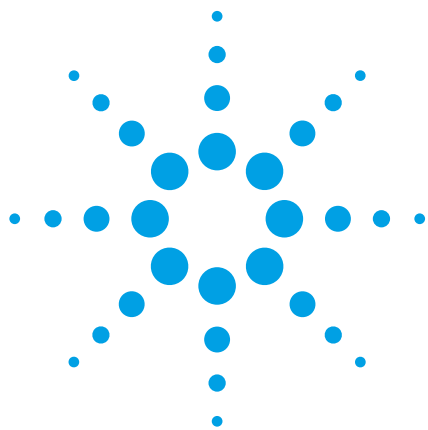




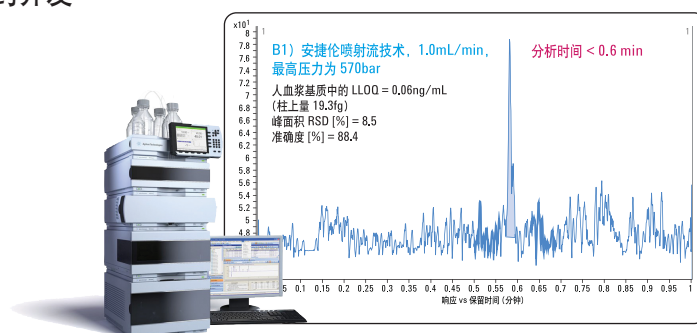
使用超高效液相色谱/三重串联四极杆质谱开发高通量生物分析方法

应用摘要

新药发现，新药开发

作者

Anabel S. Fandiño
安捷伦科技公司
美国加利福尼亚州圣克拉拉市，
史蒂文斯河大道 5301，
CA95051



摘要

生物分析领域的快速 LC/MS/MS 方法开发受多个因素影响，是一项艰巨的任务。为了在加快分析速度的同时保持高灵敏度，目标分析物不应该在受离子抑制影响的色谱保留范围内洗脱。质谱仪的扫描速度必须足够快，以获得足够多的数据点来明确表征由亚 $2\mu\text{m}$ 色谱柱分离得到的窄色谱峰。在典型的快速液相色谱条件下，产生的反压会接近甚至高于目前高效液相色谱系统（压力限 $\leq 400\text{bar}$ (5800psig)）的反压限值。在本应用摘要中，我们采用 Agilent 1290 Infinity LC 系统与 Agilent 6460 三重串联四级杆质谱仪联用，采用热梯度聚焦 ESI（安捷伦喷射流技术，AJS）和添加了阿普唑仑的人血浆基质（ 2nM 至 5000nM ，相当于 0.06ng/mL 至 1544ng/mL ）简化高通量生物分析方法的开发。 $100\mu\text{L}$ 的加标血浆样品采用三倍体积乙腈沉淀并离心。 $200\mu\text{L}$ 上清液用三倍体积 0.1% 甲酸（FA）水溶液稀释。每个样本重复进样三次。采用通用离子源数据对 AJS 技术和传统直角 ESI 技术进行了比较。

Agilent 1290 Infinity LC 三重串联四极杆 MS/MS 系统，最高流速可达 2mL/min ，最高压力可达 1200bar ，驻留时间低至 $1\text{-}2\text{ms}$ ，相应地，分析时间不超过 0.5min ，并且不会牺牲定量数据的质量。安捷伦的超高压快速高分离度色谱柱（RRHD）的柱效更高，可得到更窄的色谱峰，被分析物的色谱峰峰高显著增加，与基质组分完全分离，可提高被分析物的响应（灵敏度）。



Agilent Technologies

仪器条件

Agilent 1290 Infinity LC MS/MS 系统:

Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统, 包括带集成脱气机的二元泵, 带温控系统的自动进样器和柱温箱。Agilent 6460A 三重串联四极杆 LC/MS 带 AJS 技术离子源或传统的直角 ESI 源。

条件	
色谱柱:	RRHD ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm
流动相:	A = 0.1% FA 水溶液, B = 0.1% FA 乙腈溶液
进样量:	5 μL
方法 1	
柱温:	50°C
流速:	1.0 mL/min
梯度:	0min 25% B, 0.8min 90% B, 0.81min 25% B, 停止时间 1.5min
方法 2	
柱温:	50°C
流速:	1.2 mL/min
梯度:	0min 25% B, 0.67min 90% B, 0.68min 25% B, 停止时间 1.37min
质谱扫描类型:	MRM
极性:	正离子模式
参数	
干燥气体温度:	350°C (ESI 和 ESI+AJS)
干燥气流速:	10L/min (ESI+AJS), 13L/min (ESI)
鞘气温度:	400°C (ESI+AJS)
鞘气流速:	12L/min (ESI+AJS)
喷雾器压力:	35psig (ESI+AJS), 60psig (ESI)
喷嘴电压:	0V (ESI+AJS)
毛细管电压:	3500V (ESI 和 ESI+AJS)
MRM 离子对:	309.2→281.1
碎裂电压:	145V, 碰撞电压: 24V
驻留时间:	50ms

色谱图

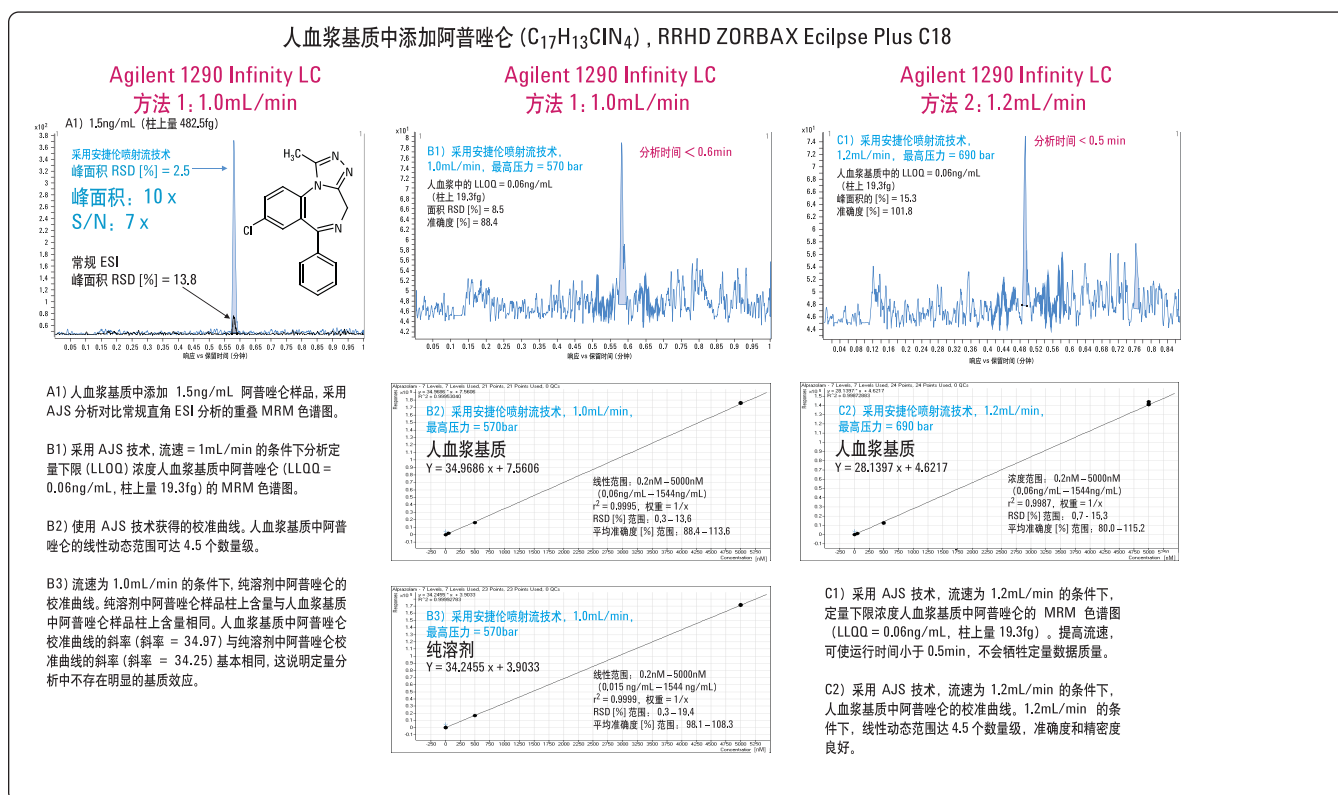


图 1.

A1) 采用 AJS 技术与传统 ESI 直角喷雾技术比较的重叠 MRM 色谱图。B1) 和 C1) 使用 AJS 技术, 流速分别为 1.0 和 1.2mL/min 的条件下, 分析定量下限 (0.06ng/mL, 柱上量 19.3fg) 样品的 MRM 色谱图。B2) 和 C2): 采用 AJS 技术, 流速分别为 1.0mL/min 和 1.2mL/min 的条件下分别得到的校准曲线。B3) 使用 AJS 技术, 流速为 1.0mL/min 的条件下, 阿普唑仑在纯溶剂和人血浆基质中的校准曲线斜率基本相同, 这说明不存在明显的基质效应。

www.agilent.com/chem/cn

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2009
 2009 年 12 月 1 日, 中国印刷
 5990-4933CHCN



Agilent Technologies