

혈장 매트릭스 내 약물 분석에 대한 Agilent 6470 Triple Quadrupole 질량 분석기의 내구성

응용 자료

저자

Craig P. Love, Behrooz Zekavat,
Patty Sun
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA

개요

신약개발단계에서는 대량의 시험관내 분석과 생체내 분석을 통해 후속 의약품 개발에 사용될 잠재적 약물 후보를 선별해야 합니다. 하지만 매트릭스 성분(플라즈마, 소변 등)의 존재는 대사산물의 생체내 식별과 정량분석에 쉽지 않은 도전을 안겨주고 있습니다. 따라서 약물 후보의 고처리량 스크리닝을 위해 감도가 높고 안정적인 분석 기법이 필요합니다. 가장 많이 사용되는 기법은 Triple Quadrupole 질량 분석기의 다중 반응 모니터링(MRM) 모드를 이용한 분석법입니다. 그러나 시간이 지남에 따라 비휘발성 시료 매트릭스 성분이 이온 소스와 이온 전달 optics에 누적되기 때문에 시스템의 분석 성능이 저하될 수 있습니다. 따라서 최적의 성능을 유지하기 위해서는 빈번한 세척이 필요할 수 있습니다. Agilent 6470 Triple Quadrupole 질량 분석(MS) 시스템은 여러 가지 중요한 설계 혁신을 통해 넓은 선형 측정 범위(Linear Dynamic Range)에서 다양한 시료 매트릭스 내 표적 분석물 정량분석의 감도, 정밀도 및 견고성을 높여줍니다. 그 설계 혁신은 다음과 같습니다.

- 최적화된 Ion Optics 및 프리필터의 기하적 구조는 이온 전달 효율을 높이고 오염을 줄입니다.
- 곡선형 Tapered Hexapole 충돌 셀을 통해 MS/MS 조각화(fragmentation)와 이온 전달의 효율을 높여줍니다.
- 고 에너지 변환 다이노드 및 저 노이즈 특징을 갖춘 이온 검출기를 통해 넓은 m/z 범위에서 보다 효율적인 양이온 및 음이온 검출을 제공합니다.

이 응용 자료는 혈장 내 약물의 빠르고 견고한 분석을 위해 Agilent RapidFire 365 HTMS(High-throughput MS) 시스템과 Agilent 6470 Triple Quadrupole 질량 분석기를 연동하여 사용할 때의 이점을 설명합니다.



Agilent Technologies

Agilent 6470 Triple Quadrupole 질량 분석 시스템의 내구성 평가

RapidFire 365 HTMS 시스템과 6470 Triple Quadrupole 질량 분석기를 연동하여 사용한 분석의 내구성을 평가하기 위해 알프라졸람과 클로자핀의 혼합물을 사용했습니다. 이 혼합물의 해당 내부 표준물질(IS), 즉 알프라졸람-D5와 클로자핀-D4를 각각 5ng/mL의 농도로 침전된 돼지 혈장에 첨가합니다. 돼지 혈장은 침전시키려면 아세토니트릴과 1:3의 체적비로 혼합한 후 13,500 rpm에서 5분 동안 원심 분리합니다. 그다음 상청액을 1:10의 체적비로 희석하고 분석물과 내부 표준물질(IS)을 첨가합니다. 표준물질을 첨가한 혈장 시료는 96 Well microtiter 플레이트로 이송되고 Agilent PlateLoc Thermal Microplate Sealer로 밀봉한 후 RapidFire/MS 분석을 수행합니다.

RapidFire 365 HTMS 파라미터는 다음과 같은 RapidFire 분석법 조건을 얻기 위해 최적화되었습니다.

세척 용매 1(완충액 A, 유속: 1.50mL/분)
물 + 2mM 아세트산 암모늄 + 0.1% 포름산

세척 용매 2(완충액 B, 유속: 1.25mL/분)
20% 아세토니트릴(수용액) + 10mM 아세트산 암모늄 + 0.1% 포름산

용리 용매(완충액 C, 75%의 에틸 아세테이트를 메탄올과 혼합)는 1.25mL/분의 유속으로 애질런트 유형 A(C4) 카트리지에서 분석물을 용리합니다. 혈장 내 저분자 약물의 분석은 시료당 약 15초의 빈도로 연속 5일 동안(매일 주입 수: 2,000) 수행되었습니다. 이 시험에서 사용한 최적화된 6470 Triple Quadrupole 이온 소스 및 MS 파라미터는 표 1과 2에 요약되어 있습니다.

표 1. Agilent Jet Stream 이온 파라미터

파라미터	값
건조 가스 온도	325 °C
건조 가스 유속	7 L/분
Nebulizer 압력	50 psi
Sheath 가스 온도	300 °C
Sheath 가스 유속	12 L/분
캐필러리 전압	4,000 V
노즐 전압	500 V

표 2. Agilent 6470 Triple Quadrupole MRM 파라미터

성분	Q1	Q3	CE
알프라졸람	309.1	281.1	20
클로자핀	327.1	270.1	24
알프라졸람-D5(IS)	314.1	286.1	20
클로자핀-D4(IS)	331.1	272.2	24

그림 1은 각 분석물을 50picogram씩 주입했을 때의 알프라졸람(A) 및 클로자핀(B)의 피크 면적비를 RapidFire 주입 수의 함수로 보여줍니다(총 주입 수: 10,000).

10,000번을 넘는 주입에서 안정적인 피크 면적비를 얻었으며, 이는 6470 Triple Quadrupole MS 시스템의 견고한 분석 성능을 나타냅니다.

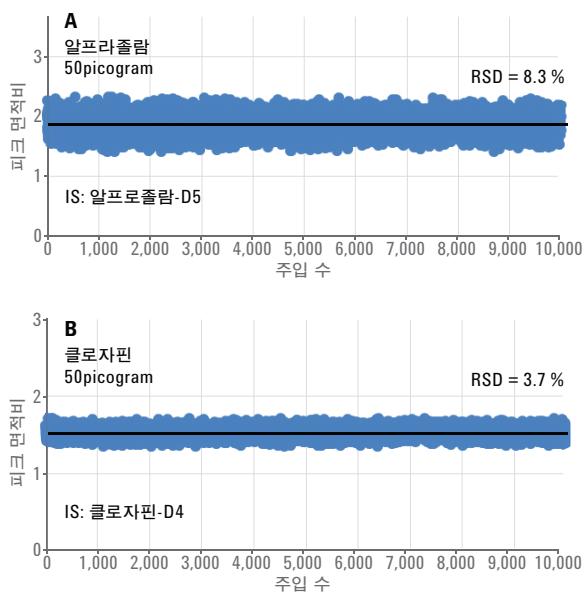


그림 1. 10,000번 주입에서의 알프라졸람(A)과 클로자핀(B)의 피크 면적비

그림 2는 첫 번째와 10,000번 째의 시료 주입에서의 알프라졸람(A) 및 클로자핀(B)의 겹친 MRM 크로마토그램을 보여줍니다. 그림 2는 알프라졸람과 클로자핀의 피크 모양과 면적(높이)이 10,000번 반복 주입 후에도 변형되지 않았음을 보여줍니다.

결론

Agilent 6470 Triple Quadrupole 질량 분석기 이온 소스 optics의 혁신적인 설계를 통해, 시료 축적으로 인한 불리한 영향을 최소화하며 침전된 혈장 시료 내 표적 약물 후보의 초고처리량 분석을 위해 견고한 분석 플랫폼을 제공합니다.

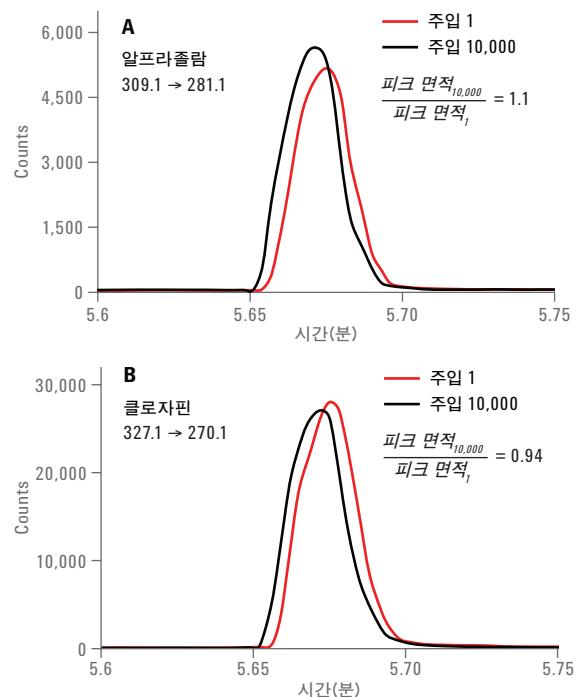


그림 2. 첫 번째 주입과 10,000번째 주입에서의 알프라졸람(A) 및 클로자핀(B)의 겹친 MRM 크로마토그램

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
한국에서 발행, 2015년 6월 9일
5991-5953KO

서울 강남구 역삼로 542 신사제 2 빌딩 2 층 우)135-848
한국애질런트테크놀로지스 (주) 생명과학 / 화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies