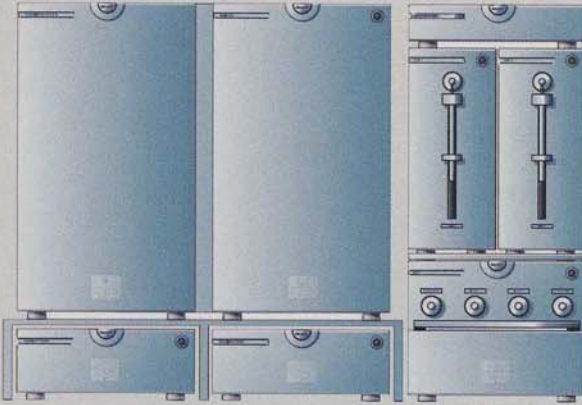


On-Line SPE 전처리 자동화 시스템을 이용한 혈액 중 약물 분석

On-Line SPE-LCMS/MS를 이용한 Plasma에 포함된 Apomorphine 분석



Apomorphine은 발기부전 또는 파킨슨병의 치료를 위해 필요한 약품으로 임상연구를 위하여 빠르고 고감도의 분석방법이 요구됩니다. Plasma 샘플은 일정한 간격으로 지원자로부터 추출하여 약물의 농도를 측정합니다. 이 결과를 이용하여 area under the curve(AUC), peak concentration(Cmax)와 time to peak concentration(tmax) 등의 중요한 약물동력학 값을 결정합니다. 시료의 분석을 위하여 Spark Holland사의 On-line SPE 시스템을 이용하였으며, LC-MS/MS는 Thermo Finnigan사의 LCQ Advantage MAX를 이용하여 측정하였습니다.

Sample Pre-treatment

Apomorphine은 메탄올을 이용하여 0.1 mg/ml 농도로 제조하며, deionized water를 이용하여 원하는 농도를 희석합니다. Calibration standard는 1~30ng/ml 농도 범위의 여러 시료를 준비하며 원하는 농도로 희석된 시료를 plasma에 첨가시킵니다. Acetylcodeine을 Internal standard(IS)로 이용하며, plasma 1ml에 100ul를 넣어 사용하였습니다.

LC conditions

Column	Phenomenex Synergi MAX-RP column (2.0 × 75mm, 4μm)
Mobile phase A	0.1% Formic Acid in Water
Mobile phase B	0.1% Formic Acid in ACN

Time (mm:ss)	Flow (mL/min.)	A (%)	B (%)
00:01	0.50	95	5
01:30	0.50	95	5
05:00	0.50	10	90
07:12	0.50	10	90
11:00	0.50	95	5

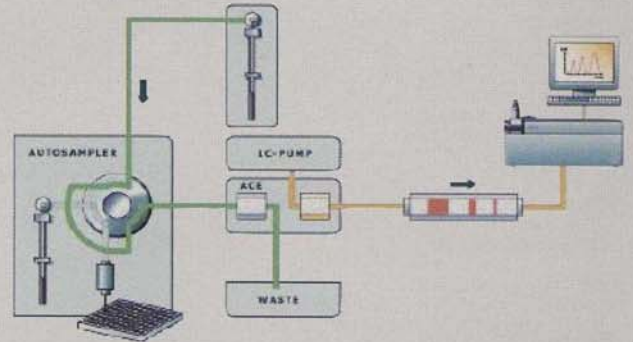
SPE conditions

Cartridge	10 × 2 mm HySphere C18-EC (Spark PN:0722.608)
Solvation	1mL MeOH 5mL/min
Equilibration	1mL Water 5mL/min
Sample Loading	1mL Water 2mL/min
Washing	1mL Water 2mL/min
Elution	11min. with LC Gradient
Matrix	Serum

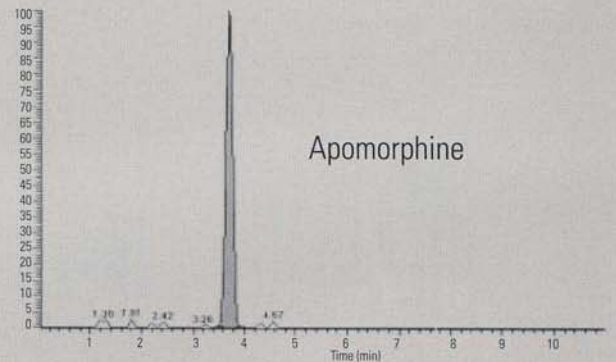
MS conditions

	Apomorphine	6-acetylcodeine
Precursor ion	268.3	342.1
Main product ions	218.7, 236.7, 237.7	225.0, 282.0, 342.0
Normalized collision energy	35	35

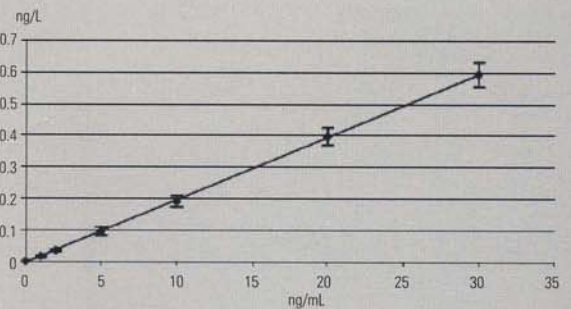
On-Line SPE flow diagram



Result



표준시료 1 ng/ml의 대표적인 크로마토그램을 확인하면, 3.7분에 apomorphine을 확인할 수 있습니다. 또한 0.5 ~ 30ng/ml의 농도범위에서 0.991의 우수한 Linearity를 보여주고 있습니다.



이외에도 Plasma, Serum 및 Urine에 함유된 다양한 종류의 약물들에 대한 분석데이터를 가지고 있습니다.

ex) Antidepressant drug, Antiepileptic drug, Cyclosporine, Serotonin, Almolant, Caffeine, Macrolide antibiotics 등