

## 使用 Ultivo 三重四极杆液质联用系统 对血清中的药物进行分析测定



图 1. 集成到液相色谱堆栈的 Ultivo

### 作者

Jarod N. Grossman 和  
Yanan Yang  
安捷伦科技有限公司  
Santa Clara, CA

### 摘要

本应用简报展示了一种灵敏且精确的方法，该方法使用 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统分析血清中的 8 种药物。Ultivo 专为节省实验室空间，同时保持高通量分析所需的性能而设计。小分子药物发现是一个重要领域，需要稳定可靠的检测解决方案来满足该领域的需求。Ultivo LC/TQ 可满足上述需求，并且是市面上体积最小的三重四极杆质谱仪，定量限优于竞争对手同类仪器的三倍以上。使用 Ultivo 系统获得了出色的方法精度，最低定量限下的相对标准偏差 (RSD%) < 10%。Ultivo 三重四极杆系统几乎无需样品前处理，便可实现高灵敏度的精确药物检测。

## 前言

小分子药物靶标的直接定量分析是药物发现、监管仿制药申请和药物开发的重要步骤。上述分析通常在血清中进行，增加了检测这些靶标的复杂性。实验室空间通常是仪器相关决策中的关键因素，当它成为限制因素时可能会耽误业务进展。

本应用简报中的八种药物代表了各类常用的小分子，是药物发现、药物检测和药物定量研究的良好探针。

本应用简报展示了使用新型 Ultivo 三重四极杆 LC/MS 对血清中的八种药物化合物进行灵敏而精确的定量分析。

## 实验部分

### 试剂与化学品

本应用简报中使用的所有试剂均为 HPLC 或 LC/MS 级。乙腈购自 Honeywell (Morristown, NJ, USA)，超纯水产自配有 LC-Pak Polisher 和 0.22  $\mu\text{m}$  膜式终端过滤器滤芯的 Milli-Q Integral 水纯化系统 (EMD Millipore, Billerica, MA, USA)。甲酸和乙酸胺购自 Fluka (Sigma-Aldrich 公司, St. Louis, MO, USA)。化学标准品购自 Cerilliant。

### 样品前处理

所有药物均购自 Cerilliant。血清样品前处理：在 250  $\mu\text{L}$  人血清 (购自 Golden West Biologicals) 中加入 500  $\mu\text{L}$  乙腈进行解离，涡旋混合 1 分钟，然后在

10000 rpm 下离心 4 分钟。然后，转移出 500  $\mu\text{L}$  上清液并用 500  $\mu\text{L}$  水稀释。所有药物均采用 11 点校准，校准范围为 0.001–100 ng/mL。将内标储备液直接加入每种基质标样和校准品中，使进样分析的所有类型样品均获得 25 ng/mL 的一致浓度。

### 仪器

- Agilent 1290 Infinity II UHPLC
  - 1290 Infinity 高速泵 (G7120A)
  - 1290 Infinity II Multisampler, 配备冷却装置 (G7167B)
  - 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统
  - 安捷伦喷射流 (AJS) 电喷雾离子源 (ESI)

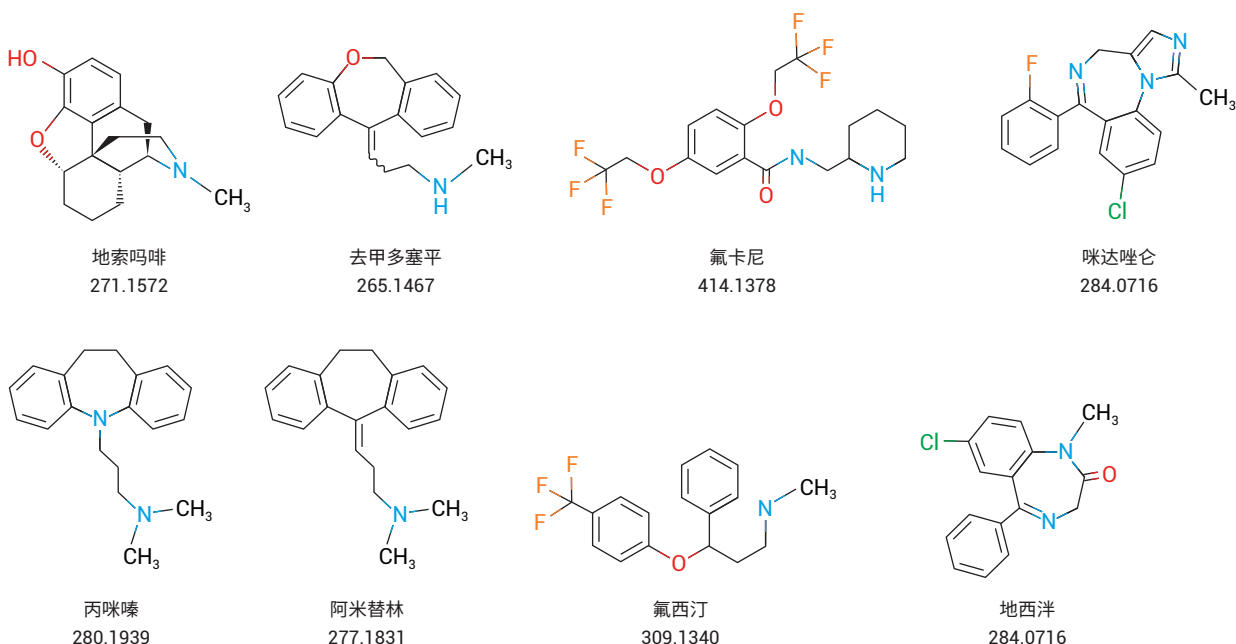


图 2. 本研究所有药物的结构和单一同位素质量数 (g/mol)

## 方法

表 1 汇总了 1290 Infinity II UHPLC 条件。

表 2 汇总了 Ultivo 三重四极杆参数和安捷伦喷射流 ESI 离子源参数。采用正离子模式和动态多反应监测 (dMRM) 进行分析。采用具有 Quant-My-Way 功能的 Agilent MassHunter 定量分析软件 B.09 对数据进行评估。

表 1. 1290 Infinity II UHPLC 参数

参数	值																
色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C8 柱, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 959758-906)																
柱温	40 °C																
进样量	2 μL																
流动相	A) 水 + 0.1% 甲酸 B) 乙腈 + 0.1% 甲酸																
流速	0.6 mL/min																
梯度	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>0.5</td><td>35</td></tr> <tr><td>2</td><td>40</td></tr> <tr><td>3</td><td>50</td></tr> <tr><td>3.5</td><td>75</td></tr> <tr><td>3.51</td><td>95</td></tr> <tr><td>4</td><td>95</td></tr> </tbody> </table> 后运行时间: 1.0 分钟 方法分析周期: 5 分钟	时间	%B	0	5	0.5	35	2	40	3	50	3.5	75	3.51	95	4	95
时间	%B																
0	5																
0.5	35																
2	40																
3	50																
3.5	75																
3.51	95																
4	95																

表 2. Ultivo 三重四极杆和 AJS 离子源参数

参数	值
干燥气温度	200 °C
干燥气流速	11 L/min
鞘气温度	400 °C
鞘气流速	12 L/min
雾化器压力	35 psi
毛细管电压	2750 V(+)
喷嘴电压	0 V(+)
循环时间	350 ms

表 3. dMRM 模式下药物检测的离子对

化合物	ISTD	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	保留时间 (min)	保留时间窗口 (min)	碎裂电压 (V)	CAV (V)	碰撞能量 (V)	极性
氟卡尼	否	415.2	398.1	1.43	1	163	9	16	+
氟卡尼	否	415.2	301	1.43	1	163	9	28	+
咪达唑仑	否	326.1	291.2	1.31	1	168	9	20	+
咪达唑仑	否	326.1	249.1	1.31	1	168	9	36	+
氟西汀	否	310.1	148.1	1.94	1	89	9	0	+
氟西汀	否	310.1	44.2	1.94	1	89	9	0	+
地西洋	否	285.1	193.1	3.14	1	151	9	28	+
地西洋	否	285.1	154	3.14	1	151	9	20	+
阿米替林 D3	是	281.2	105	1.74	1	124	9	16	+
阿米替林 D3	是	281.2	91	1.74	1	124	9	24	+
丙咪嗪	否	281.2	86	1.64	1	109	9	8	+
丙咪嗪	否	281.2	58.1	1.64	1	109	9	36	+
阿米替林	否	278.2	105	1.74	1	124	9	16	+
阿米替林	否	278.2	91	1.74	1	124	9	24	+
地索吗啡 D3	是	275.2	167.1	0.94	1	153	9	36	+
地索吗啡 D3	是	275.2	152.1	0.94	1	153	9	56	+
地索吗啡	否	272.2	167.1	0.94	1	163	9	32	+
地索吗啡	否	272.2	152.1	0.94	1	163	9	56	+
去甲多塞平	否	266.2	235.1	1.37	1	114	9	4	+
去甲多塞平	否	266.2	107.1	1.37	1	114	9	12	+

## 结果与讨论

Quant-My-Way 是一套帮助用户仅展示感兴趣功能的工具，可为每个特定分析量身创建简化版的 MassHunter 定量分析软件。用户可根据所需操作自定义新功能，同时尽可能隐藏与分析无关的功能。在图 3 中，使用了预先配置的用户界面处理药物定量分析，可观察到每种化合物在 5 ppt 处的峰。所示高丰度离子从原始 MassHunter 定量分析界面中进行了简化。

## 检测限

在 4 分钟窗口内，所有 8 种药物的每个峰均实现了基线分离（表 4）。使用小型化 Ultivo 三重四极杆 LC/MS 获得的血清中每种药物的定量限 (LOQ) 均低于 5 ppt，可与大型高端系统的检测限相媲美。

表 4. 本研究中药物的 LOQ

化合物	LOQ	
	Ultivo (柱上量, fg)	Ultivo (pg/mL)
地索吗啡	17.3	1.73
去甲多塞平	27.8	2.78
氟卡尼	11.7	1.17
咪达唑仑	40.0	4.0
丙咪嗪	6.57	0.66
阿米替林	14.2	1.42
氟西汀	15.6	1.56
地西洋	18.4	1.84

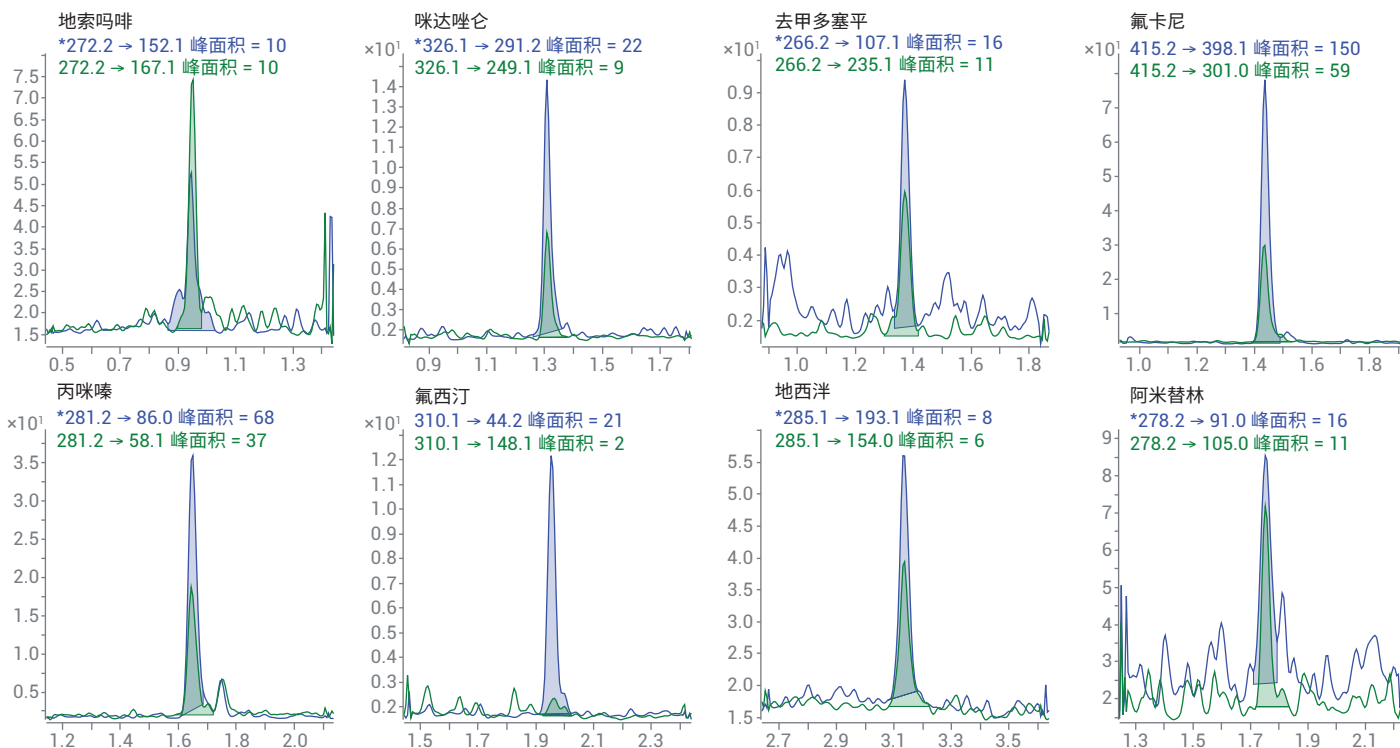


图 3. 血清中所有八种药物在 5 ppt 下均表现出优异的灵敏度

表 5. 血清中所研究的每种药物的准确度和 RSD (%)

浓度 ng/mL	地索吗啡		咪达唑仑		去甲多塞平		氟卡尼		丙咪嗪		阿米替林		氟西汀		地西洋	
	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD	准确度	%RSD
0.005	101.0	9.31	102.9	44.66	87.6	14.97	85.6	6.33	83.0	3.55	78.3	7.65	100.1	8.39	129.1	9.91
0.01	105.1	6.96	156.1	10.78	103.9	8.44	96.1	11.29	99.0	5.90	97.6	4.53	110.4	8.46	147.3	6.19
0.05	94.4	3.66	91.6	2.69	99.5	6.12	88.0	4.17	96.7	2.52	101.9	3.03	101.1	2.21	101.5	4.59
0.1	96.7	3.26	93.1	3.55	99.9	3.70	93.4	3.63	98.5	1.11	98.1	4.41	99.2	2.43	103.3	2.92
0.5	97.1	1.90	99.0	1.49	102.7	2.06	96.2	2.08	101.0	1.34	108.2	1.47	103.1	1.98	106.6	2.79
1	96.8	1.49	97.5	2.28	99.5	2.25	93.8	1.99	96.6	0.95	96.0	1.69	100.4	1.47	103.0	1.23
5	97.2	0.79	97.3	1.85	101.6	1.86	94.7	0.86	98.6	1.33	98.3	1.07	100.0	1.54	102.8	1.40
10	96.6	1.18	95.3	0.82	99.3	0.65	93.4	1.03	96.7	1.20	96.7	0.95	97.6	0.85	100.1	0.68
50	102.2	0.83	100.2	1.22	102.2	0.44	99.8	0.94	101.3	1.63	101.6	1.03	102.0	1.59	102.5	1.25
100	99.5	1.57	100.5	1.28	98.9	1.41	101.1	1.27	99.8	0.58	99.6	1.01	99.2	0.57	98.5	0.92

### 方法灵敏度

图 4 显示了该方法中分析的八种药物在 100 ppt 下的出色信号响应。即使在亚 ppb 级浓度下，这种小型 LC/TQ 也能实现对所有八种药物标准品的出色分

离和高灵敏度检测。图 3 显示了所有八种药物在 5 ppt 下的提取离子。LOQ 定义为七次重复进样中有四次的准确度为 80%–120%，信噪比大于 10。

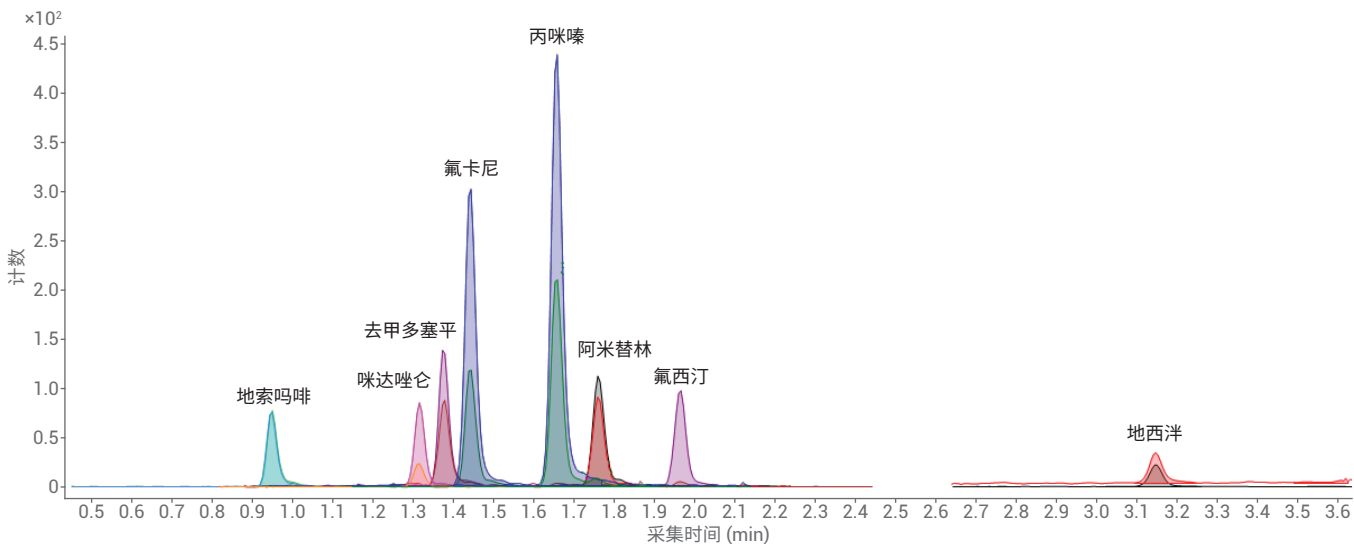


图 4. 加标到萃取的血清样品中的药物的复合 MRM 色谱图

## 方法精度和线性

所有研究的化合物都获得了出色的精度。图 5 展示了所有八种药物在所有浓度下的校准曲线。所有化合物均表现出优异的线性， $R^2$  值均  $\geq 0.99$ 。

## 结论

Ultivo 是一套出色的创新型质谱仪，可以最大程度减小对实验室工作空间的需求并减少维护挑战，为高通量实验室创建高效的工作环境。Ultivo 是一款体积小巧但功能强大的工具，能够准确、灵敏地检测人血清中 ppt 级的药物。MassHunter 软件为采集和报告 LC/MS 数据提供了一种简便易用的一体式工具。

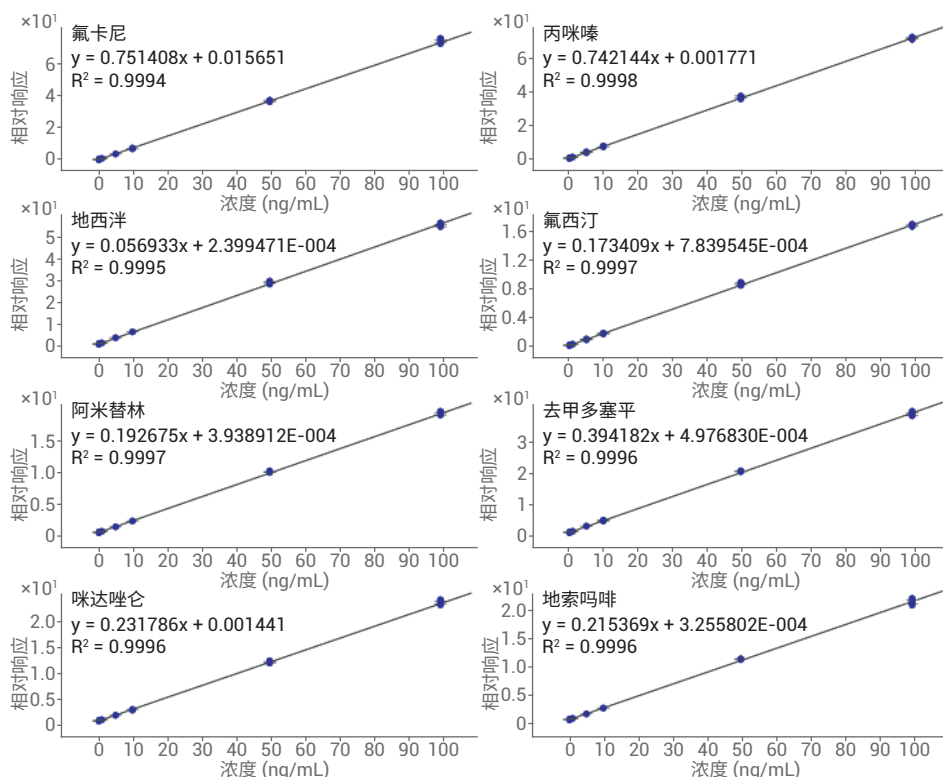


图 5. 所有研究药物的校准曲线

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。