

Надежность трехквадрупольного масс-спектрометра Agilent 6470 при анализе лекарственных средств в плазме крови.

Методическая информация

Авторы

Крейг П. Лав (Craig P. Love),
Бехруз Зекават (Behrooz Zekavat)
и Пэти Сан (Patty Sun)
Agilent Technologies, Inc.
Санта-Клара, Калифорния

Введение

При поиске новых лекарственных средств необходимо проводить анализ как в искусственных, так и в естественных условиях, что позволяет отсортировать потенциальные действующие вещества для дальнейшей разработки. Идентификация и количественное определение метаболитов в естественных условиях значительно усложняется присутствием матричных компонентов (плазмы, мочи и т. п.), что требует использования чувствительных и надежных аналитических методов высокопроизводительного скрининга потенциальных действующих веществ. Чаще всего для таких целей используются трехквадрупольные масс-спектрометры в режиме MRM (режим мониторинга множественных реакций). Однако аналитические характеристики этих систем могут со временем ухудшаться, т. к. нелетучие компоненты пробы накапливаются в источнике ионизации и зоне переноса ионов в масс-анализатор. В результате для поддержания оптимальной производительности может потребоваться частая очистка соответствующих элементов. Трехквадрупольные масс-спектрометры Agilent 6470 имеют несколько ключевых конструктивных инноваций, обеспечивающих чувствительность, точность и надежность количественного определения аналитов в пробах со сложной матрицей в широком линейном динамическом диапазоне. В приборах реализованы следующие конструктивные инновации:

- Оптимизация зоны переноса ионов и геометрии префильтра для улучшения переноса ионов и сведения к минимуму загрязнений
- Изогнутая коническая гексапольная ячейка соударений для обеспечения высокой эффективности фрагментации MS-MS и переноса ионов
- Детектор ионов с высокомоощным преобразовательным динодом и низким уровнем шума для эффективного обнаружения катионов и анионов в широком диапазоне отношения массы к заряду

В этом документе описаны преимущества использования трехквадрупольного масс-спектрометра Agilent 6470, объединенного с высокопроизводительной системой MS Agilent RapidFire 365, для быстрого и надежного анализа лекарственных средств в плазме.



Agilent Technologies

Оценка надежности трехквadrупольного масс- спектрометра Agilent 6470

Для оценки надежности аналитического определения трехквadrупольного масс-спектрометра 6470, объединенного с высокопроизводительной системой MC RapidFire 365, была использована смесь алпразолама и клозапина и соответствующих им внутренних стандартов (IS) (алпразолам-D5 и клозапин-D4) с концентрацией $5 \cdot 10^{-3}$ мг/л каждый, добавленная в очищенную от белков плазму свиной крови. Плазму свиной крови очищали с ацетонитрилом в объемном соотношении 1:3 с последующим центрифугированием в течение 5 минут при скорости 13500 об/мин. Затем надосадочную жидкость разбавили водой в соотношении 1:10 для смешивания с аналитами и их внутренними стандартами. Готовую пробу плазмы поместили на 96-луночный микропланшет, закрыли пленкой при помощи Agilent PlateLoc Thermal Microplate Sealer и проанализировали на MC RapidFire.

Параметры высокопроизводительной системы RapidFire 365 были оптимизированы под следующие условия:

Моющий растворитель 1 (буферный раствор А со скоростью потока 1,5 мл/мин) вода + 2 ммоль ацетата аммония + 0,1 % муравьиная кислота

Моющий растворитель 2 (буферный раствор В со скоростью потока 1,25 мл/мин) 20 % ацетонитрил (водный) + 10 ммоль ацетата аммония + 0,1 % муравьиная кислота

Элюент (буферный раствор С, 75 % раствор этилацетата в метаноле) со скоростью потока 1,25 мл/мин был использован для элюирования аналитов из патронов Agilent типа А (С4). Анализ низкомолекулярных лекарственных средств и дженериков в плазме проводился в течение пяти дней подряд, время анализа каждой пробы составило примерно 15 секунд (2 000 вводов в день). В таблицах 1 и 2 приведены параметры оптимизированного трехквadrупольного источника ионизации и системы MC 6470, используемые в данном исследовании.

Таблица 1. Параметры источника Agilent Jet Stream

Параметр	Значение
Температура газа-осушителя	325 °C
Расход газа-осушителя	7 л/мин
Давление в распылителе	50 psi
Температура распыляющего газа	300 °C
Расход распыляющего газа	12 л/мин
Напряжение на входе в капилляр	4 000 В
Напряжение выходного конуса	500 В

Таблица 2. Параметры режима MRM трехквadrупольного MC Agilent 6470

Соединение	Q1	Q3	КЭ
Алпразолам	309,1	281,1	20
Клозапин	327,1	270,1	24
Алпразолам-D5 (IS)	314,1	286,1	20
Клозапин-D4 (IS)	331,1	272,2	24

На рис. 1 представлены графики зависимости отношения площадей пиков алпразолама (А) и клозапина (В), полученные при вводе аналита массой 50 пикограмм каждый, от числа вводов RapidFire (общее число вводов 10 000).

Получение стабильного отношения площадей пиков при анализе более 10 000 вводов демонстрирует надежные аналитические характеристики трехквadrупольного MC 6470.

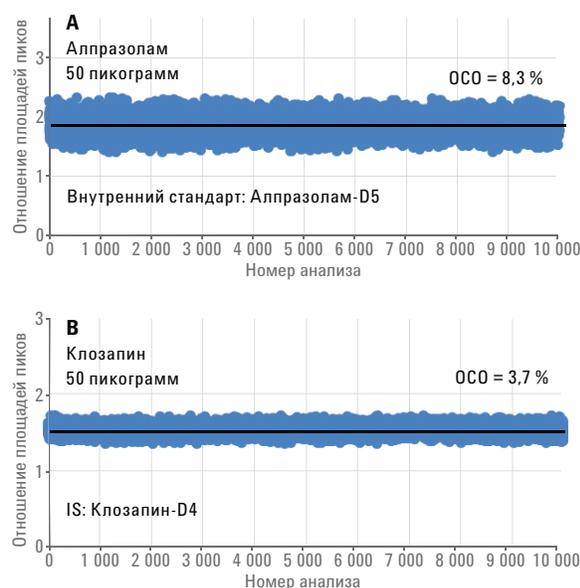


Рис. 1. Отношения площадей пиков алпразолама (А) и клозапина (В) при анализе 10 000 вводов

На рис. 2 представлены совмещенные MRM-хроматограммы первого и десяти тысячного ввода пробы для алпразолама (А) и клозапина (В). Из приведенных на рис. 2 хроматограмм видно, что форма и площадь пиков алпразолама и клозапина остаются неизменными после 10 000 вводов.

Выводы

Инновационная конструкция оптической системы переноса ионов трехквadrupольного масс-спектрометра Agilent 6470 сводит к минимуму негативное влияние остатков проб, что обеспечивает надежность аналитической системы для анализа целевых потенциальных действующих веществ в пробах осажденной плазмы крови при сверхвысокой пропускной способности.

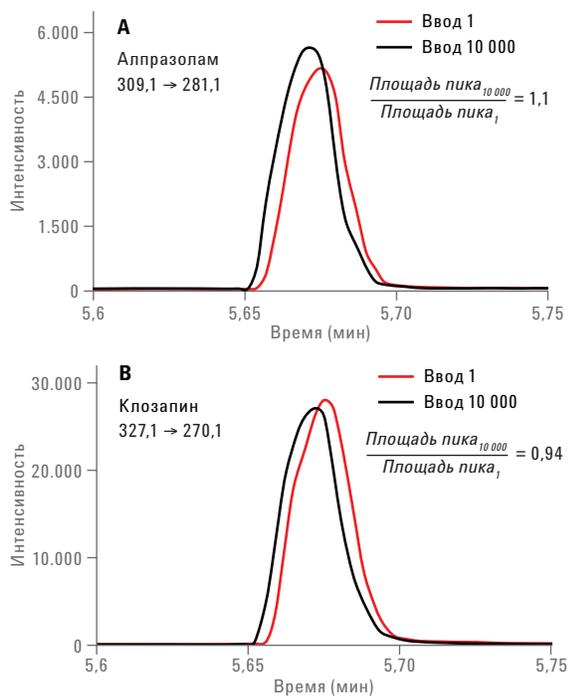


Рис. 2. Совмещенные хроматограммы MRM первого и десяти тысячного ввода пробы для алпразолама (А) и клозапина (В)

www.agilent.com/chem

Информация в этом документе может быть изменена без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
Напечатано в США 9 июня 2015 г.
5991-5953RU



Agilent Technologies