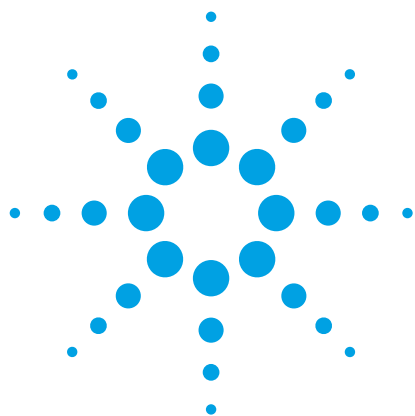




Agilent GC/MS 독성학 분석기와 고효율 소스를 이용한 다양한 약물 스크리닝

응용 자료

법의학 독성학(Forensic Toxicology)

저자

Melissa Churley 및
Luis Cuadra-Rodriguez
Agilent Technologies, Inc.

소개

생물학 시료의 약물에 대한 광범위한 스크리닝을 위해서는 표적 수에 제한 없는 전체 스펙트럼 식별 확인뿐 아니라 표적 이외 물질에 대한 스펙트럼 식별도 필요합니다. Agilent GC/MS 독성학 분석기는 Deconvolution Reporting Software(DRS)와 Forensic Toxicology 데이터베이스 라이브러리를 이용하며, 고효율 소스(HES)가 장착된 Agilent 5977B 질량 분석기를 사용합니다. 이러한 기술을 함께 조합하여 더 많은 수의 극미량 표적 물질을 스크리닝하고 분석 시간도 단축합니다.



Agilent Technologies

고효율 소스(HES)를 이용한 저농도 스크리닝

고효율 소스(HES)를 이용한 약물의 스크리닝 능력의 발전은 표 1에 나온 바와 같이 인간혈청(human serum) 실험을 통해 증명되었습니다. Agilent Bond Elut Certify 범용 약물 스크리닝 분석법 M2721[1]에 따라 음성 혈청(Negative serum) 2mL를 추출했습니다. 이 추출물을 0.1mL 메탄올에 혼합한 후 GC/MS Toxicology Checkout Mixture(p/n 5190-0471)로 표준화하여 10 ~ 1,000ng/mL(바이알)의 유도체화되지 않은 표준물질을 얻었습니다.

표 1. AMDIS(minimum match factor 75)로 검출된 표준화 혈청 추출물 중 약물의 최소 주입량

	HES(HES Autotune)			Extractor(etune)		
	Minimum amount injected(pg) AMDIS score > 75	AMDIS Score	Equivalent concentration in serum(ng/mL)*	Minimum amount injected(pg) AMDIS score > 75	AMDIS Score	Equivalent concentration in serum(ng/mL)*
Amphetamine	500	94	25	500	75	25
Nicotine	50	92	2.5	50	81	2.5
MDA	500	77	25	500	76	25
MDMA	500	85	25	500	83	25
MDEA	10	76	0.5	500	97	25
Meperidine	10	85	0.5	50	85	2.5
Phencyclidine	50	83	2.5	500	90	25
Methadone	50	87	2.5	500	89	25
Cocaine	50	77	2.5	500	94	25
SKF-525a	50	77	2.5	100	81	5
Codeine	100	88	5	500	90	25
Diazepam	50	90	2.5	50	81	2.5
Hydrocodone	100	91	5	500	90	25
Tetrahydrocannabinol	50	75	2.5	100	78	5
Oxycodone	50	80	2.5	500	83	25
Flunitrazepam	500	88	25	500	75	25
Diacetylmorphine	100	79	5	1,000	83	25
Fentanyl	50	85	2.5	50	77	2.5
Alprazolam	100	76	5	1,000	85	50
Verapamil	50	84	2.5	500	90	25
Strychnine	500	86	25	500	77	25
Trazodone**	> 1,000	(71)	> 50	> 1,000	(68)	> 50

HES(extractor 소스 대비)를 사용하여 확인된 저 농도 약물이 강조 표시되었습니다. 괄호 안은 튜닝 조건입니다.

* 2mL 혈청 시료에서 100% 회수율, 0.1mL의 추출물 재구성 및 1μL 주입 가정

** score 75를 달성하기 위해 필요한 주입된 trazodone의 주입량은 1,000pg을 초과합니다.

benzodiazepines oxazepam, lorazepam, temazepam, nitrazepam 및 clonazepam은 1,000pg 수준에서 확인되지 않았습니다.

체코아웃용 혼합물에 합성 오피오이드 펜타닐(opioid fentanyl)을 추가했습니다. 혈청에서 메타돈(methadone), 코카인(cocaine), 하이드로코돈(hydrocodone), THC 등의 스크리닝된 약물 표적 화합물들의 극미량 분석도 전체스캔모드(full-scan mode)에서 확실하게 확인할 수 있습니다(예: 하이드로코돈 (hydrocodone) 5ng/mL 확인). HES는 소스에서 생성되는 이온들의 수를 극대화하여, 많은 수의 이온들이 사중극자(Quadrupole)로 전달되며, 강한 시그널과 더 높은 감도를 제공합니다(그림1). 이러한 감도의 증가로 스크리닝 과정에서 더 많은 표적 약물을 확인하고 라이브러리 매칭의 신뢰성을 높여줍니다.

이성질체 구별(Isomer Differentiation)을 이용한 NIST 검색 가능 스펙트럼

법의학 화학자는 최고 수준의 과학적 확신을 가지고 약물남용을 식별할 수 있어야 합니다. 코카인 이성질체 확인 문제는 표적 물질을 잘 선별해 내는 고특이성 (high specificity) 분석법에 대한 요건을 어느 정도 강화시켰습니다[2]. HES를 장착한 5977B GC/MSD를 이용하면 코카인 이성질체를 구분하여 원하는 물질을 검출해 내며, 검출된 약물의 스펙트럼을 NIST 검색기능을 통해 확인함으로써 검출된 약물 데이터에 대한 엄격한 무결성(strict integrity)을 얻을 수 있습니다(그림 2).

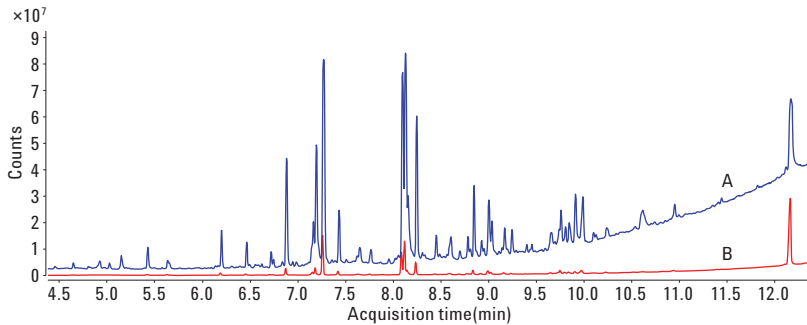


그림 1. A) HES Autotune과 B) extractor 소스 etune을 이용한 혈청 중 500pg 표준물질의 TIC 겹침(overlay)

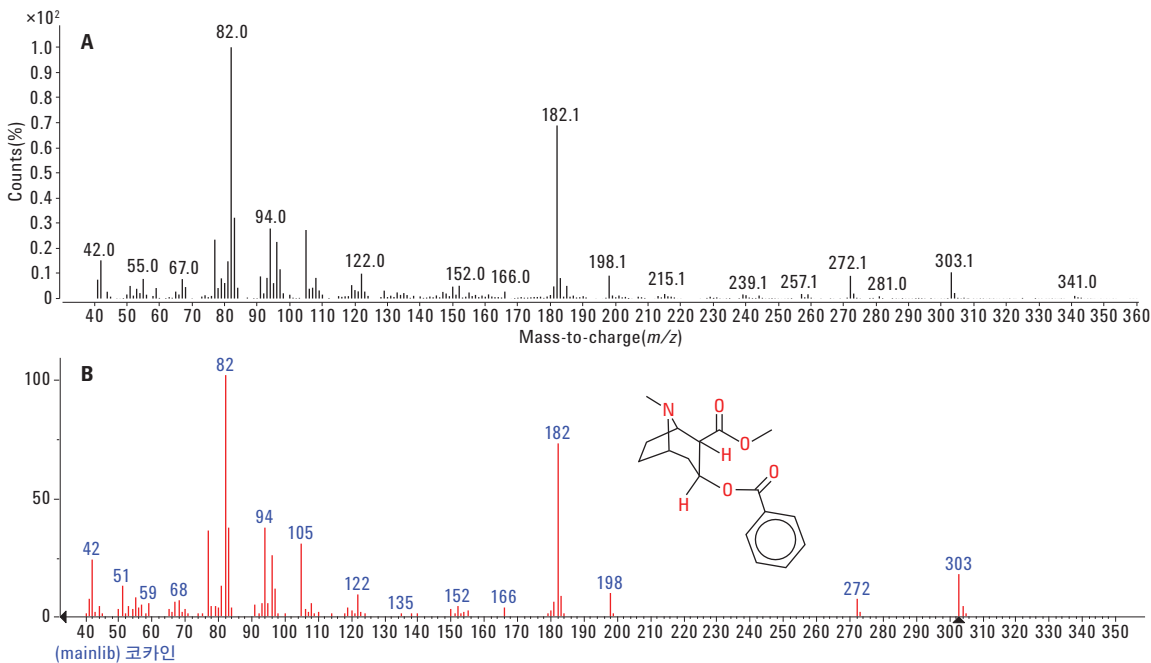


그림 2. 혈청에 주입된 100pg 코카인의 질량 스펙트럼(A)과 NIST 스펙트럼(B)의 비교 NIST에서 첫 번째로 일치한 것은 코카인입니다. Match factor는 810(양호)이며[3], Match factor 788(적정)을 가지는 pseudococaine과 구분됩니다. 100% 회수율에서의 등가농도(equivalent concentration)는 5ng/mL입니다. 상술한 농도를 초과할 경우, 코카인은 첫 번째 매칭 결과로 반환되며 우수한 NIST 라이브러리 매치(≥ 900)를 나타냅니다.

결론

Agilent 5977B GC/MSD의 고효율 소스는 표적 약물의 신호를 크게 강화시켜 줍니다. 최종 스펙트럼은 최고의 수준이며, NIST 검색이 가능합니다. Deconvolution Reporting Software와 조합했을 때, 스크리닝 분석의 검출 수준은 유도체화와 SIM 모드를 이용한 검출 수준에 접근합니다.

감사의 글

저자는 이 작업에 대한 Bruce Quimby와 Fred Feyerherm의 결실있는 토론에 감사드리며, Nathan Contino의 공헌에도 감사드립니다.

참조 문헌

1. Anon. *Agilent Bond Elut Certify and Certify II Methods Manual*; Agilent Technologies, Inc. Publication number 5991-4939EN, **2014**.
<http://www.agilent.com/cs/library/brochures/Bond%20Elut%20Certify%20MethodsManual.pdf>
2. Schlesinger, H. L. Topics in the chemistry of cocaine. *B. Narcotics* **1985**, *1*, 63-78. United Nations Office on Drugs and Crime, Vienna, Austria.
https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1985-01-01_1_page006.html
3. Anon. NIST Standard Reference Database 1A, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 14) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.2), User's Guide. National Institute of Standards and Technology, U.S. Department of Commerce, Gaithersburg, MD, USA.
<http://www.nist.gov/srd/upload/NIST1aVer22Man.pdf>

추가 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트 제품 및 서비스에 대한 더 자세한 정보는 웹 사이트 www.agilent.com/chem에서 확인하실 수 있습니다

www.agilent.com/chem

법의학 용도로만 사용하십시오.
정보는 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
한국에서 발행
2015년 10월 14일
5991-6294KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies