血漿中医薬品のハイスループット分析における Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS の堅牢性

アプリケーションノート

著者

Craig P. Love, Behrooz Zekavat, and Patty Sun

Agilent Technologies, Inc.

Santa Clara, CA

概要

医薬品の創薬プロセスでは、新薬候補物質スクリーニングのために、in vitro および in vivo 分析が行われます。質量分析計を用いた薬物および代謝物の in vivo 同定および定量は、血漿や尿などに由来する多量のマトリックスが原因で困難な作業となっており、特に新薬候補物質のハイスループットスクリーニングのためには高感度かつ堅牢な分析技法を使用する必要があります。最も一般的な分析手法は、トリプル四重極質量分析計をマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードで使用する方法です。しかしながら、イオン源およびイオン光学系にサンプル溶液中の非揮発性マトリックス成分が蓄積すると、時間の経過につれてシステムの分析性能が低下する可能性があります。結果として、最適な性能を維持するために、頻繁なメンテナンスが必要になることがあります。Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS システムでは、いくつもの革新的設計を採用することで、この問題を解決しました。

- 最適化されたイオン光学系およびプレフィルタ構造: イオン透過率を高め、汚染を最小限に抑えます。
- カーブテーパードヘキサポールコリジョンセル: 高効率のフラグメント生成およびイオン透過を可能にします。
- 高エネルギー変換ダイノードと低ノイズ特性を備えた検出器: 幅広い m/z 範囲にわたり、正負両方のイオンの検出効率を向上させます。

このアプリケーションノートでは Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS を Agilent RapidFire 365 ハイスループット MS (HTMS) システムと組み合わせ、血漿中の医薬品類の迅速かつ確実な分析における堅牢性を評価しました。

Agilent Technologies

Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS システムの堅牢性評価

6470 トリプル四重極 LC/MS を RapidFire 365 HTMS システムと組み合わせて使用した場合の堅牢性を評価しました。ブタ血漿に 3 等量のアセトニトリルを加え撹拌後、13,500 xg で 5 分間遠心分離し上清を回収しました。上清を 10 等量の水で希釈したのちに、アルプラゾラムとクロザピンおよび内部標準物質として [2H5]-アルプラゾラムと [2H4]-クロザピンを血漿 1 mL あたり 5 ng となるよう添加しサンプル溶液としました。サンプル溶液は、Agilent PlateLoc Thermal Microplate Sealer を使用して密閉しました。

RapidFire 365 HTMS の分析メソッドは以下のように最適化を行いました。

洗浄溶媒 1 1:2 mM 酢酸アンモニウム + 0.1 % (v/v) ギ酸、1.5 mL/min

洗浄溶媒 2 (緩衝液 B、1.25 mL/min の流量) 20 % (v/v) アセトニトリル + 10 mM 酢酸アンモニウム + 0.1 % (v/v) ギ酸、1.25 mL/min

溶出溶媒: メタノール:酢酸エチル = 25:75 (v/v)、1.25 mL/min

カートリッジ: タイプ A (C4)

1 サンプルあたりの分析時間はおよそ 15 秒とし、連続する 5 日間で 1 日当たり 2,000 サンプル、合計 10,000 サンプルを分析しました。この実験における Agilent 6470 トリプル LC/MS の Agilent Jet Stream パラメータと MS/MS パラメータを、それぞれ表 1、2 に示しました。

図1は、50 pg 相当注入時におけるアルプラゾラム (A) およびクロザピン (B) について、ピーク面積比 (非標識体/標識体) を示しています。10,000 回の連続注入におけるピーク面積比の RSD はアルプラゾラム、クロザピンでそれぞれ 8.3 %、3.7 % となりました。

表 1. Agilent Jet Stream ソースパラメータ

パラメータ	値
乾燥ガス温度	325 °C
乾燥ガス流量	7 L/min
ネブライザ圧力	50 psi
シースガス温度	300 °C
シースガス流量	12 L/min
キャピラリ電圧	4,000 V
ノズル電圧	500 V

表 2. Agilent 6470 トリプル四重極 MRM パラメータ

化合物	Precursor Ion	Product Ion	Collision Energy
アルプラゾラム	309.1	281.1	20
クロザピン	327.1	270.1	24
アルプラゾラム D5 (IS)	314.1	286.1	20
クロザピン D4 (IS)	331.1	272.2	24

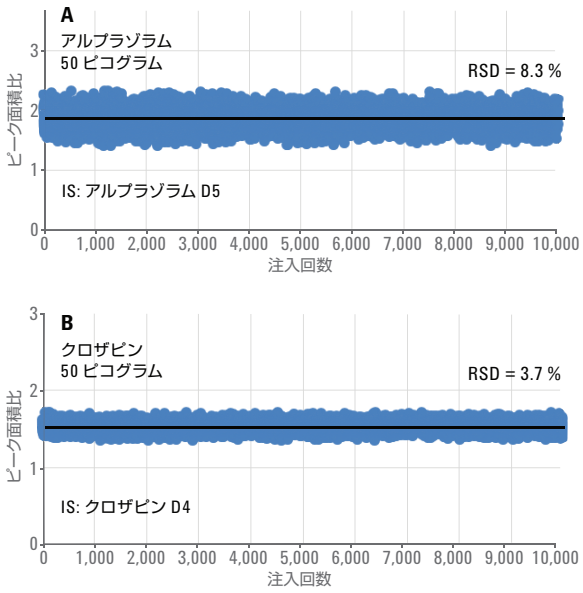

図 1: 10,000 回の注入にわたるアルプラゾラム (A) とクロザピン (B) のピーク面積比。

図 2は、10,000 回の連続注入のうち 1 回目と 10,000 回目のアルプラゾラム (A) とクロザピン (B) の MRM クロマトグラムの重ね書きです。いずれの化合物においてもピーク形状は高い相似性を示し、1 回目と 10,000 回目のピーク高さ、面積はほぼ同一であることが示されました。

結論

Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS の革新的なイオン光学系の設計によって、マトリックスによる感度低下は最小限に抑えられました。この結果から、Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS は、マトリックスの多いサンプルのハイスループット分析に対応可能な、極めて堅牢性の高いプラットフォームであることが示されました。

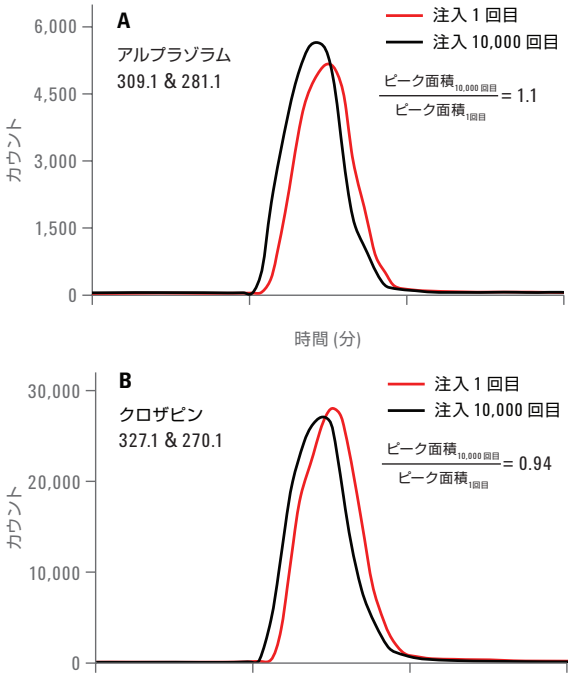

図 2: 10,000 回の注入の最初と最後におけるアルプラゾラム (A) とクロザピン (B) の MRM クロマトグラムの重ね表示。

www.agilent.com/chem/jp

本資料記載の情報は、予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2015
Published in Japan, June 9, 2015
5991-5953JAJP

Agilent Technologies