

通过 Agilent RapidFire/MS 系统进行高通量体外 ADME 分析：渗透性试验

应用简报

作者

Vaughn Miller
安捷伦科技公司
美国马萨诸塞州韦克菲尔德

引言

在药物发现过程中，通常使用 Caco-2（细胞系）和 PAMPA（平行人工膜渗透性试验）等渗透性试验模拟人体肠道细胞对潜在候选药物的吸收。即对该潜在候选药物和其他候选药物的渗透特性进行排序，并以此来判断其作为口服治疗剂的疗效。药物发现过程早期的分析涉及大量的样品，因此需要高通量的方法。Agilent RapidFire/MS 系统将高通量样品处理与三重四极杆 (QQQ) 或飞行时间 (TOF) 质谱 (MS) 相结合，从而简化了 ADME 分析。

我们对多种候选药物进行了标准 Caco-2 和 PAMPA 分析。使用 Agilent RapidFire 高通量质谱系统，连接 QQQ 或 TOF MS，对试验多孔板进行分析。采用这一设置，10 秒钟内即可处理一份样品。这种超级快速的系统只用传统 LC/MS 方法的一小部分时间即可得到类似的结果，表明 RapidFire 是药物发现过程中既经济又高效的渗透性分析工具。



Agilent Technologies

用 RapidFire/Q-TOF 进行 PAMPA 分析

在三种不同的 pH 条件下对 81 种各类专利的药物发现化合物进行了 PAMPA 分析，将在 RapidFire/TOF 上得到的渗透性值与 LC/MS/MS 的分析数据进行比较。RapidFire/TOF 分析采用单一的常规质谱离子源和固相萃取 (SPE) 方法，而 LC/MS/MS 需要对每个化合物进行多反应监测 (MRM) 优化。RapidFire 系统的样品分析周期比 LC/MS/MS 快 10 倍以上。强相关性 (图 1)¹ 表明两种分析方法得到了类似的结果。这些结果表明，Agilent RapidFire 系统除了能缩短分析周期外，还不用进行 MRM 方法开发，从而进一步提高了工作流程效率。

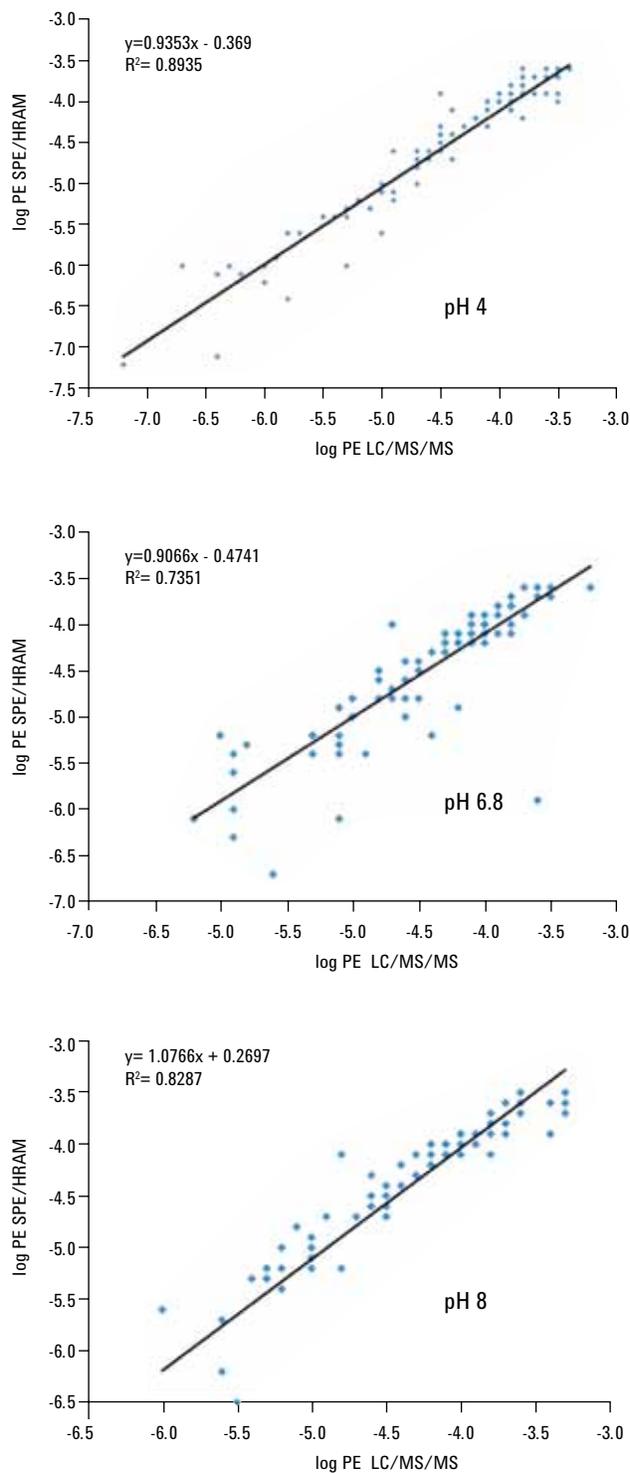


图 1. 对 81 种药物发现候选化合物在三种不同 pH 条件下进行 PAMPA 分析所得渗透性值的相关性。SPE/高分辨精确质量 (HRAM) RapidFire/TOF 所得的数据与标准 LC/MS/MS 分析的数据呈良好相关性

用 RapidFire/MS/MS 进行渗透性试验

在第二项研究中，我们进行了 Caco-2 和 PAMPA 分析，将用 RapidFire/MS/MS 得到的渗透性结果与 LC/MS/MS 结果进行比较。将经过验证的 LC/MS/MS 系统所得到的渗透系数 (PAPP) 与 RapidFire/MS/MS 系统得到的数据进行相关性分析。样品来源于 Caco-2 试验，它能模拟口服化合物的体内渗透性分析（图 2 和图 3）²。RapidFire 系统的样品分析周期比 LC/MS/MS 快 10 倍以上。同样，结果的强相关性说明用 RapidFire 系统进行这类分析保持了数据完整性，同时大大提高了实验室效率。

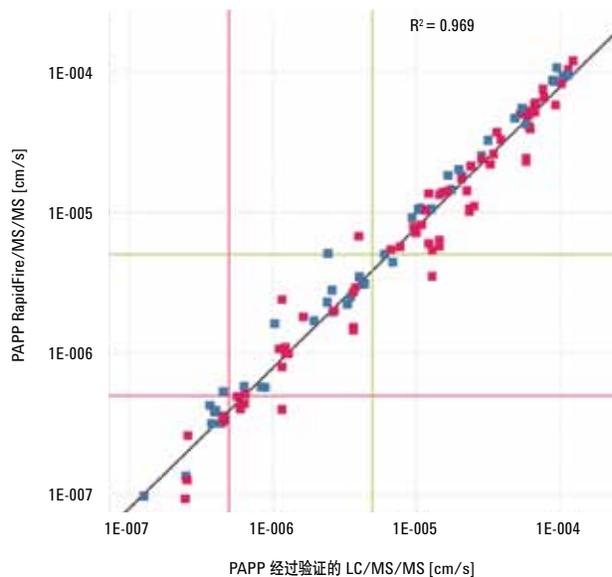


图 2. 110 次 Caco-2 试验的渗透系数 (PAPP) 相关性。蓝色方块代表同一天的样品测定结果，红色方块代表间隔一天以上且经过一次冻融循环的样品测定结果

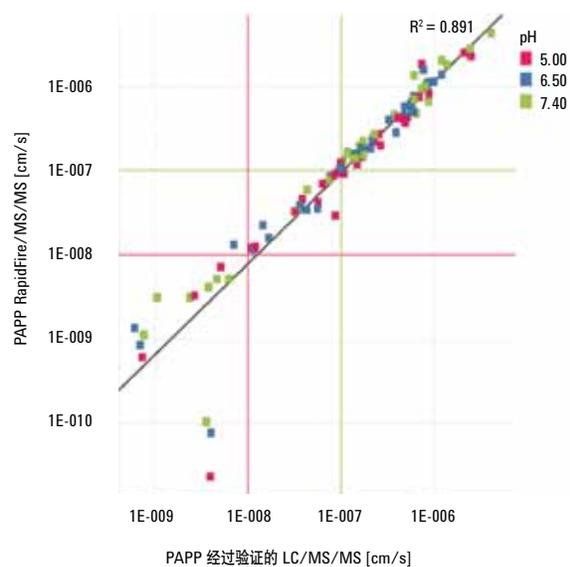


图 3. 35 次 PAMPA 分析所得渗透系数 (PAMPA) 的相关性。本研究中，各化合物在不同 pH 值条件下研究，显示出低 ($<1 \times 10^{-8}$ cm/s)、中 ($>1 \times 10^{-8}$, $<1 \times 10^{-7}$ cm/s) 或高渗透性

结论

使用 Agilent RapidFire 高通量质谱系统，连接 QQQ 或 TOF MS，对 PAMPA 或 Caco-2 渗透性试验样品进行了分析。两套实验得到的结果表明 RapidFire 系统具有如下主要优势：每个样品处理仅用 6 到 10 秒，从而使样品通量比常规方法提高了 10 倍，而渗透性结果则与常规 LC/MS/MS 方法相当。RapidFire 系统明显提高了常规实验室进行这类分析的工作流程效率和通量。

参考文献

1. Hatsis, P. *et al.* Reducing Bottlenecks in ADME Sample Analysis using Solid Phase Extraction with a Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometer. Podium talk by Novartis/Biocius at the 2010 ASMS meeting.
2. Luippold, A. *et al.* Application of a Rapid and Integrated Analysis System (RIAS) as a High-Throughput Processing Tool for *In Vitro* ADME Samples by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *J Biomol Screen*, **2011**, 16(3):370-377.

www.agilent.com/lifesciences/rapidfire

仅适用于研究，不可用于诊断。本文所含的信息仅供参考，只适用于研究目的。安捷伦科技公司对您的特殊应用不提供本文数据的质量或适用性保证。

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，2011
2011 年 9 月 15 日，中国出版
5990-9081CHCN



Agilent Technologies