# 采用ACQUITY UPC<sup>2®</sup> QTof™系统 快速进行药物代谢物的检测

Hernando Olivos, Steven Lai, Yun Alelyunas, Paul Rainville和Mark Wrona

#### 日的

展示超高效合相色谱(UltraPerformance Convergence Chromatography™, UPC<sup>2®</sup>)及其与UPLC<sup>®</sup>的正交选择性在药物代谢研究中的应用。

#### 背景

进行药物代谢研究时,通常在没有代谢物标准品的条件下进行方法开发。一般来说,大部分生物体在药物代谢过程中产生的代谢物极性相比于母药极性变大,以便将其排出体外。因此,LC/MS方法必须能足够的梯度空间,以保留和分离相关的的发生。然而,要在分析真实样品前预测这类代谢物的极性程度非常困难。如果原药本身极性较强,则极性代谢物的反相保留将更加困难。然而,在ACQUITYUPC²系统中,这些代谢物的保留强于母药,为UPLC体统提供正交了选择性。UPC²与ESI-MS液质联用系统将成为药物分析中的强大互补技术。

## 与UPLC相比,UPC<sup>2</sup>可实现正交与互补分离以进行 代谢物的检测和鉴定。

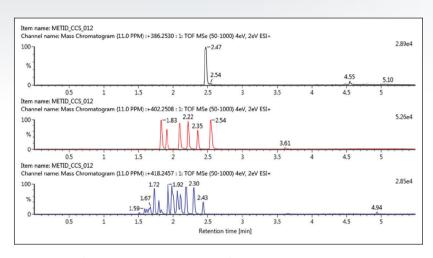


图1. 60 min处丁螺环酮代谢的UPLC-MS XIC: (A) 丁螺环酮, m/z 386.2530; (B) +0 (+15.9949), m/z 402.2508; (C) +20 (+31.9898), m/z 418.2457。

#### 解决方案

丁螺环酮在人体肝脏微粒体孵育,取两个时间点进行样品分析(0和 60 min。样品经蛋白沉淀,离心后进样。采用两种不同的色谱分离模式 (UPLC和UPC²) 对上清液进行分析。对于UPLC,使用如下流动相:A,水 +0.1%甲酸;B,乙腈 +0.1%甲酸。使用ACQUITY UPLC®  $2.1\times50$  mm BEH  $C_{18}$  1.7  $\mu$ m色谱柱进行分离(梯度为流动相B从5%增加至50%)。使用CO2进行 UPC²分析,甲醇共溶剂 (B) 梯度为:0-0.5 min流动相B保持5%,0.5-4 min流动相B从5%增加至35%。采用ACQUITY UPC²  $2.1\times100$  mm BEH 1.7  $\mu$ m色谱柱进行UPC²分离。通过将任一色谱系统(UPLC或UPC²)与能记录HDMS<sup>E</sup>(与

离子淌度信息一起记录的高/低能量碎片离子的时间校准数据)的SYNAPT® G2-Si与质谱仪联用,以记录MS信息。使用MassLunx®质谱软件采集数据,并导入到UNIFI®科学信息系统中进行数据处理。

图1示出了以下物质60 min温育的XIC: A-丁螺环酮(完整原药); B-丁螺环酮+0(单氧化代谢物); C-丁螺环酮+20(双氧化代谢物)。在本例中,检测到六种氧化代谢物,其中一种代谢物在原药后洗脱(推测为N-氧化物),此外,进一步的氧化导致了多种代谢物的产生(即使采用亚3 min梯度法进行分析)。

UPC<sup>2</sup>对于相同丁螺环酮样品的选择性如图2所示。在本案例中,我们可以清晰地看到分离出的 六种单氧化物均比原药具有更长的分离保留时间(图2)。双氧化代谢物也获得了良好的分离效 果,检测到了相当数量的代谢物。同样,其保留时间比原药(丁螺环酮)更长。

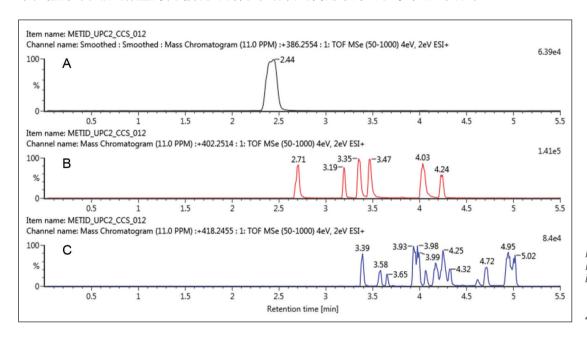


图2. 60 min处丁螺环酮代谢的UPC<sup>2</sup>-MS XIC: (A) 丁螺环酮, m/z 386.2530; (B) +0 (+15.9949), m/z 402.2508; (C) +20 (+31.9898), m/z 418.2457。

由于数据集在同一个MS平台上获得,同时采集离子淌度和MS信息,因此两种样品可互相查询和交叉引用,以实现最大的覆盖率和药物代谢图谱的确证。如图3所示,进一步处理代谢物,获得更多母离子、碎片离子和结构的信息。同时可根据漂移时间分离(离子淌度)的谱图数据,从而通过便捷的筛查工作流程即可获得极其清晰的常规碎片离子信息。

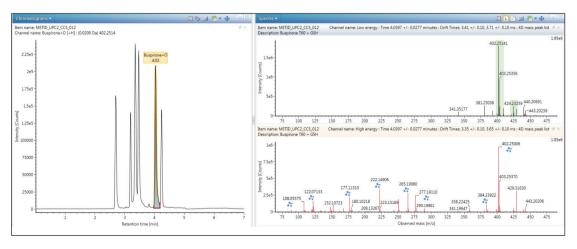


图3. 采用UPC<sup>2</sup>-IMS-QToF数据 (XIC, 如图所示的母离子谱图 和碎片谱图) 对丁螺环酮代 谢物进行结构解析。

### [技术简报]

#### 总结

在UPLC和UPC<sup>2</sup>两种分离模式下均可为主要代谢物的检测提供快速有用的筛查分离结果。UPC<sup>2</sup>可为药物代谢应用中的代谢物筛查提供互补选择性。由于代谢物通常比原药更具极性,因此与传统反相填料相比,UPC<sup>2</sup>对于代谢物的保留能力更强,从而为极具挑战性的分析提供了一种替代方法。此外,与传统正相LC分离相比,UPC<sup>2</sup>还具有与MS平台的高度兼容性,简化了LC/MS数据采集和分析。只要是沃特世(Waters<sup>®</sup>)G2的QTof平台上进行的UPLC-MS研究的所有工作流程,均适用于基于UPC<sup>2</sup>-MS的分析。



THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters,SYNAPT,UPC<sup>2</sup> ACQUITY UPLC,UPLC,MassLynx,UNIFI和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2014年沃特世公司。印制于中国。2014年8月 720005130ZH TC-PDF

#### 沃特斯中国有限公司 沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010-5209 3866 上海: 021-6156 2666 广州: 020-2829 6555 成都: 028-6578 4990 香港: 852-2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676 www.waters.com