

采用安捷伦 RapidFire 三重四极杆/质谱系统超快速分析尿中苯二氮草类化合物

应用简报

作者

Nikunj R. Parikh, Michelle Romm,
Vaughn P. Miller
Agilent Technologies, Inc.
11 Audubon Rd
Wakefield, MA 01880

前言

法医药物筛查为当今的政府执法人员、公司雇员和病理学家广为采纳。传统意义上，这些药物的筛查通常是先进行免疫学测定，然后使用 GC/MS 或是近期更加盛行的 LC/MS 进行进一步确认。样品量的逐步增加以及对高分析通量的需求对这一传统技术提出了严峻挑战。在本应用中，我们对一种超高速的 SPE/MS/MS 系统，即安捷伦 RapidFire 高通量质谱仪的性能进行了评估，使用此系统对尿液中 ng/mL 低浓度水平的苯二氮草类化合物进行筛查，每个样品的运行时间不到 15 s。



Agilent Technologies

实验

RapidFire/MS/MS 系统包括以下模块：
Agilent RapidFire 360, Agilent 6460 三重四极杆质谱, MassHunter B.04.00 版定性分析软件以及 RapidFire 积分软件。

RapidFire 三重四极杆系统参数

按照表 1 中的参数, 以每个样品小于 13 s 的速度进行样品分析, 在所有分析中, 对 5 种苯二氮䓬类药物同时监测定量离子、定性离子和内标离子。

试剂

除 α -羟基阿普唑仑、氯硝西洋、替马西洋、奥沙西洋、去甲西洋 (1.0 mg/mL 的甲醇溶液) 和替马西洋-D5 (1.0 mg/mL 的甲醇溶液) 购自 Cerilliant 公司 (Round Rock, 德克萨斯州) 外, 其他所有溶剂和试剂均购自 Sigma-Aldrich 公司 (St. Louis, 密苏里州)。

样品制备

在空白尿液中分别将上述化合物配制浓度为 25000 ng/mL 的混和标准溶液。采用连续稀释法配制出标准浓度, 用含内标物替马西洋-D5 的水按 1:50 的比例稀释标样。将标准溶液转移到多孔板上, 离心, 然后进样到 RapidFire/MS 系统进行分析。

数据分析

使用 RapidFire 积分软件进行色谱峰的积分处理。将每个化合物的 AUC 用替马西洋-D5 内标的 AUC 进行归一化处理。对整个数据按 $1/X^2$ 的权重进行线性回归分析。

表 1. RapidFire/MS/MS 参数

参数						
缓冲液 A	含 0.09% 甲酸和 0.01% 三氟乙酸的水溶液; 流速 1.5 mL/min					
缓冲液 B	含 0.09% 甲酸和 0.01% 三氟乙酸、异丙醇:甲醇浓度为 1:1 的溶液, 流速为 1.25 mL/min					
进样量	10 μ L					
SPE 小柱	Agilent RapidFire 小柱 A (反相 C_4 填料, G9205A)					
RF 状态 1	取样传感器 (sip sensor)					
RF 状态 2	5000 ms					
RF 状态 3	5000 ms					
RF 状态 4	500 ms					
三重四极杆参数						
干燥气温度	350 $^{\circ}$ C					
干燥气流量	8 L/min					
雾化器压力	50 psi					
鞘气温度	400 $^{\circ}$ C					
鞘气流量	11 L/min					
喷嘴电压	300 V					
毛细管电压	3500 V					
	Q1	Q3	驻留时间	碎裂电压	CE	CAV
α -羟基阿普唑仑	325.1	297.1	10	135	27	3
氯硝西洋	321.1	275	10	115	15	2
替马西洋	301.1	255.1	10	120	21	3
奥沙西洋	287.1	241.2	10	130	17	4
去甲西洋	271	140	10	145	27	4
替马西洋内标	306.1	260.1	10	115	21	3

结果和讨论

对苯二氮䓬类尿液混标分别进行日内和日间的准确度和精度测定。日内和日间准确度误差均在 15% 以内, 测定范围浓度的变异系数均低于 5% (见表 2-6)。线性良好, R^2 均大于 0.999 (见图 1-5)。

苯并二氮䓬类化合物的线性范围在 12.5–25000 ng/mL 之间, 检出限 (LOD) 低于 12.5 ng/mL。在进样不同的化合物之间运行一针空白溶剂, 这样可以除去上一针

高浓度化合物的残留。分析过程中未见明显的化合物残留。未发现混标中的任何化合物出现信号抑制现象。

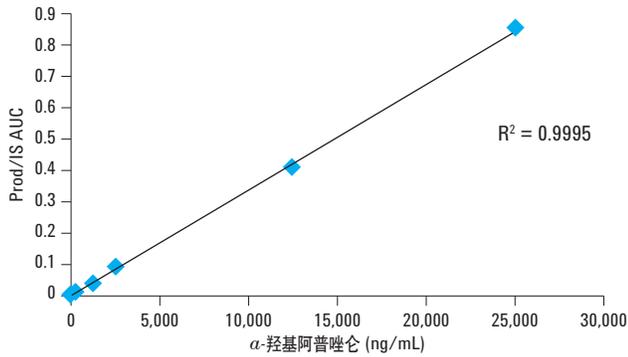


图 1. 尿液中 α -羟基阿普唑仑的标准曲线

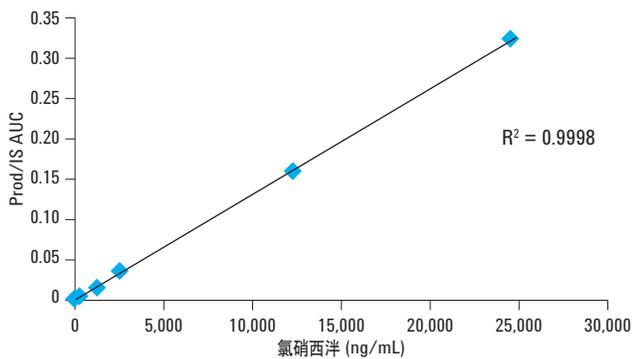


图 2. 尿液中氯硝西泮的标准曲线

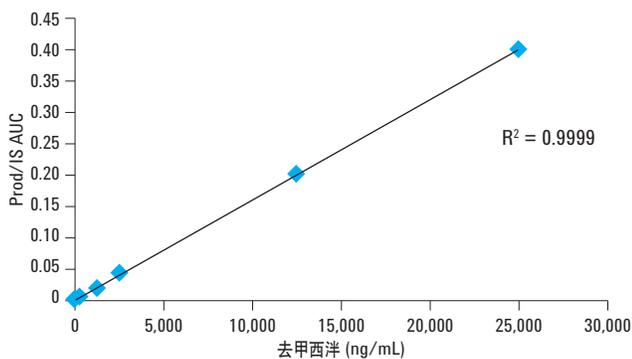


图 3. 尿液中去甲西泮的标准曲线

表 2. α -羟基阿普唑仑的日内和日间精度和准确度

α -羟基阿普唑仑 (ng/mL)	日内准确度 % (n=3)	日内精度 % (n=3)	日间准确度 % (n=3)	日间精度 % (n=3)
12.5	102.2	2.7	102.5	1.6
125	88.3	0.5	87.7	0.7
250	94.8	3.4	96.0	3.0
1,250	94.4	1.9	93.0	1.1
2,500	109.1	0.7	112.0	0.4
12,500	105.3	0.6	104.1	0.6
25,000	108.4	1.0	107.7	1.0

表 3. 氯硝西泮的日内和日间精度和准确度

氯硝西泮 (ng/mL)	日内准确度 % (n=3)	日内精度 % (n=3)	日间准确度 % (n=3)	日间精度 % (n=3)
12.5	101.0	1.2	100.2	0.5
125	94.6	3.0	98.5	5.1
250	98.8	1.4	99.6	0.7
1,250	95.3	1.2	92.5	0.4
2,500	108.3	0.9	108.5	0.4
12,500	102.6	1.7	100.4	2.4
25,000	101.2	1.4	100.2	2.1

表 4. 去甲西泮的日内和日间精度和准确度

去甲西泮 (ng/mL)	日内准确度 % (n=3)	日内精度 % (n=3)	日间准确度 % (n=3)	日间精度 % (n=3)
12.5	100.5	1.5	101.2	0.7
125	86.3	3.0	88.8	2.0
250	92.7	2.1	91.0	2.1
1,250	95.8	1.7	92.2	0.9
2,500	110.2	1.1	111.1	0.2
12,500	103.9	1.4	106.1	0.4
25,000	105.3	1.3	108.9	0.4

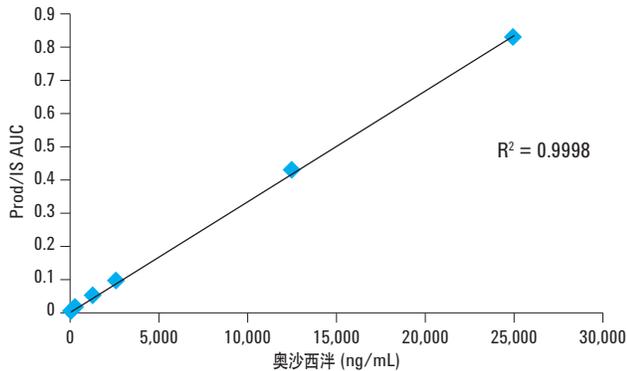


图 4. 尿液中奥沙西洋的标准曲线

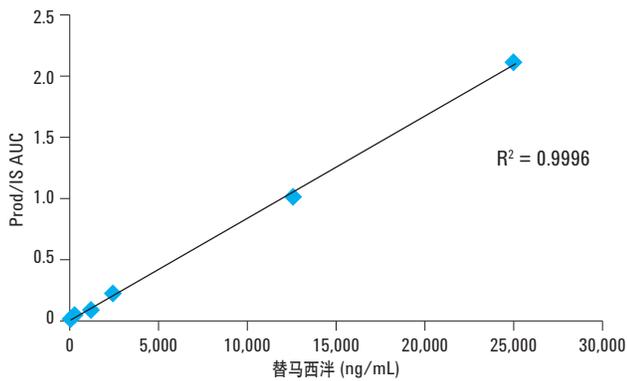


图 5. 尿液中替马西洋的标准曲线

表 5. 奥沙西洋日内和日间精度和准确度

奥沙西洋 (ng/mL)	日内准确度 % (n=3)	日内精度 % (n=3)	日间准确度 % (n=3)	日间精度 % (n=3)
12.5	100.0	3.1	97.3	2.9
125	89.2	3.2	93.1	0.7
250	94.9	4.4	98.3	4.6
1,250	98.0	1.5	96.1	1.3
2,500	111.3	1.5	111.0	2.5
12,500	102.5	1.3	99.9	2.3
25,000	100.0	1.1	97.5	1.9

表 6. 替马西洋日内和日间精度和准确度

替马西洋 (ng/mL)	日内准确度 % (n=3)	日内精度 % (n=3)	日间准确度 % (n=3)	日间精度 % (n=3)
12.5	103.4	3.6	105.2	1.9
125	85.5	3.8	87.9	1.3
250	94.7	1.6	98.9	1.3
1,250	94.7	1.6	102.0	0.3
2,500	109.2	0.7	110.0	1.4
12,500	105.7	1.4	105.5	0.8
25,000	106.7	0.8	103.2	0.1

结论

苯二氮䓬类滥用药物的代谢产物可以通过安捷伦高通量的 RapidFire 质谱系统进行精准测定。每个样品的分析时间不足 15 s，为这类化合物的检测提供了一个高通量的分析方法。该 SPE/MS/MS 系统可以为尿液中类似小分子量化合物分析提供快速而高效的检测手段。

www.agilent.com/lifesciences/rapidfire

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
中国印刷 2012 年 9 月 28 日
5991-0833CHCN