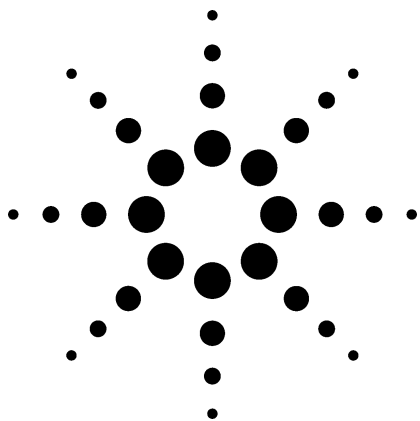




液相 / 离子阱质谱联用仪用于人血清中 速眠安 Midazolam 的快速定量

液相 / 离子阱质谱
应用简报 5988-3651CHCN

前言

生物基质中的药物标靶分析在药物开发过程中起着极其重要的作用。要求分析方法必须能进行大量样品的分析,甚至对于复杂基质的样品也具有较高的灵敏度。等梯度液相 / 多极质谱技术可以满足上述的要求。以前,使用的主要是串联四极杆质谱,现在离子阱质谱仪也能够胜任,而且还具有比串联四极杆质谱优越的特点。

本文叙述了利用液相 / 离子阱质谱联用仪(LC/MS/MS)对生物基质中的药物化合物进行快速,灵敏的定量分析。

实验条件

所有的实验都是在安捷伦 1100 液相 / 离子阱质谱上进行的,其中液相包括二元泵,自动进样器,柱温箱和真空在线脱气机。离子阱质谱采用的是正离子模式的大气压化学电离源(APCI)。

速眠安是中枢神经系统镇静剂,是用于手术前的镇静及麻醉剂。作为被广泛使用的苯二氮类化合物的一种,以速眠安为例,利用液相 / 离子阱质谱联用仪对人血清中速眠安的进行快速测定。

样品制备只采用简单的去除蛋白质过程。40 微升用人体血清 100 微升乙腈稀释,同时添加内标(浓度为



Agilent Technologies

1000 ng/ml), 混合之后, 溶液经过离心, 上清液直接进入 1100 液相 / 离子阱质谱仪进行分析。采用等梯度液相, 总分析时间为 2 分钟, 速眠安和去氧安定的保留时间为 1.1 分钟。离子阱质谱仪采用全扫描和手动质谱 / 质谱模式以获得最大的选择性和灵敏度, 下列的转换用于速眠安和去氧安定的定量:

速眠安:

m/z 326 的 MS/MS $\rightarrow m/z$ 291

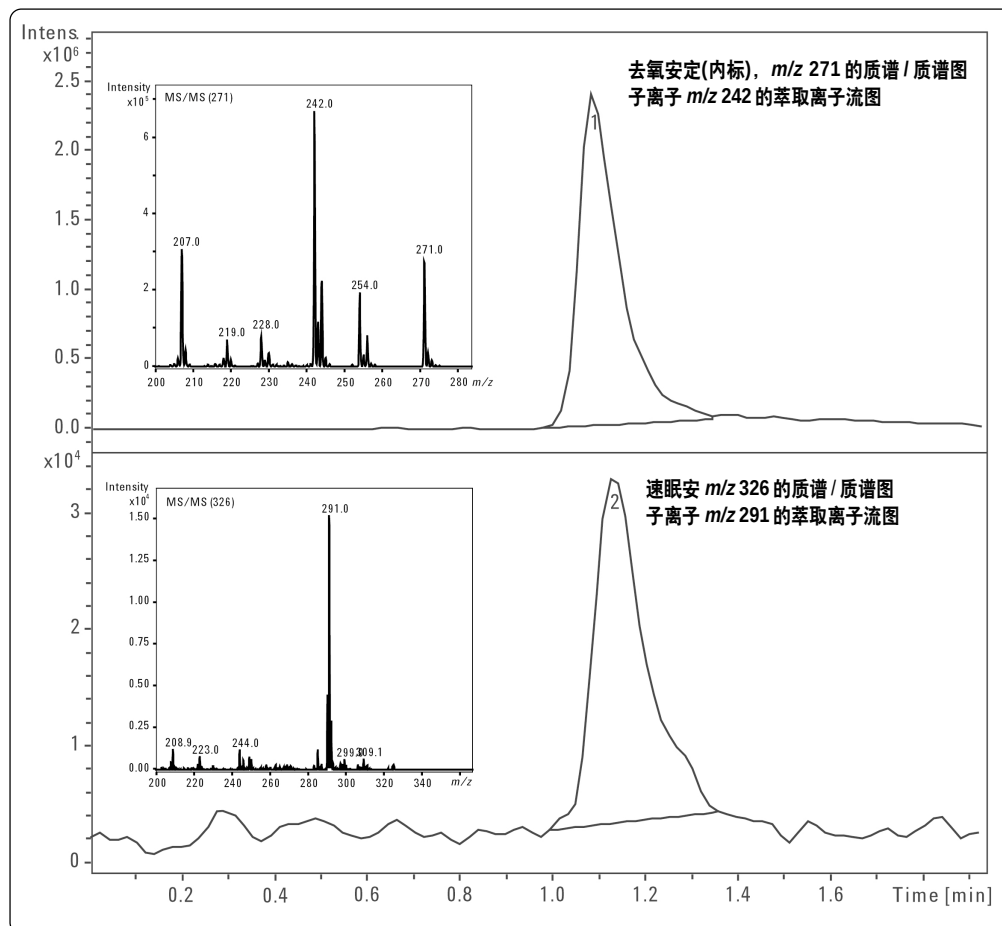
去氧安定:

m/z 271 的 MS/MS $\rightarrow m/z$ 242

结果与讨论

在上述条件下, 血清中的速眠安检测限为 32 ng/ml (相当于 91.4 pg 的柱上进样量), 信噪比是 20:1, 见图 1。若只是定量分析, 选择速眠安的子离子质谱中的基峰为定量离子, 这个峰是母离子去除一个氯的自由基阳离子。在内标物的质谱 / 质谱图中产生的碎片峰较多, 利用其产生的多个碎片离子的加和, 可以提高两倍的灵敏度。

图1. 在检测限水平上的速眠安和内标物的萃取离子流图。(小图为)速眠安和内标物的全扫描质谱 / 质谱图。



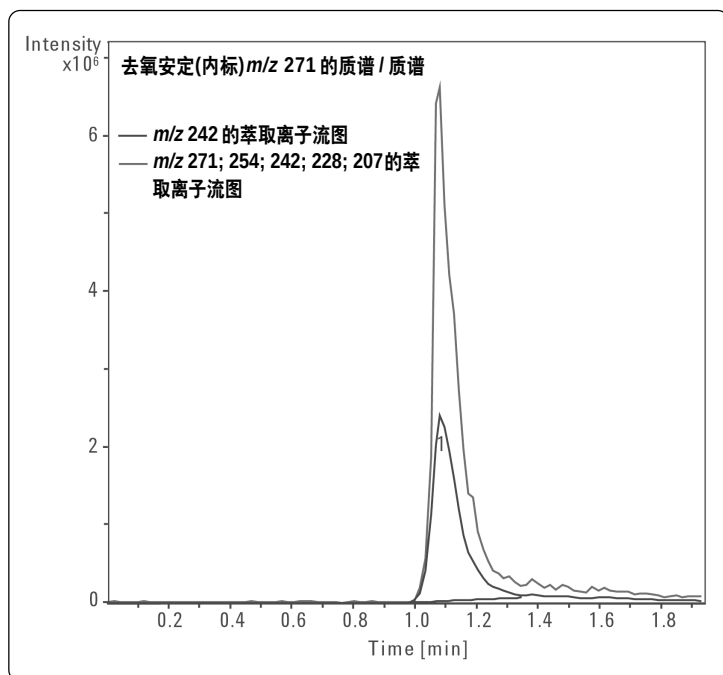


图 2. 在工作浓度下的内标物的各个萃取离子的叠加图；
 m/z 242 的离子流图与子离子(m/z 271, 254, 242, 228, 207)
加和离子流图的比较。

如图 3 所示，在 32 ng/ml 到 10500 ng/ml(权重线性回归)的范围内，线性相关性很好，为 0.9999。质量控制样品的相对标准偏差(RSD)为 2.5% 至 8.3%，其相对误差为 7.9%。结果表明，液相 / 离子阱质谱仪即使在复杂基质和快速色谱分析条件下 also 具有很高的定量动态范围及精确度。

分析方法

液相 / 质谱 / 质谱

色谱柱:	ZORBAX Eclipse XDB-C8, 50 x 2.1 mm, 3.5 μ m
流速:	500 μ l/min
进样体积:	10 μ l
流动相:	A = 0.1% 醋酸溶液 B = 甲醇
梯度:	等梯度(55% B)

质谱条件

离子化模式:	正离子化, 大气压化学电离源
干燥气:	4.0 l/min
雾化气温度:	400°C
干燥气温度:	200°C
电晕电流(corona):	3500 nA
锥型体 1:	32.1 V
毛细管出口补偿:	72.1 V
平均(average):	2
ICC:	on
最大积聚时间:	120 ms
目标(target):	40000

手动质谱 / 质谱

离子 1:	分离离子: m/z 326.1
分离离子峰宽:	m/z 6.0
碰撞断裂振幅:	1.84V
碰撞断裂断开(cutoff):	m/z 140
离子 2:	分离离子: m/z 271.1
分离离子峰宽:	m/z 6.0
碰撞断裂振幅:	1.80 V
碰撞断裂断开(cutoff):	m/z 140

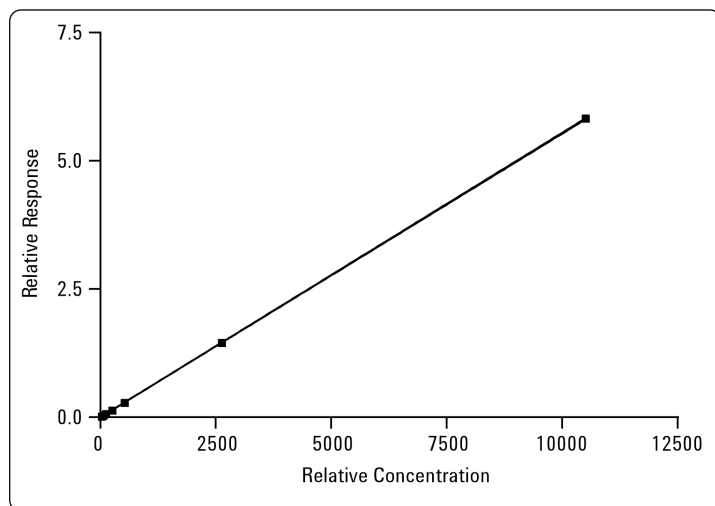


图 3. 速眠安的浓度范围从 32 ng/ml 到 10500 ng/ml (权重线性回归)的校正曲线，相关系数是 0.9999。

表 1. 速眠安的质量控制分析结果

质量 控制样品	速眠安(ng/ml)的测定浓度				添加浓度 (ng/ml)	平均浓度 (ng/ml)	标准偏差 (ng/ml)	相对标准偏差 (%)	相对误差 (%)
	1st	2nd	3rd	4th					
7	33.2	34.0	28.9	33.7	32.8	32.4	2.4	7.4	- 1.2
6	66.0	63.0	62.6	65.0	65.6	64.1	1.6	2.5	- 2.3
5	119.2	109.2	111.5	121.0	121.3	115.2	5.8	5.0	- 5.0
4	256.0	261.5	243.3	249.6	262.5	252.6	7.9	3.1	- 3.8
3	446.6	477.8	524.3	486.4	525.0	483.8	32.0	6.6	- 7.9
2	2395.9	2439.2	2853.8	2678.7	2625.0	2591.9	214.4	8.3	- 1.3
1	11269.7	9905.1	9875.0	10008.5	10500.0	10264.6	672.5	6.6	- 2.2

结论

利用液相 / 离子阱质谱仪进行复杂生物基质中速眠安的定量分析。此方法具有精度，准确度高及快速等特点。样品制备简单。在结果的分析通量，准确度和线性相关性方面，与传统的串联四极杆质谱相当。而且，与串联四极杆质谱相比，液相 / 离子阱质谱可以进行全

扫描的质谱 / 质谱分析，而不损失灵敏度。这些质谱 / 质谱图可以用于化合物确认和选择定量离子，从而大大缩短了方法开发时间。分析结果的线性范围和灵敏度都满足分析要求。

作者

Christian Sauber and **Friedrich Mandel** are applications chemists at Agilent Technologies in Waldbronn, Germany.

www.agilent.com/chem

安捷伦科技公司对本材料可能存在的错误或与装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本资料中的信息，如有改变，恕不另行通知。

安捷伦科技公司版权所有[®]，2001

2001 年 11 月 6 日中国印刷

出版号：5988-3651CHCN



Agilent Technologies