId (99.0 atom% ^2H) 中に含まれる d_4 体, d_3 体の量は 4.4 mole %, 0.1 mole % と計算され,¹³⁾ これらの値は M^+ イオンから求められた量 (3.3 mole %, 0.5 mole %) にほぼ一致する。

13) J.H. Beynon, “Mass and Abundance Tables for Use in Mass Spectrometry,” Elsevier, Amsterdam, 1963.

14) S. Meyerson, J.L. Corbin, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 3045 (1965).

TABLE I. Relative Intensity in Mass Spectrum of Equimolar Mixture of Benzoic Acid and Benzoic Acid [arom.- $^2\text{H}_5$]

Benzoic acid			Benzoic acid [arom.- $^2\text{H}_5$]		
m/e	Ion	Intensity	m/e	Ion	Intensity
124	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2^+$	1.0	129	$\text{C}_7\text{H}^2\text{H}_5\text{O}_2^+$	1.0
123		9.0	128		8.7
122		96.9	127		94.3
121		1.1	126		3.6
120		0	125		0.5
		108.0(107.0) ^{a)}			108.1(106.6)
107	$\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$	0.9	112	$\text{C}_7^2\text{H}_5\text{O}^+$	0.4
106		8.0	111		6.0
105		100.0	110		77.7
104		1.3	109		25.3
103		0	108		1.5
		110.2(109.3)			110.9(109.0)
94	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}^+$	3.2	99	$\text{C}_6\text{H}^2\text{H}_5\text{O}^+$	3.2
79	C_6H_5^+	0.8	84	C_6^2H_5^+	0.4
78		7.1	83		6.2
77		56.0	82		52.0
76		4.3	81		5.8
75		1.0	80		2.5
		69.2			66.9
53 ^{b)}	C_4H_3^+	0.6	56	C_4^2H_3^+	1.9
52 ^{b)}		5.7	55		4.7
51 ^{b)}		25.7	54		25.9
50		3.8	53 ^{b)}		1.9
49		0	52 ^{b)}		2.5
48		0	51 ^{b)}		0.6
		35.8			37.5
Total ion $\sum_{48}$; 326.4			Total ion $\sum_{48}$; 326.6		

a) the sum of peak intensities in the region of ± 1 mass unit of main peak

b) corrected for the overlap of peaks between nonlabeled and labeled compound from data measured independently

TABLE II. Relative Intensity in Mass Spectrum of Equimolar Mixture of Hippuric Acid and Hippuric Acid [arom.- $^2\text{H}_5$]

Hippuric acid			Hippuric acid [arom.- $^2\text{H}_5$]		
m/e	Ion	Intensity	m/e	Ion	Intensity
137 ^{b)}	$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}^+$	0.3	142	$\text{C}_8\text{H}_4^2\text{H}_5\text{NO}^+$	0.3
136		3.3	141		3.3
135		27.0	140		27.8
134		18.1	139		9.7
133		1.1	138		8.1
		49.8	137 ^{b)}		0.4
107	$\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$	0.9	112	$\text{C}_7^2\text{H}_5\text{O}^+$	0.6
106		9.5	111		8.7
105		100.0	110		96.6
104		1.0	109		5.5
103		0	108		0.9
		111.4(110.5) ^{a)}			112.3(110.8)
79	C_6H_5^+	0.5	84	C_6^2H_5^+	0.4
78		4.9	83		4.3
77		50.0	82		45.6
76		1.4	81		3.1
75		0.4	80		0.9
		57.2			54.3
Total ion $\sum_{75}$; 218.4			Total ion $\sum_{75}$; 216.2		

a), b) See the footnote of Table I.

TABLE III. Possibility of Deuterium-Protium Exchange Reaction in Mass Spectrometer

Compound	Ion	Ratio of peak intensity	Unlabeled compound	Labeled compound
Benzoic acid	M^+	P_{m-1}/P_m	0.011	0.038
		P_{m-2}/P_m	0	0.005
	benzoyl	P_{m-1}/P_m	0.013	0.326
		P_{m-2}/P_m	0	0.019
	phenyl	P_{m-1}/P_m	0.077	0.112
		P_{m-2}/P_m	0.018	0.048
Hippuric acid	benzoyl	P_{m-1}/P_m	0.010	0.057
		P_{m-2}/P_m	0	0.009
	phenyl	P_{m-1}/P_m	0.028	0.068
		P_{m-2}/P_m	0.008	0.020

P_m shows the main peak.

P_{m-1} and P_{m-2} indicate the peak appearing at -1 and -2 of the main peak, respectively.

重水素標識体を質量分析法で定量する場合、まず考慮しなければならない問題に重水素標識が質量分析計内で軽水素と交換する現象や重水素ラジカルが脱離する現象がある。前者について、著者らは前報¹⁾で *l*-ephedrine の MS では m/e 105 ($C_6H_5CO^+$) に対して m/e 104 にはほとんどピークが認められないが、その重水素標識体 Id では m/e 110 に対して m/e 109 にも顕著なピークが認められたことから、ベンゼン核重水素と側鎖の軽水素との間に分子内交換反応が起こっていることを指摘した。この問題は、IIp と IIId, IIIp と IIIId の等モル混合物の MS をできるだけ正確なピーク強度が得られるように測定した結果 (Table I, Table II) から検討した。また、等モル混合物の MS における主ピーク (以下 P_m) に対してその -1 (P_{m-1}) および -2 (P_{m-2}) に現われるピーク強度比を求め、Table III に示した。非標識体の P_{m-1} のピークは標識体では P_{m-2} に相当する。IIId の M^+ ピークにおける P_{m-1} および IIIId のベンゾイルイオンピークとフェニルイオンピークの P_{m-1} の P_m に対する強度比は、それぞれの標識体中に混在する d_4 体の量にほぼ一致することから、これらのイオンの生成段階では重水素と軽水素の交換反応はほとんど起こっていないことが明

Fig. 1. Mass Spectra of Benzoic Acid (a), Benzoic Acid [arom.- 2H_8] (b), Hippuric Acid (c) and Hippuric Acid [arom.- 2H_8] (d)

らかにされた。これに対して、IIId から生成したベンゾイルイオンでは約 20% $\left(\frac{25.3}{110.9} \times 100 - 3.3\right)$ の、フェニルイオンでは約 5% の重水素と軽水素の交換したイオンが存在することが認められた。Holmes 等¹⁵⁾ は $C_6H_5COO^2H$ について、この交換反応を報告しており、Meyerson 等¹⁴⁾ はベンゼン核の特定位置を重水素化した II を用いて、この交換反応は $COOH$ の軽水素と o 位の重水素との間に起こることを明らかにしている。IIId と IIIId の例は、見かけ上は同じフラグメントイオンを生ずるにもかかわらず化合物によってこの交換反応が起こる場合と起こらない場合があることを示している。

質量分析計内で起こる、もう一つの重要な現象は、あるイオンから重水素が脱離し、その結果、 -2 の m/e 値に顕著なピークを認めることである。この現象は IIIId の MS (Fig. 1 参照) における m/e 140 ($M-CO_2^+$) の -2

15) J.L. Holmes, F. Benoit, *Org. Mass Spectrom.*, **4**, 97 (1970).

に認められている。すなわち, IIIp では m/e 135 ($M-CO_2^+$) と m/e 134 にピークが存在するが, IIIId では m/e 140 と m/e 139 ($M-COOH^+$) のほかに m/e 138 にもピークが認められた。この m/e 138 のピークは, m/e 136 に準安定イオンが存在することにより $M-CO_2^+$ から重水素ラジカルが失われて生じた $M-CO_2-^2H_1^+$ によるものと考えられる。なお, IIIp の m/e 134 ピークには $M-COOH^+$ のほかに $M-CO_2-H_1^+$ のイオンが含まれていることは m/e 133 の準安定イオンからも裏付けられた。

質量分析計内における同位体効果も, 重水素標識体を質量分析法で定量する場合に考慮しなければならない重要な問題である。この同位体効果は, 重水素標識体と非標識体の

- 1) 蒸気圧, 拡散速度およびイオン化効率などの差 (物理的な同位体効果)
- 2) 開裂過程における同位体効果

に分けて検討することができる。この問題も, IIp と IIId, IIIp と IIIId の等モル混合物の MS の結果 (Table I, Table II) について論ずる。まず, 物理的な同位体効果について検討した。標識体と非標識体の全イオン量が実験誤差の範囲内で一致していることから, この測定条件下における IIId と IIIId の物理的な同位体効果を考慮する必要がないことが明らかになった。次に, 開裂過程における同位体効果について検討した。非標識体の MS においては, P_m のほかに天然に存在する重同位体 (^{13}C , 2H , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O など) に起因するピークが $+1$, $+2$ に, 水素が $1-2$ 個はずれたピークが -1 , -2 に現われる。さらに重水素標識体では, 前述した質量分析計内の重水素と軽水素の交換, 重水素の脱離および d_3 体, d_4 体などの混在によって -1 , -2 のピーク強度が大きくなっている。そこで, 開裂過程における同位体効果は P_m を中心にして ± 2 の範囲に現われるピーク強度も考慮に入れて論ずる。Table I. において, IIp と IIId 混合物の M^+ およびベンゾイルイオンのピーク強度 (P_m を中心にして ± 2 の範囲にあるピーク強度の和) は実験誤差の範囲内で一致したことから, これらのイオンの生成過程では同位体効果は認められなかった。これに対して, IIId から生じるフェニルイオンの量は IIp のそれに対して 96.8% にすぎず, $C_4^2H_3^+$ の量は逆に 104.7% に達していた。IIIp と IIIId 混合物では, $C_4H_3^+$, $C_4^2H_3^+$ の生成が少ないのでその比は求められなかったが, フェニルイオンの生成については II と同じような同位体効果が認められた。すなわち, IIIId からのフェニルイオンの量は IIIp のそれに対して 95.0% であった (Table II 参照)。

現在のところ, 重水素標識体について質量分析計内での軽水素との交換, 重水素の脱離および開裂過程における同位体効果に関する研究はほとんど報告されていないので, 重水素標識体を MS で定量する場合, これらの現象に注意を払うべきであろう。

質量分析計で定量する場合, 定量に用いるイオンとしては開裂過程に同位体効果のないイオンで, しかもそのイオンの P_m の相対強度が強いことが必要とされる。そこで II については M^+ とベンゾイルイオンを, III についてはベンゾイルイオンを定量に用いることにした。重水素標識代謝産物を MS で定量する場合, P_m のほかにそのイオンに関係のあるすべてのピークも考慮すべきであるが, あまり多くのピークまで計算に加えることは算出式を複雑にするばかりでなく, 他のイオンまで計算に入れてしまうおそれがある。そこで, P_m とその ± 1 のピーク強度の和を標識体と非標識体の等モル混合物について比較した (Table I, Table II の () 内参照)。IIp と IIId 混合物における M^+ およびベンゾイルイオンの, また IIIp と IIIId 混合物におけるベンゾイルイオンの強度がほぼ等しくなることから, 99.0% の重水素含量を有する IIId および IIIId では P_m とその ± 1 のピークだけから計算しても十分な精度が得られることが明らかになった。

質量分析法が重水素標識代謝産物の定量に実用化されるためには, 内因性代謝産物で高度に希釈されている標識代謝産物を定量できる方法を確立しておくことが必要である。この課題に対する検討はモル比で 1:100 前後の IIp と IIId, IIIp と IIIId の混合物について行なうことにした。質量分析計で, 100 倍の非標識体で希釈された標識体を定量するには後者のピークを前者のそれらに対して約 100 倍の拡大率で記録することになる。この場合, 問題になることは

- 1) 拡大率をあげたときの, back ground および非標識体による標識体ピークへの貢献をいかに補正するか,
- 2) 質量分析計の正確な拡大率の求め方の 2 点である。まず, 1) の問題を検討した。Fig. 2 にはできるだけ同一条件で back ground, IIp, IIp と IIId の 100:1 の混合物を scale $\times 1$ と scale $\times 100$ の 2 つの記録計を用い, m/e 121—128 の範囲をゆっくり記録した MS の 1 例を示す。Fig. 2-a から scale $\times 1$ では問題にならなかった

TABLE IV. Contribution of Protiated Benzoic Acid and Hippuric Acid to $m/e + 4$, $+5$, and $+6$ of Main Peak

Compound	Main peak	$m/e + 4^a)$	$m/e + 5^a)$	$m/e + 6^a)$
Benzoic acid	m/e 105	m/e 109	m/e 110	m/e 111
	100.0	3.2	3.6	2.0
	m/e 122	m/e 126	m/e 127	m/e 128
	100.0	0.8	2.1	2.2
Hippuric acid	m/e 105	m/e 109	m/e 110	m/e 111
	100.0	1.6	12.6	12.5

a) Relative intensity of peak height measured at scale $\times 100$ to that of m/e 105 or m/e 122 measured at scale $\times 1$.

back ground も scale $\times 100$ では無視できなくなることがわかる。また, IIP の MS (Fig. 2-b) から scale $\times 100$ の m/e 126, 127, 128 の強度はその back ground よりもわずかに強く認められている。そこで, IIP の scale $\times 1$ で測定した m/e 122 のピーク強度 (I_a), scale $\times 100$ で測定した m/e 126, 127 または m/e 128 のピーク強度 (I_b) および scale $\times 100$ で測定された対応する back ground (I_c) から, I_a を 100 とした場合の IIP によるそれぞれのピークへの見かけ上の貢献率は

$$(I_b - I_c)100/I_a$$

の計算式より算出される。Table IV には, IIP の M^+ とベンゾイルイオンの, IIIP のベンゾイルイオンの $+4$, $+5$ および $+6$ への scale $\times 100$ における貢献率を, 測定日を変えて 3 回測定し, その平均値を示した。また, 高度に希釈されている標識体による非標識体ピークへの貢献は, 前述した等モル混合物の場合でさえも考慮する必要がないことから, 全く無視することができる。

次に 2) の問題について検討した。質量分析計の目盛り上の倍率は必ずしも真の拡大率を示さないの, この問題はモル比 100:1 の IIP と IIIP 混合物の M^+ 領域を測定することにより検討した。Fig. 2-c に示す MS において scale $\times 1$ で測定した m/e 121, 122 と 123 のピーク強度の和に対する scale $\times 100$ で測定した m/e 126, 127 と 128 のピーク強度 (それぞれの back ground と IIP の貢献率を補正した) の和の比は, 真の拡大率が $\times 100$ ならば, 1:1 になるはずである。上記の混合物について測定日を変えて 3 回測定したところ (Table V), その値は $1:0.772 \pm 0.007$ になった。ここに得られた拡大率 ($\times 77.2$) は, 以下に述べる定量結果がいずれの場合にも混合比にかなりよい一致を示すことから, 真の拡大率であると思われる。なお, この実験例のように拡大率が問題になる測定では, あらかじめ記録計の拡大率を正確に求めておくことが必要であるが, IIP と IIIP 混合物

Fig. 2. Example of Mass Spectra of Back Ground (a), Benzoic Acid (b) and Mixture (Molar ratio 100:1) of Benzoic Acid and Benzoic Acid [arom.- 2H_5] (c)

Each spectrum was recorded very slowly at scale $\times 1$ and scale $\times 100$ in the region of m/e 121–128.

TABLE V. Magnifying Power of Mass Spectrometer determined with Mixture^{a)} of Benzoic Acid and Benzoic Acid [arom.- 2H_5]

	m/e 121 (A)	m/e 122 (B)	m/e 123 (C)	m/e 126 (D) ^{b)}	m/e 127 (E) ^{b)}	m/e 128 (F) ^{b)}	$\frac{100(D+E+F)}{(A+B+C)}$
No. 1 ^{c)}	1.0	100.0	9.1	3.1	75.3	7.1	78.0
No. 2	1.0	100.0	9.1	3.4	73.6	6.9	76.2
No. 3	0.9	100.0	9.1	3.0	75.1	7.0	77.4
	mean of No. 1–3						77.2 $\pm$ 0.7

a) molar ratio 100.0:1

b) Relative intensity of the peak intensity measured at scale $\times 100$, corrected for the back ground and the contribution of nonlabeled compound, to that of m/e 122 measured at scale $\times 1$.

c) No. 1, No. 2 or No. 3 was determined on different days.

TABLE VI. Quantitative Determination of Deuterated Compound diluted with Protiated Compound

Compound	Mixed ratio ^{a)}	Observed ratio ^{b)}	
		From benzoyl ion	From molecular ion
Benzoic acid	83.5	83.1 ± 0.8 (−0.6 ^{c)})	84.1 ± 0.4 (+0.6)
	99.8	100.1 ± 1.2 (+0.3)	100.2 ± 0.7 (+0.3)
	135.0	138.4 ± 1.1 (+2.5)	137.5 ± 2.3 (+1.9)
	200.7		194.9 ± 3.2 (−2.9)
	391.7		387.4 ± 6.4 (−1.1)
Hippuric acid	78.9	79.6 ± 0.7 (+0.9)	
	100.6	98.3 ± 0.7 (−2.3)	
	121.7	121.7 ± 0.9 (0)	

a) molar ratio; protio compound/deutero compound

b) average value of 3 measurements ± standard deviation

c) relative error (%)

の M⁺ を用いる方法はその一例を示すものである

Table VI には IIp と IIId 混合物および IIIp と IIIId 混合物の定量結果を一括して示した。II では M⁺ とベンゾイルイオンを, III ではベンゾイルイオンを定量に用い, その P_m と ±1 のピーク強度の和から得られた結果は, 混合比が大きくなるとその標準偏差も大きくなるが, いずれの場合にも混合比に対して 3% 以内の値を示している。したがって, この定量法は薬物代謝の研究に十分な精度を有しているものと思われる。

実際に重水素標識代謝産物を定量するとき, その重水素標識標準品が入手できず, 前述した質量分析計内における重水素と軽水素の交換反応, MS における同位体効果などについてあらかじめ検討できない場合には, いくつかの主なイオンを用いて定量を検討することが必要であろう。

謝辞 終りに本研究に対して, 御鞭撻を賜った東京薬科大学学長 長瀬雄三教授に感謝の意を表します。