



Анализ клозапина, нортриптилина, пароксетина и золпидема с использованием сухих пятен крови

Методическая информация

Фармацевтическая промышленность

Авторы:

Уильям Хадсон (William Hudson),
Бен Йонг (Ben Yong),
Пол Богушевский (Paul Boguszewski)
Agilent Technologies, Inc.
25200 Commercentre Drive
Lake Forest, CA 92630
США

Введение

В последние годы использование технологии сухого пятна крови (DBS) в доклинических и клинических испытаниях новых химических веществ в фармацевтической промышленности набирает популярность. Фармацевтические компании используют ее для отбора, хранения и исследования образцов крови на аналиты. 10 мкл крови наносят на бумагу и оставляют ее высыхать минимум на 2 часа. Затем из пятна пробивается диск диаметром 2–4 мм. Используя растворитель, аналиты десорбируют из бумаги и анализируют методом ЖХ-МС/МС. Обычно для этих целей использовались целлюлозные материалы, однако теперь доступен новый нецеллюлозный материал. Карта для получения сухой матрицы (DMS) отлично подходит для хранения и подготовки соединений в биологических жидкостях. Данные демонстрируют хорошие аналитические результаты для крови, но эта методика также подходит для анализа любой высушенной биологической жидкости.

Экспериментальная часть

В качестве аналитов были выбраны четыре вещества исходя из наличия дейтерированных стандартов: клозапин, золпидем, пароксетин и нортриптилин.

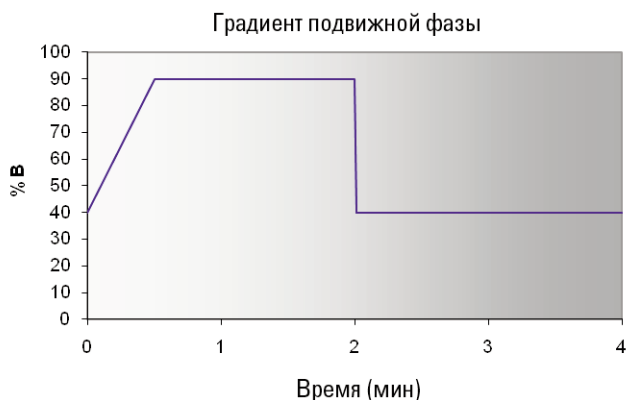
Точность и прецизионность выходов были рассчитаны на основе линейной регрессии калибровочных стандартов. Для подтверждения точности и прецизионности калибровочной кривой были выбраны средний (5,0 нг/мл) и высокий (500 нг/мл) уровни.



Agilent Technologies

Условия ЖХ-МС

Колонка	Agilent Pursuit XR ^{ultra} C18, 50 мм x 2,0 мм
Подвижная фаза	A: 0,1% водный раствор муравьиной кислоты B: Метанол
Режим работы насоса	Расход 200 мкл/мин
	t_0 A: 60%, B: 40%
	$t_{0,5-2,0}$ A: 10%, B: 90%
	$t_{2,01-4,00}$ A: 60%, B: 40%
Время анализа	4:00 мин
Температура газа	350 °C
Расход газа	10 л/мин
Распыление	20 psi
Полярность	Положительная



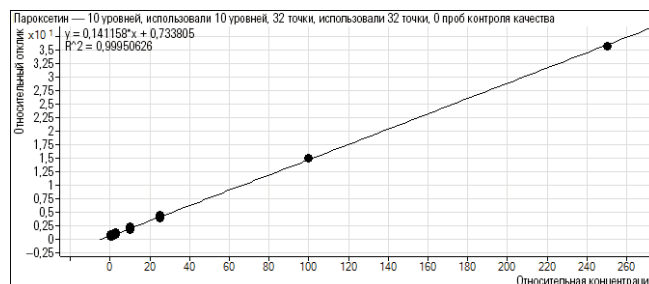
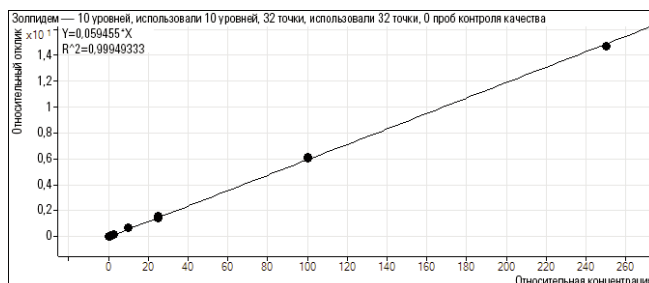
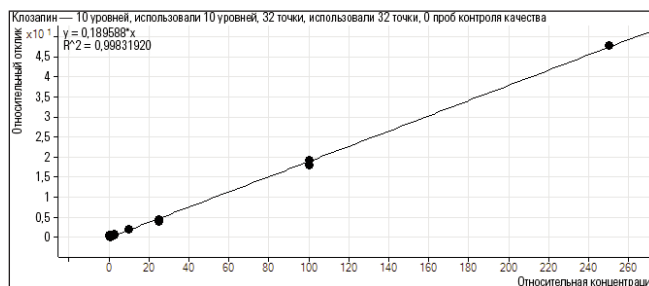
Соединение	Ион Q1	Дочерний ион	Энергия диссоциации
Золпидем	308,2	235,1	36 В
Золпидем-D6	314,2	235,0	36 В
Клозапин	327,1	270,1	20 В
Клозапин-D4	331,2	272,1	20 В
Пароксетин	330,2	192,1	20 В
Пароксетин-D6	336,2	198,1	20 В
Нортриптилин	264,2	105,1	16 В
Нортриптилин-D3	267,2	233,0	8 В

Результаты и обсуждение

В 1 мл человеческой крови ввели 10 мкл каждого рабочего стандарта для образования калибровочной кривой концентраций 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 20; 50; 200; 500 нг/мл. 15 мкл каждого из этих стандартов нанесли на карту Agilent Bond Elut DMS.

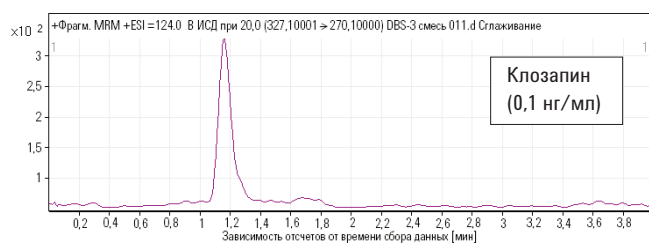
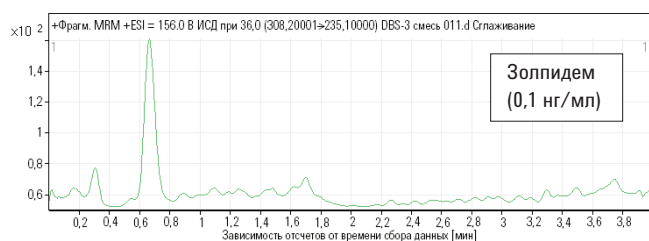
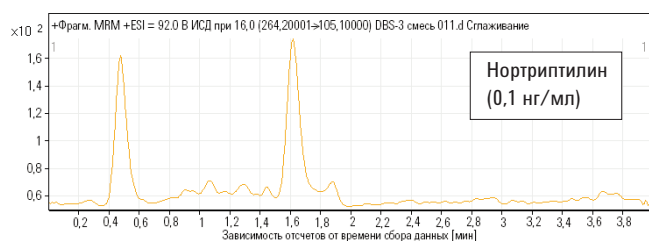
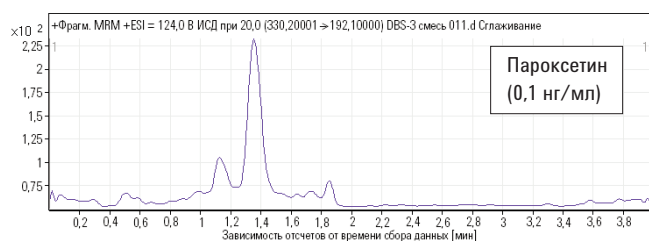
Затем пробиили диск диаметром 3 мм и поместили его в 96-луночный планшет для сбора образцов. В каждую лунку добавили 300 мкл 0,1% муравьиной кислоты в 80% метаноле (с 0,066 нг/мл смеси дейтерированных внутренних стандартов) и перемешали.

Затем их выпарили до сухого состояния и растворили в 100 мкл подвижной фазы.



Выход аналита (n=6)

	Концентрация	% выхода	ОСО
Золпидем	5,0 нг/мл	102%	6%
	500 нг/мл	110%	6%
Клозапин	5,0 нг/мл	98%	5%
	500 нг/мл	110%	4%
Пароксетин	5,0 нг/мл	102%	6%
	500 нг/мл	110%	6%
Нортриптилин	5,0 нг/мл	89%	7%
	500 нг/мл	92%	7%



Выводы

Четыре соединения в крови были успешно десорбированы и проанализированы методом ЖХ-МС/МС. С помощью ЖХ Agilent 1290 и масс-спектрометра 6460 были достигнуты хорошие уровни обнаружения. В результате использования регрессии 1-го порядка была продемонстрирована линейность, а корреляционные коэффициенты превысили 0,995. Относительный выход находился в пределах 10% от истинного значения, а ОСО (относительное стандартное отклонение) было меньше 10%. Карта Agilent Bond Elut DMS хорошо зарекомендовала себя в качестве эффективного средства хранения образцов крови и удаления любых нежелательных белков для упрощенной подготовки образцов к анализу методом ЖХ-МС/МС.

Дополнительные сведения

Карты Bond Elut DMS подходят исключительно для исследований Фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных препаратов (DMPK) и исследований на Всасывание, Распределение, Метаболизм, Выделение (ADME). Их нельзя использовать в диагностических процедурах.

В настоящем документе приведены типичные результаты. Подробнее о продуктах и услугах нашей компании см. на веб-сайте www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и технические характеристики в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2011.
Напечатано в США
29 июня 2011 г.
5990-8033RU



Agilent Technologies