

## 应用纪要

# 使用ACQUITY QDa质谱检测器进行系统性毒理学分析(STA) - 第2部分：一种快速简便的OASIS PRiME SPE方法在生物样品异生物质萃取中的应用评价

---

Nayan S. Mistry, Robert Lee, Michelle Wood

Waters Corporation

仅适用于法医毒理学应用。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

## 摘要

本应用简报介绍了一种简单的样品前处理方法，该方法使用UPLC分离技术和Waters ACQUITY QDa质谱检测，对人尿液或血浆中加标的毒理学相关化合物进行筛查。

## 优势

此系列分为两部分，本文作为第二部分，介绍了一种简单的固相萃取(SPE)方案，用于生物基质中化合物的制备，以及该方案在Waters STA筛查方法和ACQUITY QDa质谱检测器上的应用。

---

## 简介

任何LC-MS筛查方法的成功都需依靠高效且可靠的样品前处理方案，同时该方案应能从基质中萃取出尽可能多的分析物。Waters Oasis PRiME HLB采用简单快速的设计，无需进行吸附剂预活化和平衡，同时能够提供比传统样品前处理解决方案更快速的工作流程和更洁净的萃取物。

本应用简报介绍了Oasis PRiME HLB和UPLC分离技术与ACQUITY QDa质谱检测器（使用Waters STA筛查应用程序）结合使用的情况<sup>1-3</sup>。自十多年前该产品推出以来，相关的数据库已经扩展至包含1200种毒理学相关物质。当前工作的目的是评估STA方法与ACQUITY QDa质谱检测器结合使用（图1）的可行性，该方法可提供一种简单、灵敏、低成本的定性筛查工具，适用于在法医毒理学实验室中确定生物基质中的毒理学相关物质。



图1.ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统和ACQUITY QDa质谱检测器。

---

## 实验

---

## 材料

参比物质包含100种分析物（表1），购自Sigma-Aldrich（英国普尔）；通常情况下，单药浓度为1 mg/mL。六种不同来源的尿液由志愿者提供（英国威姆斯洛），六种不同来源的血浆（使用含氟化钠/草酸钾的试管采集）购自BIOIVT（英国西萨塞克斯郡）。

|           |       |              |            |
|-----------|-------|--------------|------------|
| 乙酰可待因     | 可卡因   | MDMA         | 奋乃静        |
| 阿普唑仑      | 可待因   | bkMDMA       | 苯环己哌啶(PCP) |
| 阿普洛尔      | 可替宁   | MDEA         | 苯甲吗啉       |
| 阿米洛利      | 地西洋   | bkMDEA       | PMMA       |
| 胺碘酮       | 去甲地西洋 | 哌替啶          | 普拉西洋       |
| 阿米替林      | 双氢可待因 | 去甲哌替啶        | 丙环定        |
| 安非他命      | 多沙普伦  | 甲氧麻黄酮(4-MMC) | 普萘洛尔       |
| 阿替洛尔      | 多虑平   | 甲丙氨酯         | 丙氧芬        |
| 阿托品       | 芽子碱甲酯 | 美沙酮          | 普罗替林       |
| 苯甲酰芽子碱    | EDDP  | 甲基安非他命       | 雷米普利       |
| 溴苯那敏      | 麻黄碱   | 甲硫丙胺(MPA)    | 雷尼替丁       |
| 丁丙诺啡      | 芬太尼   | 咪达唑仑         | 羟基利培酮      |
| 咖啡因       | 去甲芬太尼 | 吗啡           | 东莨菪碱       |
| 西替利嗪      | 氟硝西洋  | 吗啡，6-单乙酰基    | 舍曲林        |
| 氯氮卓       | 氟西汀   | 纳多洛尔         | 西地那非       |
| 氯喹        | 氟西洋   | 纳曲酮          | 索他洛尔       |
| 氯苯那敏      | 格列齐特  | 硝西洋          | 替马西洋       |
| 西酞普兰      | 氟哌啶醇  | 去甲丁丙诺啡       | 疏利达嗪       |
| 去甲西酞普兰    | 氢可酮   | 去甲替林         | 噻吗洛尔       |
| 氯巴占       | 氢吗啡酮  | 奥沙西洋         | 曲马多        |
| 氯硝西洋      | 氯胺酮   | 氧烯洛尔         | 曲唑酮        |
| 氯硝西洋，7-氨基 | 去甲氯胺酮 | 羟考酮          | 苯丙烯啶       |
| 氯氮平       | 氯甲西洋  | 羟吗啡酮         | 文拉法辛       |
| 去甲氯氮平     | 马普替林  | 扑热息痛         | 维拉帕米       |
| 可卡乙碱      | MDA   | 帕罗西汀         | 佐匹克隆       |

表1.评估的100种化合物列表。

## 制备加标基质

将分析物组合为多种混合物（每种混合物中最多包含10种分析物），用乙腈溶液制得浓度为25 µg/mL的混合加标溶液。

将每种混合物分别加标到空白基质中，得到最终浓度为200 ng/mL和500 ng/mL的溶液。

## 样品前处理 - 快速、简单的固相萃取(SPE)

将基质(150  $\mu$ L)加标到150  $\mu$ L去离子水中，涡旋混合60 s，然后离心。将200  $\mu$ L加标基质/水混合物上样至Oasis PRiME HLB  $\mu$ Elution板 (P/N: 186008052)。上样后，用200  $\mu$ L 5%甲醇溶液清洗孔。用2  $\times$  50  $\mu$ L含1%甲酸的乙腈/甲醇(90/10, v/v)溶液将分析物洗脱到800 $\mu$ L圆孔收集板中 (P/N: 186002481)。

使用Porvair样品浓缩器在50  $^{\circ}$ C的氮气流下吹干样品，然后用40  $\mu$ L含10%乙腈的5 mM甲酸铵溶液(pH 3.0)进行复溶。用经过硅胶/PTFE处理的沃特世盖垫覆盖收集板，然后置于多管涡旋混合器中混合3 min。图2所示为样品前处理所用萃取方案的示意图。

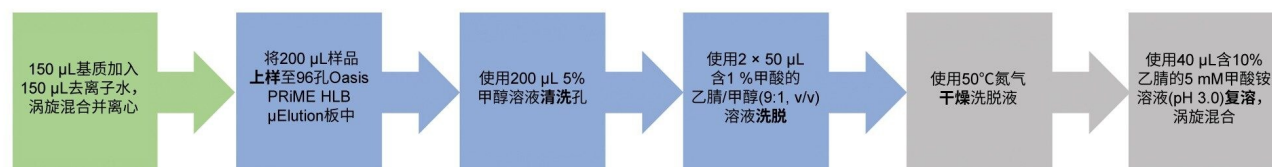


图2.样品前处理所用的PRiME HLB工作流程方案。

## 筛查方法

样品采用之前开发的Waters STA筛查方法进行分析，该方法经过改进，可与Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统和ACQUITY QDa质谱检测器结合使用<sup>2</sup>。

色谱分离通过15 min的梯度洗脱实现。数据在全扫描模式下采集，采用多个锥空电压，通过源内碰撞诱导解离(CID)在正离子模式下生成谱图数据。表2和表3分别列出了LC条件和ACQUITY QDa设置。

| 时间(min) | 流速(mL/min) | %B | 曲线 |
|---------|------------|----|----|
| 初始      | 0.400      | 10 | 初始 |
| 10.00   | 0.400      | 50 | 6  |
| 10.75   | 0.400      | 95 | 6  |
| 12.25   | 0.400      | 95 | 6  |
| 12.50   | 0.400      | 10 | 6  |
| 15.00   | 0.400      | 10 | 6  |

表2.LC梯度曲线，包括300  $\mu$ L的预柱体积。

| 参数        | 设置          |
|-----------|-------------|
| 极性        | ESI+        |
| 采集范围(m/z) | 80-650      |
| 采集时间(min) | 15          |
| 探头温度(°C)  | 600         |
| 离子源温度(°C) | 120         |
| 锥孔电压(V)   | 10、20、35和45 |
| 毛细管电压(kV) | 0.8         |

表3.ACQUITY QDa条件。

## 结果与讨论

按照所述Oasis PRiME HLB  $\mu$ Elution方法制备加标样品，并在ACQUITY QDa质谱检测器上使用Waters STA筛查方法进行分析。使用ChromaLynx应用管理软件（带MassLynx软件）自动处理采集的数据，并与准备好的谱库进行比较，通过谱库匹配来提供鉴定结果。组分鉴定结果的可信度以平均匹配因子表示，最大值为1000。平均匹配因子是通过比较四种锥孔电压下的采集谱图与谱库谱图来确定的。在本研究中，假定平均匹配因子大于700为阳性鉴定结果，而平均匹配因子在600~700之间的化合物则被归类为暂定（不确定）的鉴定结果。此外，保留时间需要在Waters STA谱库中指定参考时间的0.35 min以内。

在本研究中，如果化合物得到暂定结果或阳性鉴定，则将其归类为检测到的化合物。在200 ng/mL的浓度下，尿液中有93%的研究分析物可检出，血浆中这一比例为98%。图3中汇总了两种基质中浓度为200 ng/mL和500 ng/mL的检测结果总数。

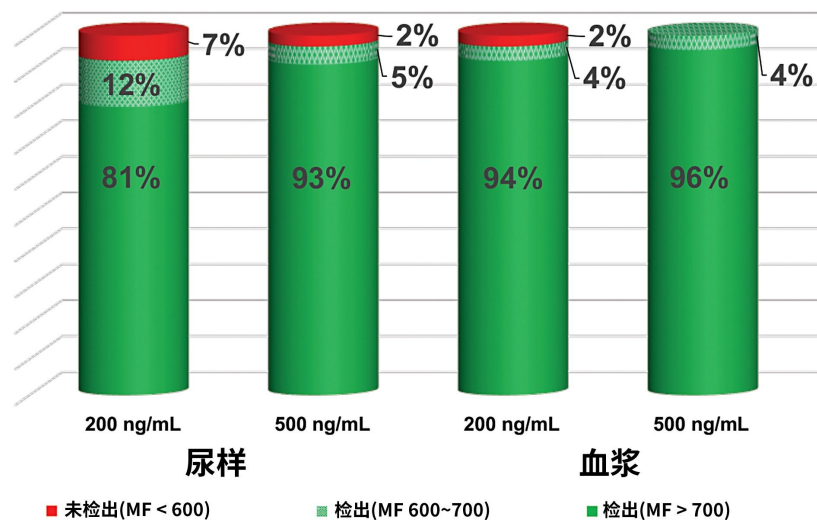


图3.混合尿液和血浆中浓度为200 ng/mL和500 ng/mL的化合物检测结果汇总。

## 结论

本技术简报介绍了一种简单的样品前处理方法，该方法使用Oasis PRiME HLB  $\mu$ Elution，结合UPLC分离和ACQUITY QDa质谱检测器，可快速、简单且有效地筛查多种人尿液和血浆中的相关化合物。

在96孔板中使用Oasis PRiME HLB  $\mu$ Elution，可实现样品前处理过程的自动化，从而提高样品通量。

ACQUITY QDa是一款低成本、高灵敏度的多用途仪器，可结合UPLC色谱分离，连续检测生物基质中的毒理学相关化合物。

## 参考资料

1. Goshawk J、Lee R和Wood M. ACQUITY QDa质谱检测器在法医化学实验室和药物监控实验室中的应用潜力评估.2017, 沃特世技术简报, 720006004ZH.

2. Lee R, Roberts M, Paccou A. and Wood M. Development of a New UPLC-MS Method for Systematic Toxicological Analysis.2009. Waters Application Note, 720002905EN.
3. Rosano TG, Swift TA and Wood M. Postmortem Drug Screening by Non-Targeted and Targeted UltraPerformance Liquid Chromatography Technology.2011. *Journal of Analytical Toxicology* 35: 411-423.

---

## 特色产品

[ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/10138533>](https://www.waters.com/10138533)

[ACQUITY QDa质谱检测器 <https://www.waters.com/134761404>](https://www.waters.com/134761404)

[ChromaLynx <https://www.waters.com/513759>](https://www.waters.com/513759)

[MassLynx MS软件 <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)

720006726ZH, 2020年1月



©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)