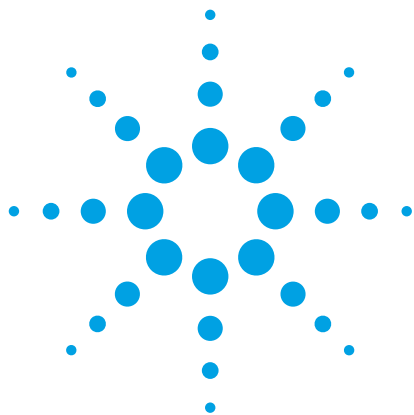




乾燥マトリクススポットの均質性

アプリケーションノート

医薬品

著者

William Hudson、Ben Yong
Paul Boguszewski、Ritu Arora
Agilent Technologies, Inc.
25200 Commercentre Drive
Lake Forest, CA 92630
USA

緒言

臨床および前臨床医薬品試験における生体試料分析のための乾燥血液スポッティングが近年普及してきました。薬物研究に迅速で高品質の毒性分析データや薬物動態データが必要になるほど、乾燥血液スポッティングが従来の血清からの抽出、分析に代わる方法として重要になります。

この手法では、血液スポットの品質が重要な問題になります。通常はスポットの一部分のみ使用するため、血液スポットの大きさが一定であること、またスポット全体の分析対象成分の分散が均一であることを確認する必要があります。パンチをスポットの中心からくり抜くか、端の方でくり抜くかにかかわらず、回収率の再現性が良くなくてはなりません。

実験方法

重水素化した標準試料が入手可能であること、低分子医薬品の典型例になることを基本として考え、クロザピン、ゾルピデム、パロキセチン、ノルトリプチリンの4種を分析対象成分として選択しました。

1,000 μL のヒトの血液に4つの分析対象成分を20 ng/mLの濃度でスパイクしました。20 μL の血液を Agilent Bond Elut DMS カードにスポットしました。血液スポットを2時間乾燥させ、5枚のディスクをパンチしました。中心、上、左、右、および左下端から1.5 mmのディスクをパンチし、それぞれのディスクを96ウェルプレートのウェル1つずつに入れました。

0.1 % 酢酸含有 80 % メタノール 300 μL (重水素化内部標準試料混合物 0.066 ng/mL を含む) を各ウェルに添加し、攪拌しました。

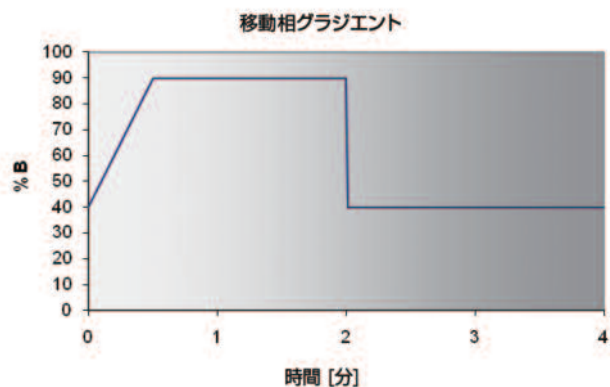
サンプルを蒸発乾固し、100 μL の初期移動相に再溶解しました。



Agilent Technologies

LC/MS 条件

カラム	Pursuit XRS ^{ultra} C18 50 mm x 2.0 mm
移動相	A : 0.1 % 酢酸水溶液 B : MeOH
ポンププログラム	流量 200 µL/min
	t_0 A : 60 %、B : 40 %
	$t_{0.5-2.0}$ A : 10 %、B : 90 %
	$t_{2.01-4.00}$ A : 60 %、B : 40 %
分析時間	4:00 分
ガス温度	350 °C
ガス流量	10 L/min
ネブライジング	20 ps
極性	Pos



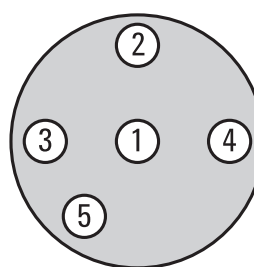
化合物	Q1 イオン	プロダクトイオン	CE
ゾルピデム	308.2	235.1	36 V
ゾルピデム-D6	314.2	235.0	36 V
クロザピン	327.1	270.1	20 V
クロザピン-D4	331.2	272.1	20 V
パロキセチン	330.2	192.1	20 V
パロキセチン-D6	336.2	198.1	20 V
ノルトリプチリン	264.2	105.1	16 V
ノルトリプチリン-D3	267.2	233.0	8 V

結果および考察

3 つの基材のロットが異なるカード間では、スポットの直径の RSD 値はすべて 3 % 以下でした。

ロット番号	1	2	3	4	平均	RSD
80062	0.214"	0.218"	0.212"	0.211"	0.214"	1.4%
81121	0.224"	0.214"	0.219"	0.209"	0.217"	3.0%
80862	0.217"	0.205"	0.216"	0.210"	0.212"	2.6%

(単位 : インチ)



図にマークした位置で 20 µL の血液スポットから 直径 1.5 mm ディスクをパンチしました。血液中の濃度は 20 ng/mL で一定のはずです。分析対象成分のレスポンスは、取得した各ディスク間で一定になっていました。

		1	2	3	4	5
ゾルピデム	平均レスポンス (n = 4)	11113	11641	11233	10807	10802
	CV (中心 (パンチ 1) からのずれ)		0.6 %	1.1 %	-2.7 %	-2.8 %
クロザピン	平均レスポンス (n = 4)	6122	6462	6511	5972	5933
	CV (中心 (パンチ 1) からのずれ)		3.1 %	3.5 %	-1.3 %	-1.7 %
パロキセチン	平均レスポンス (n = 4)	1480	1474	1462	1446	1532
	CV (中心 (パンチ 1) からのずれ)		-0.4 %	-1.3 %	-2.3 %	3.5 %
ノルトリプチリン	平均レスポンス (n = 4)	5233	5100	5398	5431	5318
	CV (中心 (パンチ 1) からのずれ)		-2.5 %	3.2 %	3.8 %	1.6 %

結論

スポット直径は 4 つのスポットで一定であり、基材の 3 つの異なるロット間で RSD 値は 3 % 以下でした。

上、左、右、および斜め下で取得したパンチを中心のパンチと比較したところ、回収率はスポット中心と同様に一定していました。

データは、血液スポット内の 4 つの異なる薬剤の分散が均一であることを示しています。

マトリクススポット内が均質であることとスポットサイズが一定であることにより、臨床研究全体での分析結果の安定性を保証します。

詳細情報

Agilent Bond Elut DMS カードは、DMPK/ADME 研究アプリケーション専用です。診断手段には使用しないでください。

本資料のデータは標準的な結果を表しています。アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2011
Printed in Japan
June 6, 2011
5990-8035JAJP



Agilent Technologies