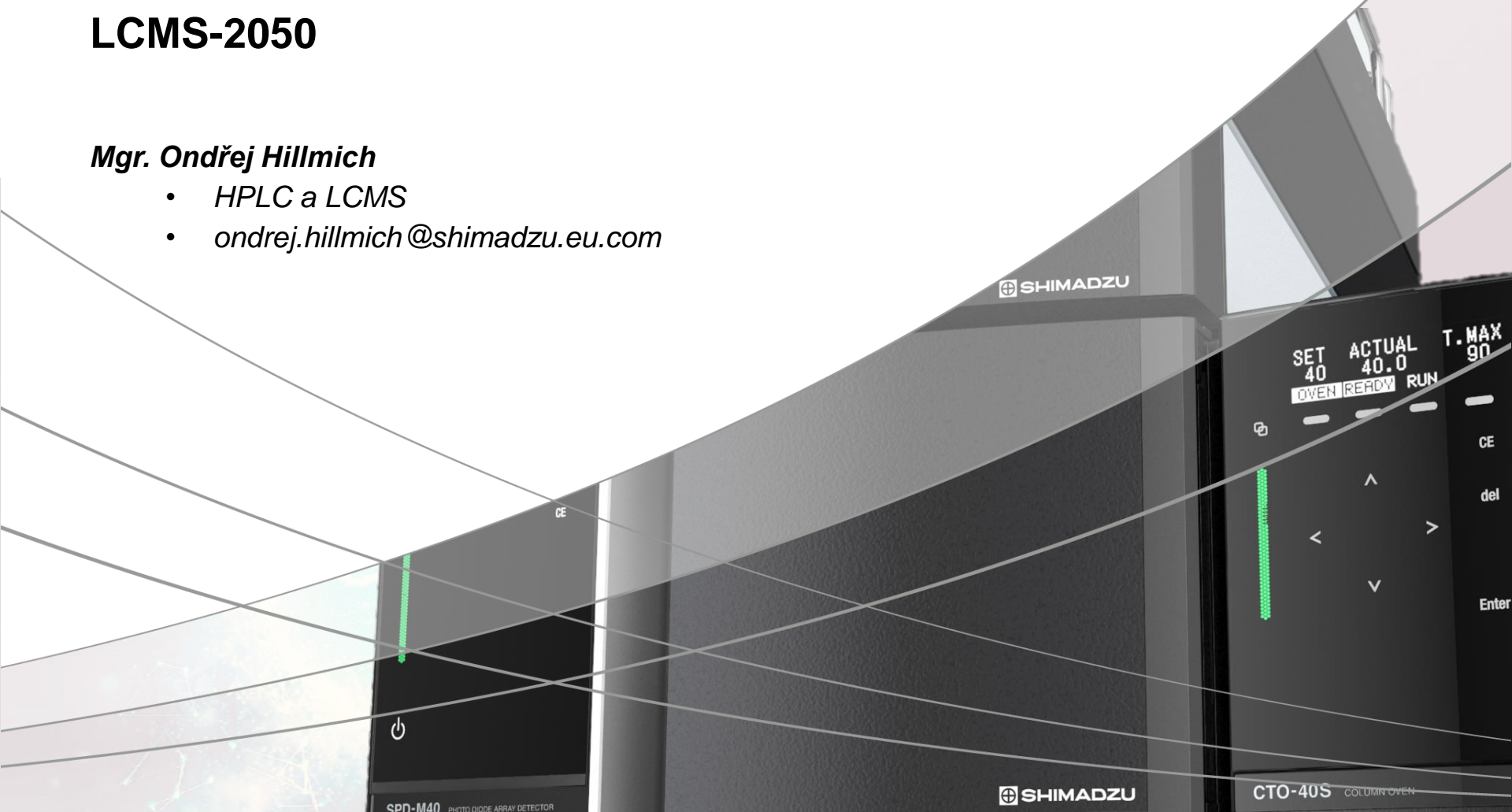


Včasné odhalení toxicity 5-fluorouracilu při léčbě rakoviny

Nový hmotnostní detektor typu jednoduchý kvadrupól LCMS-2050

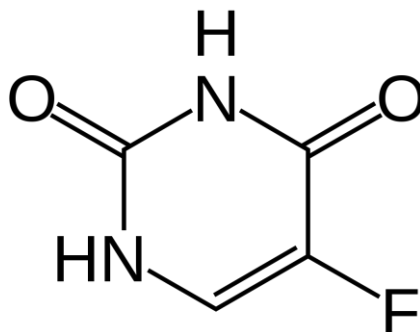
Mgr. Ondřej Hillmich

- HPLC a LCMS
- ondrej.hillmich@shimadzu.eu.com



5-fluorouracil

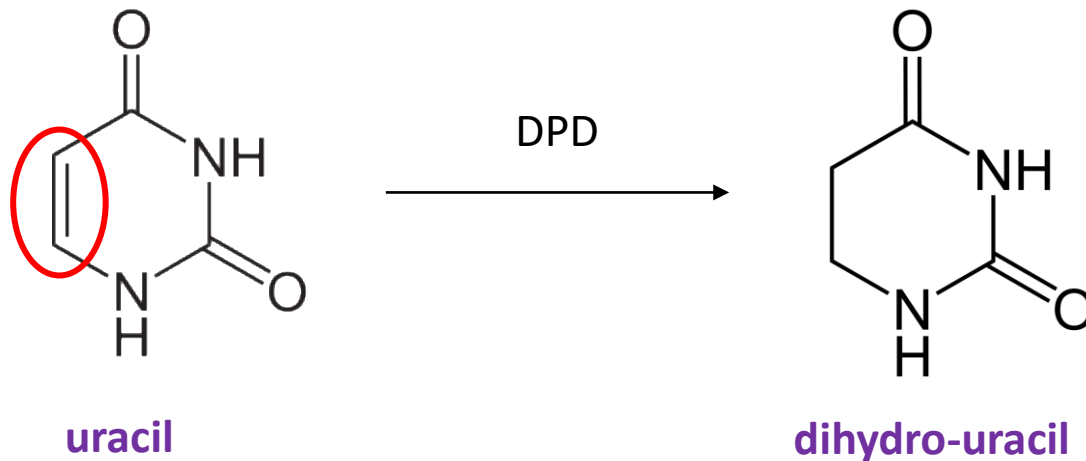
- **5-Fluorouracil (5-FU)** = hlavní lék používaný k léčbě mnoha rakovinových nádorů (nejčastěji rakovina trávicího traktu a prsu)
- Používán již od poloviny 20. století
- Česko: **10 000** pacientů ročně



5-FU

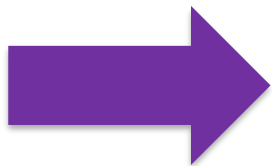
DihydroPyrimidin Dehydrogenáza (DPD)

- Endogenní enzym (všudypřítomný)
- Podílí se na katabolismu **uracilu (U)** na **dihydrouracil (UH₂)**
- 5-FU (Analog uracilu) je eliminován hlavně pomocí **DPD (80%)**



DihydroPyrimidin Dehydrogenáza

- 5-FU: **těžká toxicita**
- Incidence: **20-25 %**
- **Některé z nich jsou smrtelné**
 - Incidence: 0,1 až 1%
 - Potenciálně **10 až 100** pacientů ročně
- **Souvisí s nedostatkem enzymu DPD (částečným nebo úplným)**



**Přístup k nedostatku DPD před léčbou 5-FU
SNÍŽENÍ DÁVKY**

Nedostatek DPD? Pokyny EMA

EMA – doporučení testování pacientů před léčbou 5-FU (duben 2020)

Francie – povinné testování pacientů! (doporučení testování již od 2019)

Fenotypově :

- Koncentrace uracilu (plazma)
- Poměr UH2/U

And/Or

Genotypově :

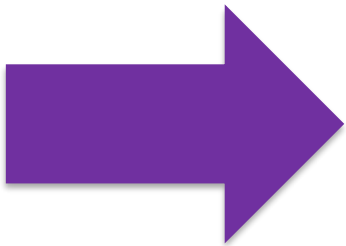
- Analýza mutací genu
- Rychlá/automatizovaná technika
- Nekompletní analýza

Pomocí LC-MS/MS

UH2/U	Prescription
Between 3 and 4	Standard dosage
Between 2 and 3	Warning. Dosage reduction not systematic
Between 1 and 2	Dosage reduced from 15 to 20%
0,5-1	Dosage reduced from 30%
<0,5	Use not recommended

Manuální příprava vzorku

- **Velká spotřeba času**
- **Drahá pracovní síla (přípravu provádí analytik)**
- **Není možné reagovat na potřebu rychlé analýzy**



Potřebná automatizace +++

Řešení SHIMADZU

- Metoda: CLAM-2030 + UHPLC Nexera X2 nebo XR – MS/MS 8060

Plná automatizace

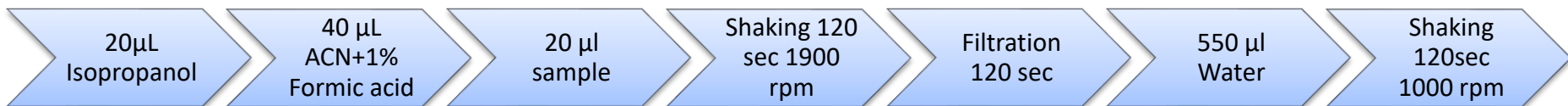
Rychlá příprava vzorku <10min

Rychlá analýza 15 min



Metoda

- Příprava vzorku



Metoda

- Kapalinová chromatografie
 - System : NEXERA X2 or XR binary
 - Kolona : Hypercarb, 3 μ m 150*2,1 mm
 - Teplota kolonového termostatu: 25°C
 - Mobilní fáze A: Voda + 0.5% kyselina octová
 - Mobilní fáze B: Acetonitril + 0.5% kyselina octová
 - Oplachové rozpouštědlo: Acetonitril
 - Rychlost průtoku: 250 μ L/min
 - Objem nástřiku vzorku: 50 μ L
 - Gradient:

Time (min)	Module	Command	Value (%)
0	Pumps	Pump B Conc.	5
3	Pumps	Pump B Conc.	5
5	Pumps	Pump B Conc.	25
7,5	Pumps	Pump B Conc.	25
7,6	Pumps	Pump B Conc.	100
8,5	Pumps	Pump B Conc.	100
8,6	Pumps	Pump B Conc.	5
12	Controller	Stop	

Metoda

- Hmotnostní spektrometrie

- System : LCMS-8060 (ESI)

- temperatures:

- Interface: 380°C

- Heat block: 500°C

- DL/300°C

- Gas flow :

- Nebulizing gas: 3L/min

- Heating gas: 14L/min

- Drying gas: 3L/min

- Pause time : 3 msec,

- Loop time : 0,819 sec

- CID gas: 170 kPa

- ESI Pipe position: 1 and High

- Interface voltage: 1kV

- Detector voltage: -2,5

- Přechody :

Compounds	Transition MRM (1)	Transition MRM (2)
Uracil	113.15>70.1	113.15>96.05
Uracil- ¹³ C ¹⁵ N ₂	116.2>71.1	116.2>98.0
Dihydrouracil	114.95>30.1	114.95>55.0
Dihydrouracil- ¹³ C ¹⁵ N ₂	118.3>55.05	118.3>76.15

Compound	Associated IS	Accuracy Repeatability	Intra-assay (n=6)			Inter-assay (n=6)		
			QC 1: U:13 UH ₂ :26	QC 2: U:16 UH ₂ :32	QC 3: U:150 UH ₂ :300	QC 1: U:13 UH ₂ :26	QC 2: U:16 UH ₂ :32	QC 3: U:150 UH ₂ :300
Dihydrouracil	Dihydrouracil ¹³ C ¹⁵ N ₂	Acc (%) RSD (%)	85.3 7.7	86.5 5.7	101.3 8.8	89.5 3	93.8 2.8	100.6 4.8
Uracil	Uracil ¹³ C ¹⁵ N ₂	Acc (%) RSD (%)	104.6 4.7	96.6 4.4	98.4 3.1	100.8 6.6	97.1 3.8	98.3 6

Závěr

Před 3 lety:

- V Limožské fakultní nemocnici (Francie) byla plně validována metoda CLAM-LCMS-8060.
- U 64 pacientů podezřelých na deficit DPD byl potvrzen jeho nedostatek.
- Metoda je plně automatizovaná, robustní a vysokocitlivostní

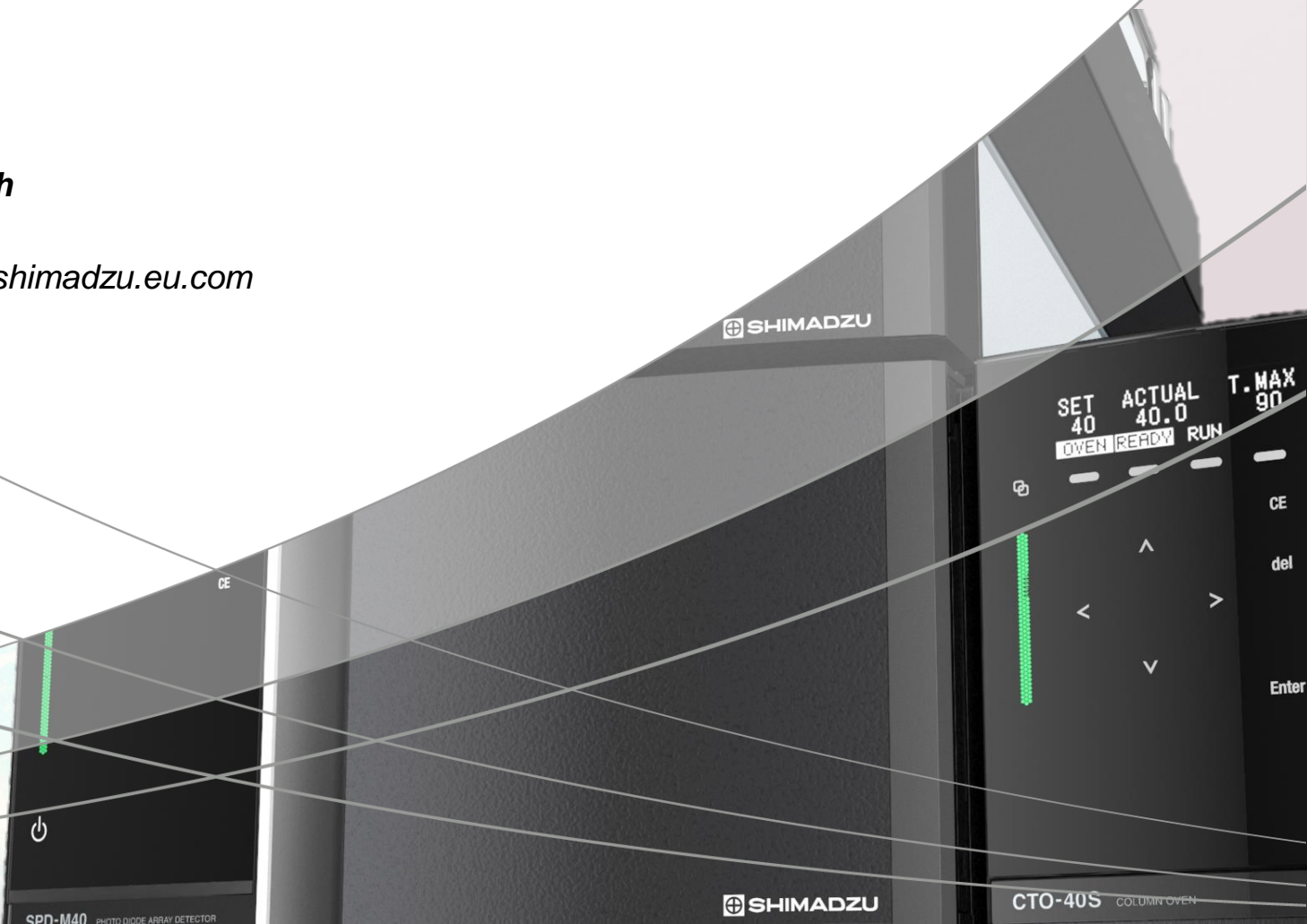
Nyní:

- V Evropě již instalováno několik systému CLAM-LCMS-8060
- Česko: začínající studie v Thomayerově Nemocnici (ruční příprava vzorku)

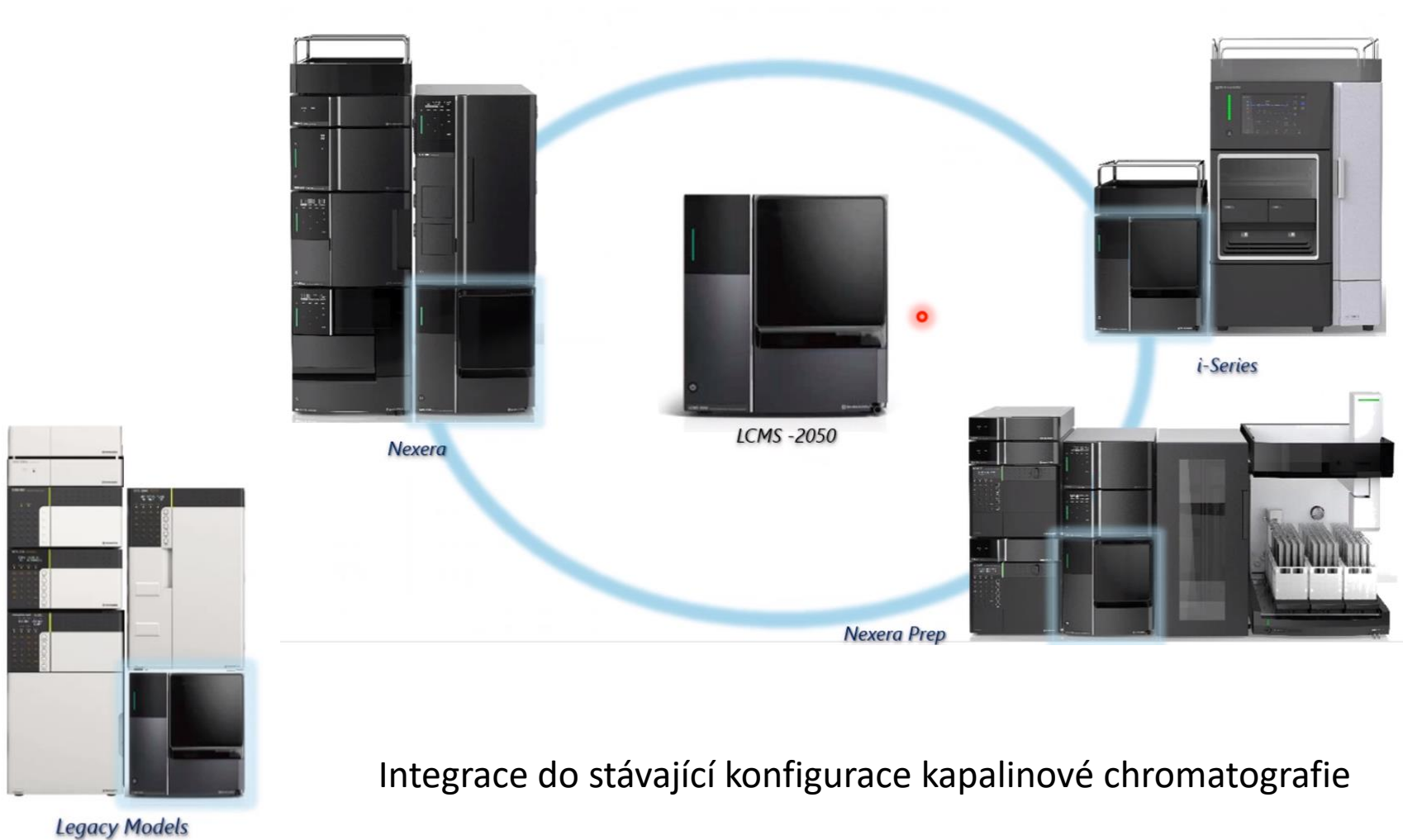
Nový hmotnostní detektor typu jednoduchý kvadrupól LCMS-2050

Mgr. Ondřej Hillmich

- HPLC a LCMS
- ondrej.hillmich@shimadzu.eu.com



Nový hmotnostní detektor SHIMADZU

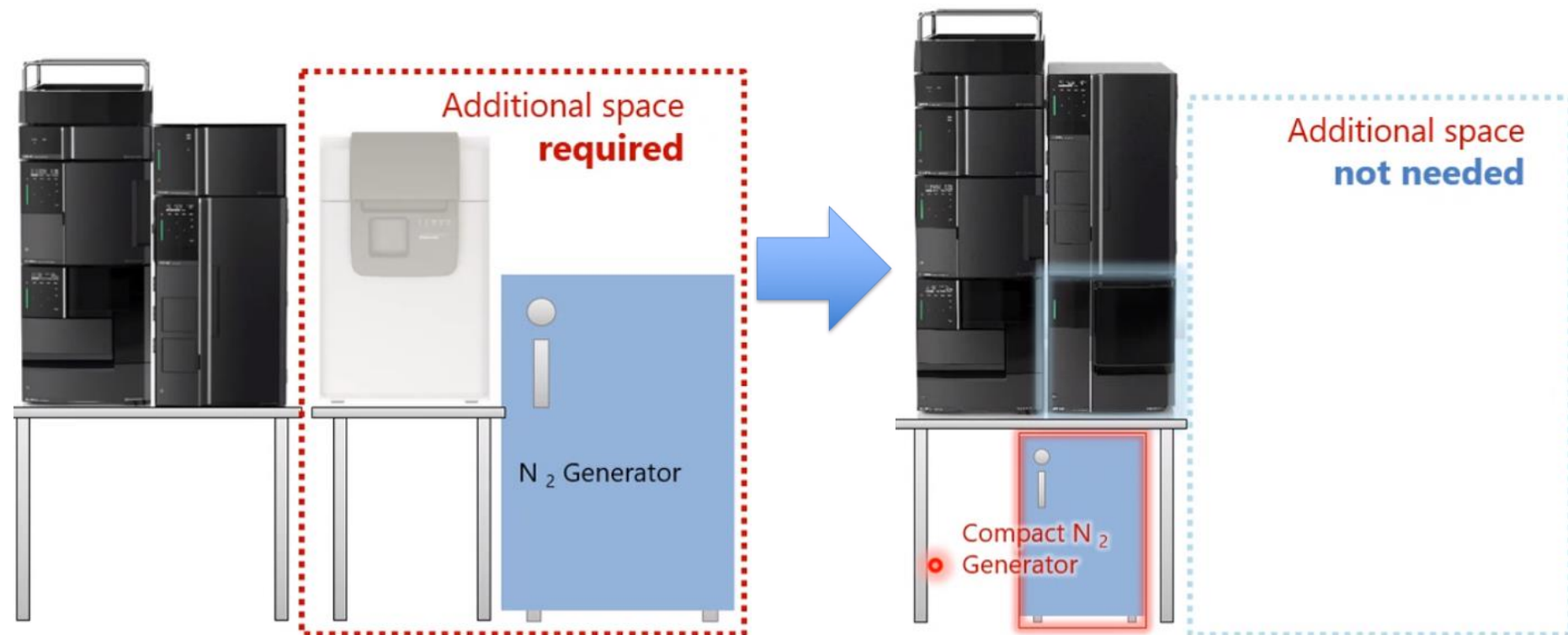


Integrace do stávající konfigurace kapalinové chromatografie

Ušetření prostoru v laboratoři

Size
WxDxH [mm]

SHIMADZU Excellence in Science	
LCMS -2020	New! LCMS -2050
× 350 x 726 x 553	○ 260 x 650 x 280 System Width 540/Height 770



Parametry detektoru

SHIMADZU Excellence in Science				
		LCMS -2020		New! LCMS -2050
sensitivity (S/N)	◎	350: 1 (RMS) Reserpine 1pg	○	100: 1 (RMS) Reserpine 1pg
		-		16,388: 1 (Measured)
mass range	◎	10-2,000	◎	2-2,000
ionization part	○	ESI/APCI/DUIS	◎	HESI/APCI (DUIS)
positive and negative ionization switching time	◎	15 msec	◎	10 msec
Scan Speed	◎	15,000 u/s	◎	15,000 u/s

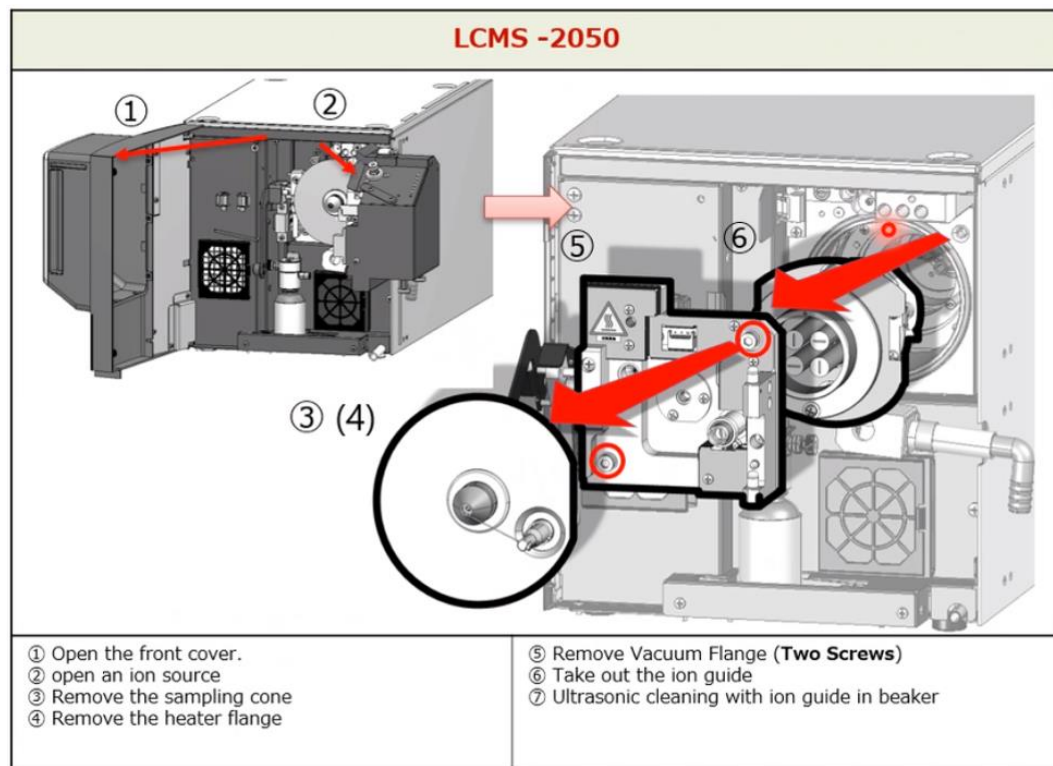
Technical Features of LCMS -2050



- High sensitivity
 - Ruggedness
 - Wide mass range
 - DUIS makes it compatible with a wide range of compounds without requiring ion source replacement
 - High Speed (Positive and negative ionization switching time, scan rate)
- Optimization by keeping ion intake part wide
 ◇ Eliminate trade-offs with miniaturization

Jednoduchá údržba

- Cílem je, aby údržbu MS detektoru mohl vykonávat i LC uživatel (bez zkušeností s MS detektory)
- Bez použití složitého nářadí
- Čištění iontové optiky pomocí několika kroků

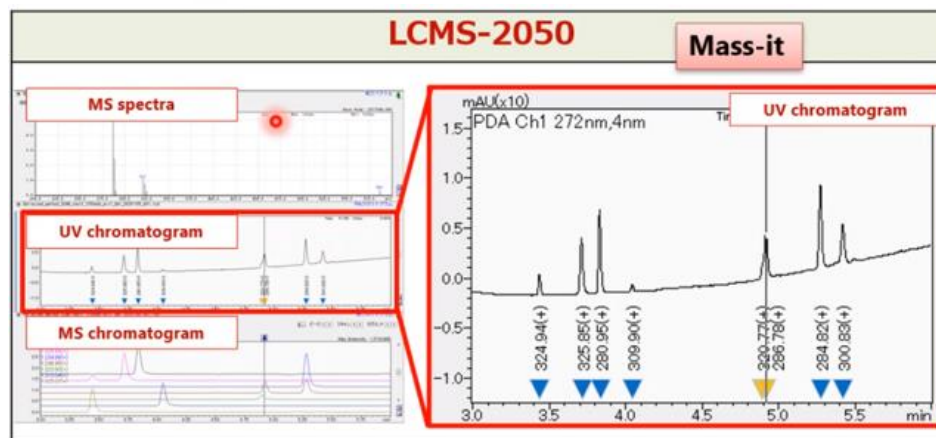
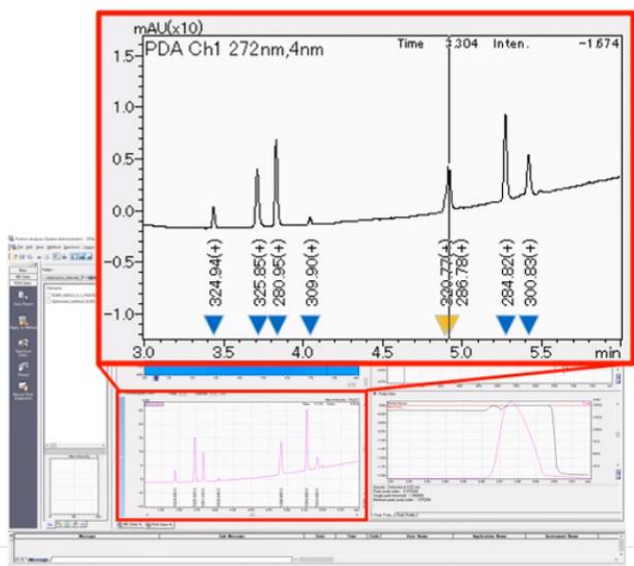


Analytická inteligence

MS lze ovládat pomocí LabSolutions (chromatografický software) – výhoda pro LC uživatele
2 hlavní funkce pro podporu pracovních postupů uživatele:

1. Funkce překrytí hmotnostního a UV chromatogramu (Mass-it™)

2. Automatická kontrola stavu zařízení a provedení autotuning na základě výsledků



Závěr

Cílový trh:

- **Pharma (medicinální chemie)**
 - kontrola nečistot
 - **Potravinářství**
 - **Životní prostředí**
- = připravené nové aplikace**

- **Oba detektory v portfoliu SHIMADZU**
- **Speciální zaváděcí ceny pro rok 2022**

LCMS -2050



LCMS -2020



Thank you!

Welcome to the Shimadzu family.

Get ready to experience New Benchmarks.

