

应用纪要

证明自动化样品制备平台Andrew+移液机器人 人在亚硝酸胺杂质LC-MS定量分析中的性能

Mary Trudeau, Nigel Skinner

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

您想进一步了解Andrew+移液机器人吗？

申请产品演示

摘要

LC-MS分析方法开发需要采用灵活、可重现的样品制备方法，以实现准确、稳定的分析物定量。本文重点介绍如何使用Andrew+移液机器人与云端OneLab软件自动生成校准曲线，通过ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和Xevo TQ-XS质谱仪对亚硝酸胺杂质进行准确且可重现的LC-MS定量分析。

优势

- 准确、精密且稳定的分析定量性能
- 简便易用且节省时间
- 提高效率并减少故障，从而节省成本
- 减少重复移液
- 自动方法转移

简介

对于实验室分析人员而言，样品制备通常是非常耗时但又至关重要的步骤。样品制备步骤中的任何错误都会在整个分析过程中延续，可能导致性能表现出高变异性，在极端情况下，还有可能导致分析失败。此外，开发、优化和执行这些分析可能非常耗时，并且难以在科学家和实验室之间转移¹。

所有定量分析都要求制备校准标准品和质量控制(QC)样品。制备这些样品的基本技术是，从浓缩溶液中依次（或连续）稀释分析物²。样品制备通常并不复杂，但是制备过程重复且耗时，需要制备一致的样品以确保分析方法具有可靠的性能。因此，该任务非常适合引入实验室自动化装置。让分析人员能够执行其他任务，简化样品制备过程，减少潜在的人为错误，确保获得一致的分析方法性能。

本应用简报的目的是使用Andrew+移液机器人开发用于N-亚硝胺杂质LC-MS定量分析的自动化样品制备方法并证明其性能。由于N-亚硝胺杂质具有致癌性并且在多种商品和药物中都有发现，因此需要在药物开发和生产过程中及之后对这些化合物进行常规定量分析，前提是进行稳定、可靠的样品制备。

结果与讨论

根据应用纪要720006899EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/high-sensitivity-quantitation-of-nitrosamine-genotoxic-impurities-lc-ms-analysis-of-ranitidine-drug-product-using-the-waters-acquity-uplc-i-class-xevo-tq-xs-tandem-quadrupole-mass-spectrometer.html>> 中介绍的样品制备方法，为Andrew+移液机器人创建了校准样品制备方案。简而言之，使用水/甲醇溶液(80/20)制备包含六种亚硝胺杂质（NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDBA和NMBA）的三条校准曲线，使用浓度为1 µg/mL的浓缩储备液，在96孔样品收集板（部件号：[186005837](#) <

<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/vials-containers--collection-plates/186005837-96-well-sample-collection-plate-700--l-round-well-25-pk.html>) 中制备。在OneLab中生成试剂制备方案和校准曲线方案，该软件是在Andrew+移液机器人上设计和执行方案所使用的云端软件。开发的方案不仅可执行所有校准曲线制备步骤（浓度范围0.025~100 ng/mL），还可提供制备过程中所用消耗品和试剂的所有信息。图1突出显示了该分析中所用的OneLab连续稀释/校准曲线(0.025~100 ng/mL)。生成亚硝胺校准曲线后，用硅胶/PTFE 96孔盖垫（部件号：[186006332](https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186006332) <<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186006332>>）密封分析板。将ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统与Waters Xevo TQ-XS串联质谱仪联用，在MassLynx软件控制下，对制备的样品进行LC-MS/MS分析。LC-MS方法的全部详细信息也可参见应用纪要720006899EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/high-sensitivity-quantitation-of-nitrosamine-genotoxic-impurities-lc-ms-analysis-of-ranitidine-drug-product-using-the-waters-acquity-uplc-i-class-xevo-tq-xs-tandem-quadrupole-mass-spectrometer.html>>。



图1.用于连续稀释样品和生成校准曲线的Andrew+移液机器人工作台布局

根据小分子分析方法开发指南^{3,4}, 开发的分析方法必须能够证明线性 (相关系数或 $R^2 \geq 0.98$)、准确度 ($\pm 15\%$)和精密度 ($\pm 15\%$)。使用在Andrew+移液机器人上执行的OneLab样品制备方法以及随后的LC-MS分析, 所有六(6)种N-亚硝胺杂质均轻松达到这些标准。平均(N = 3)校准性能见表1。对于所有6种N-亚硝胺杂质, 使用简单的1/x加权所得到的线性动态范围为0.025~50 ng/mL, 线性拟合水平 ≥ 0.999 。此外, 平均准确度值范围为90.7%~108.0%, RSD为0.2%~14.0%, 表明该方法具有出色的准确度和重现性。其中三种亚硝胺杂质的代表性校准曲线见图2。

亚硝胺杂质	曲线 (ng/mL)	加权	线性拟合结果 (R^2)	平均准确度范围 (%)	平均(N=3) RSD范围(%)
NDMA	0.25-50.0	1/X	0.999	94.6-102.1	0.2-4.9
NDEA				95.4-104.6	0.4-8.1
NDBA				92.6-105.3	1.2-4.2
NMBA				96.7-101.8	0.7-14.0
NEIPA				93.0-108.0	0.9-7.5
NDIPA				90.7-105.5	0.7-3.6

表1.使用Andrew+移液机器人连续稀释样品并生成校准曲线, 获得的亚硝胺杂质LC-MS纯标准品定量分析性能

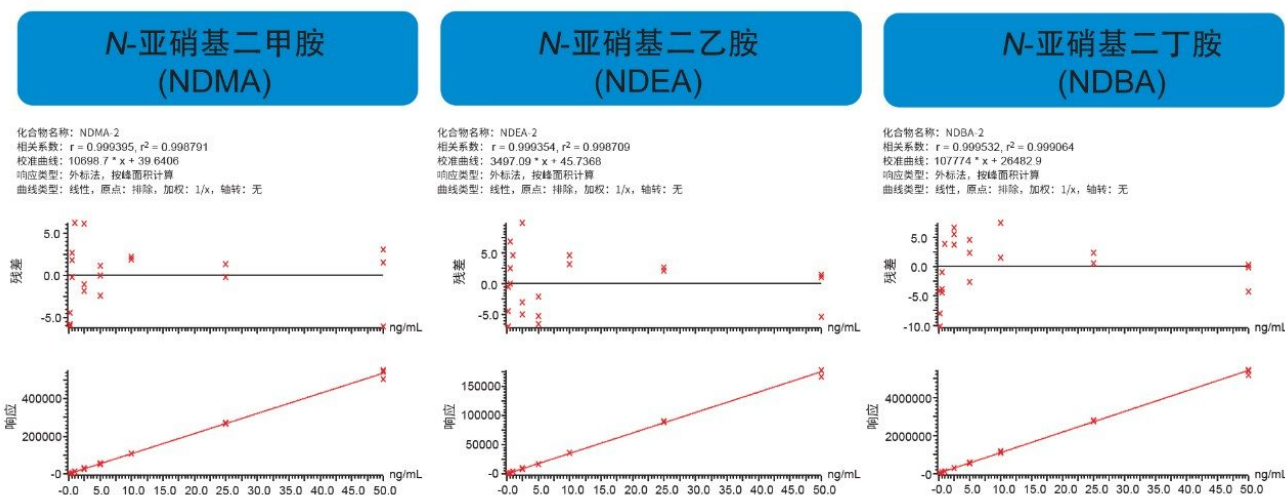


图2.使用Andrew+移液机器人连续稀释样品并生成校准曲线, 获得的代表性亚硝胺杂质标准品校准曲线 (NDMA、NDEA和NDBA)。

本文开发的自动化方法使用OneLab创建，通过Andrew+移液机器人执行，能够完成简单的连续稀释，生成用于亚硝胺杂质分析的校准曲线，而无需分析人员手动干预。这种广泛适用的方法可单独使用，也可以加入更复杂的样品工作流程中，实现稳定的LC-MS定量分析。此外，OneLab方法可追溯且易于转移，可确保方法的日间、用户间、系统间和实验室间重现性。

参考资料

1. Christler, Anna & Felföldi, Edit & Mosor, Magdalena & Sauer, Dominik & Walch, N. & Dürauer, Astrid & Jungbauer, Alois.(2020).Semi-Automation of Process Analytics Reduces Operator Effect.*Bioprocess and Biosystems Engineering*.43.10.1007/s00449-019-02254-y.
2. Accurate and Consistent Serial Dilutions Made Easy with Andrew.Retrieved (22Feb2021) from https://www.andrewalliance.com/wp-content/uploads/2016/10/5_Serial_Dilutions_HD_20161005.pdf <https://www.andrewalliance.com/wp-content/uploads/2016/10/5_Serial_Dilutions_HD_20161005.pdf>
3. Viswanathan, C. T.; Bansal, S.; Booth, B.; DeStefano, A. J.; Rose, M. J.; Sailstad, J.; Shah, V. P.; Skelly, J. P.; Swann, P. G.; Weiner, R. Quantitative Bioanalytical Methods Validation and Implementation: Best Practices for Chromatographic and Ligand Binding Assays.*Pharm.Res*.2007, 24, 1962–1973.
4. Bansal, S.; DeStefano, A. Key Elements of Bioanalytical Method Validation for Small Molecules.*AAPS J*. 2007, 9, E109–114.

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720007134ZH, 2021年1月



© 2023 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](#)