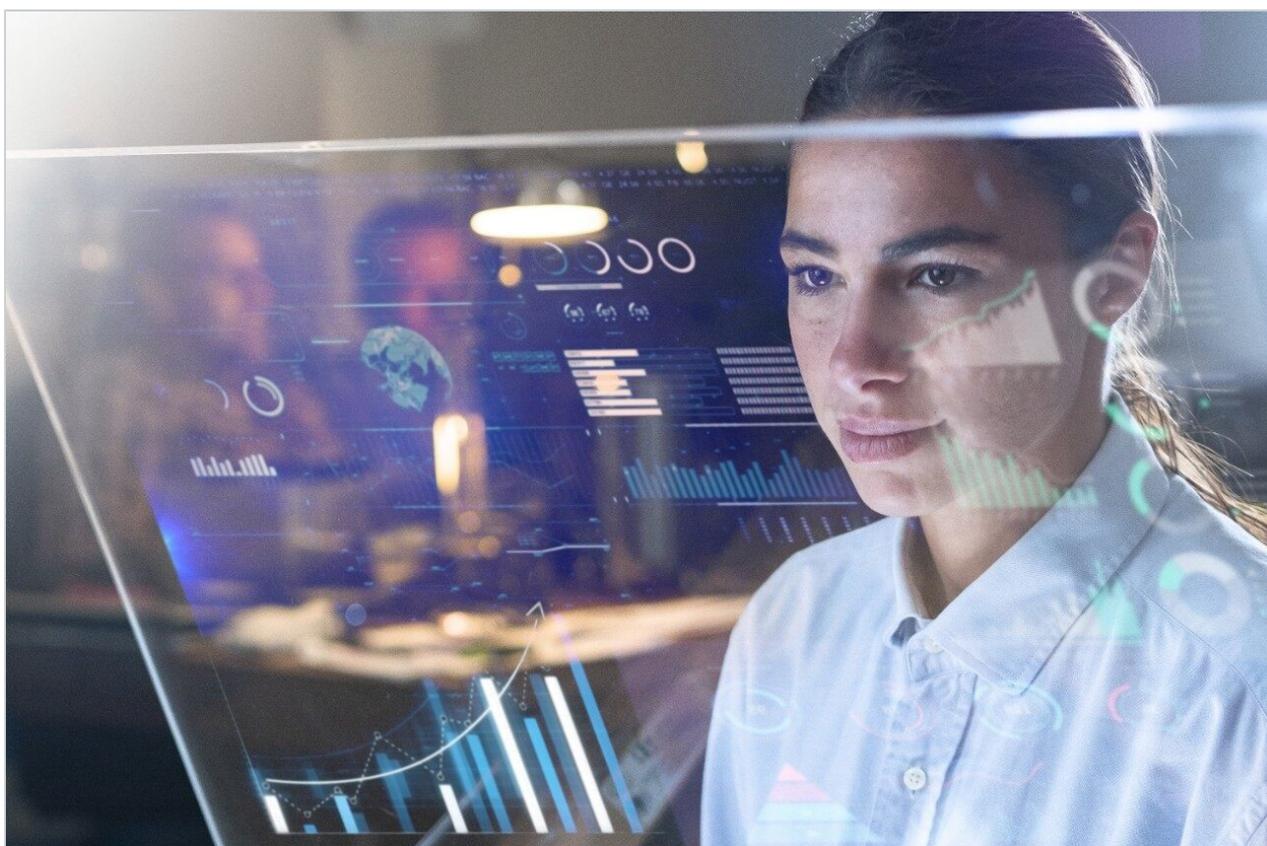


应用纪要

QuanOptimize：一款支持对大量小分子分析物进行快速、一致、准确的MRM方法开发的软件工具

Nikunj Tanna

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

生物分析研发实验室在日常工作中需要开发每周分析数百种化合物的方法，为其产品线中的各项计划提供支持。针对每种化合物单独开发方法可能既费时又繁琐。由于小分子分析的方法开发手段已广为人知，因此希望自动完成该过程。QuanOptimize可自动完成针对大量化合物的MRM方法开发。它可以将最终方法参数存储到数据库中，使用优化的方法自动运行样品列表，创建数据处理方法，只需单击一个按钮即可生成定量结果。

QuanOptimize可确保不同用户获得一致的方法质量，减少样品消耗量，并且时间节省至原来的五分之一。

本文探讨了使用QuanOptimize借助通用调谐页面和液相色谱方法开发用于分析一组18种小分子化合物的方法。

优势

- 自动完成针对大量分析物的MRM方法开发
- 自动生成采集和数据处理(TargetLynx)方法
- 适用于所有化合物类型的一次性通用设置
- 不同经验水平的用户可获得一致的方法质量
- 节省时间和样品消耗量

简介

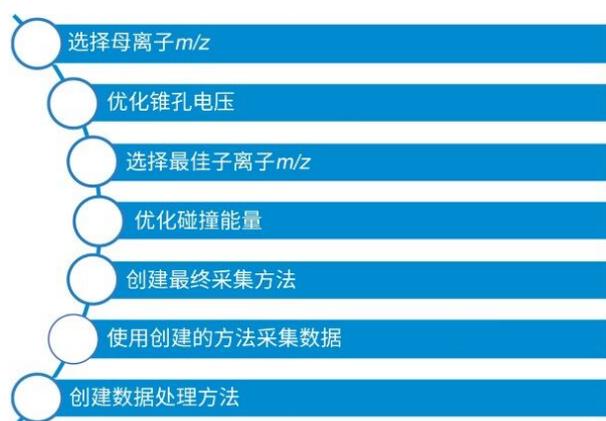
快速、轻松地开发准确、耐用的多重反应监测(MRM)方法是任何定量LC-MS/MS研究的基石。典型的药物发现DMPK实验室每周需要确定数十种至数百种化合物的药代动力学和代谢归宿，因此需要快速、准确地开发LC-MS方法，包括电离模式、母离子/子离子选择、锥孔电压、碰撞能量等。开发MRM方法有多种手段，具体选择何种手段取决于需要开发的方法所针对的分析物数量和类型。对于单个目标物分析，或在分析人员的样品量不受限制的情况下，非常适合使用基于注样的方法开发工具，如IntelliStart。当开发用于单目标物（样品量有限时）或多目标物分析的方法时，优先选择基于LC进样的手段。当采用基于手动进样的方法开发工作流程时，用户需要针对每种分析物生成单独的MS方法，审查数据，并选择合适的锥孔电压、子离子以及用于各子离子的碰撞能量。这种方式具有挑战性并且非常耗时，尤其是需要分析大量化合物时。此外，还要求用户具备一定程度的MS知识或培训经历，并熟悉MS仪器和软件。

如果科学家需要开发用于多种化合物的方法，自动化手段就成为必要选择，因为这种方式更加快速，能够让科

学家有更多时间执行其他任务。QuanOptimize是此类实验室的理想解决方案，这款软件允许用户设置通用参数，然后使用这些参数自动开发针对大量化合物的方法，无需用户干预。该工具使用基于LC进样的手段进行方法开发，将创建的方法保存到数据库中，使用创建的采集方法运行样品列表，生成数据处理方法，然后应用该数据处理方法生成TargetLynx结果。与基于注样的方法相比，QuanOptimize使用的样品量明显更少，并使拥有不同经验水平的用户能够获得一致的方法质量，同时还节省科学家的时间和精力。另外，用户还能够远程开发方法，在当前全球疫情大流行的形势下，这一功能非常重要。

手动工作流程 vs QuanOptimize工作流程

手动工作流程



QuanOptimize工作流程



结果与讨论

MRM方法开发通常包括识别丰度最高的母离子、优化该离子的锥孔电压、识别该母离子的最佳子离子，最终优化该MRM通道的碰撞能量。QuanOptimize可自动完成这些步骤，最终生成可在MassLynx中使用以采集所需LC-MS数据的MRM方法。如图1所示，用户可以在QuanOptimize方法编辑器的Optimisation（优化）选项卡中定义电离模式（框1）、锥孔电压范围（框2）、碰撞能量范围（框3）、每种化合物的碎片离子数量（框4）。采集参数（框5）、调谐文件（框6）、要加入的母离子加合物（框7）、要忽略的子离子损失（框8）和要使用的进样方法（框9）均可使用QuanOptimize方法编辑器中相应的选项卡进行定义。为使峰上具有足够多的数据点以执行锥孔电压和碰撞能量优化，建议将Waters ACQUITY系统上的通用UPLC方法设置为低流速运行（例如200 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）。此设置通常使目标分析物能够获得足够大的峰宽，以适应不同锥孔电压和碰撞能量值下的数据采集。这些方法编辑器设置可以保存并重复用于不同化合物组，无需进行任何更改，从而简化开发过程并节省宝贵的时间。

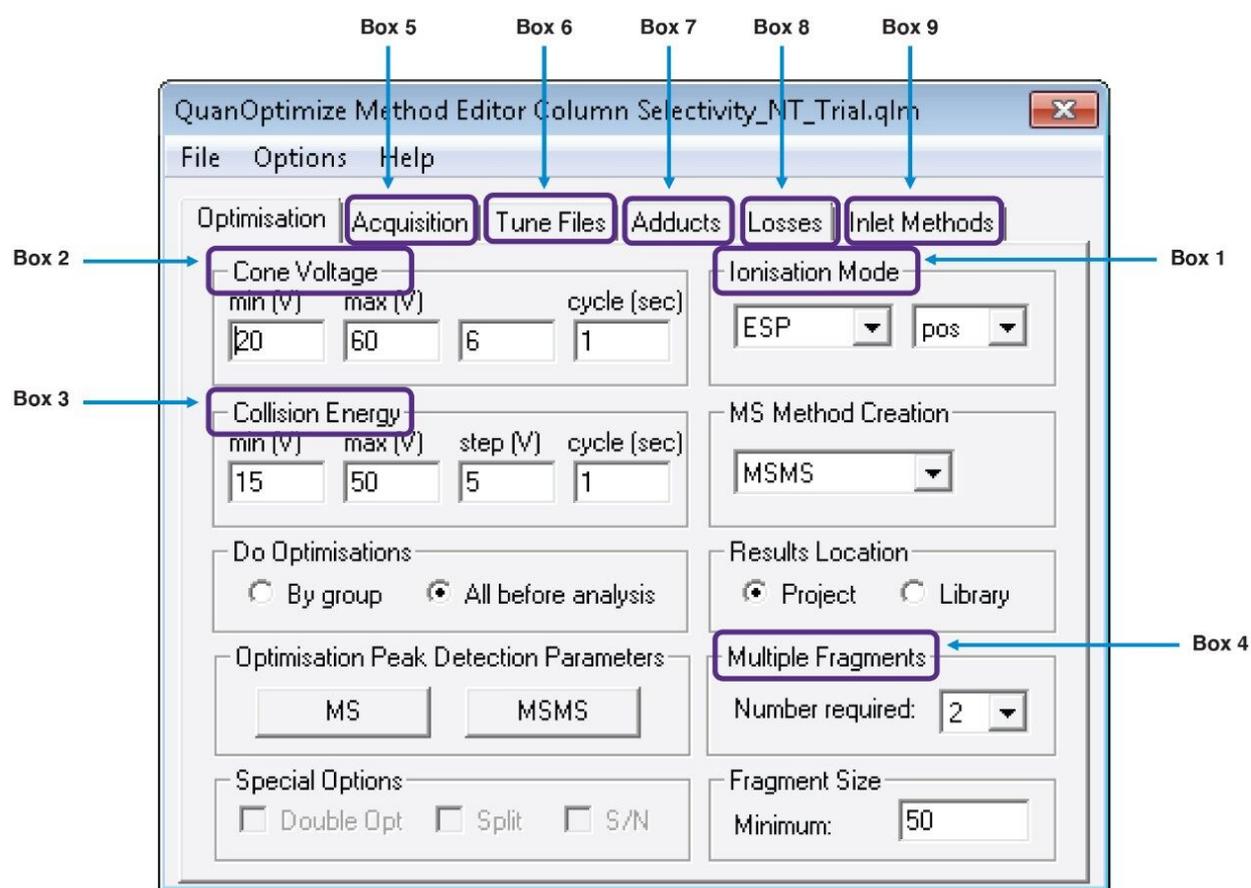


图1. *QuanOptimize*方法编辑器 – *QuanOptimize*允许用户设置在自动化方法开发过程中使用的参数。

保存*QuanOptimize*方法后，用户可以转到Samples→Format→Load→AnalysisList（样品→格式→上样→分析列表），将MassLynx中的样品列表视图更改为AnalysisList（分析列表）。此操作将更改MassLynx样品列表中显示的列，得到更简单的界面以便输入化合物信息。用户可以为每批化合物创建新的样品列表，并输入或导入化合物名称、分子量以及自动进样器中的样品位置。还可以为化合物分配样品组，并从批次中选择内标。图2显示了18种小分子化合物的列表，本研究使用*QuanOptimize*开发了用于这些化合物的分析方法。

Spectrum Chromatogram Map Edit ▾ Samples ▾

	Compound	Mass	Bottle	Sample Group	Internal Std.
1	AMIODARONE HYDROCHLORIDE	645.310	1:B,1	A	
2	PHENYTOIN	252.260	1:B,2	A	
3	NIFEDIPINE	346.300	1:B,3	A	
4	HYDROCHLOROTHIAZIDE	297.740	1:B,4	A	
5	VALPROIC ACID SODIUM SALT	166.190	1:B,5	A	
6	ACETAMINOPHEN BIOXTRA	151.160	1:B,6	A	
7	BACLOFEN	213.660	1:B,7	A	
8	DABIGATRAM	627.730	1:B,8	A	
9	CLOPIDOGREL BISULFATE	419.900	1:B,9	A	
10	FAMOTIDINE	337.440	1:B,10	A	
11	SILDENAFIL CITRATE	474.570	1:B,11	A	
12	BUDESONIDE	430.530	1:B,12	A	
13	PROBENECID	285.360	2:B,1	A	
14	BUPROPION HYDROCHLORIDE	276.200	2:B,2	A	
15	QUETIAPINE FUMARATE	383.500	2:B,3	A	
16	LORATADINE	382.800	2:B,4	A	
17	MONTELUKAST SODIUM	608.200	2:B,5	A	
18	SALMETEROL	603.800	2:B,6	A	

图2. AnalysisList (分析列表) – 化合物及其分子量和样品位置的列表。

设置并保存样品列表后，用户可通过单击Run QuanOptimize (运行QuanOptimize) 转到QuanOptimize向导，选择QuantOptimize方法、样品列表并提供唯一的ID，然后单击Finish (完成) 开始采集。此外，还可以创建采集方法、执行样品列表，并自动创建定量方法 (图3)。QuanOptimize将浏览样品列表，并根据用户在QuanOptimize方法中指定的参数为样品列表中的每种化合物创建MRM方法，无需用户干预。

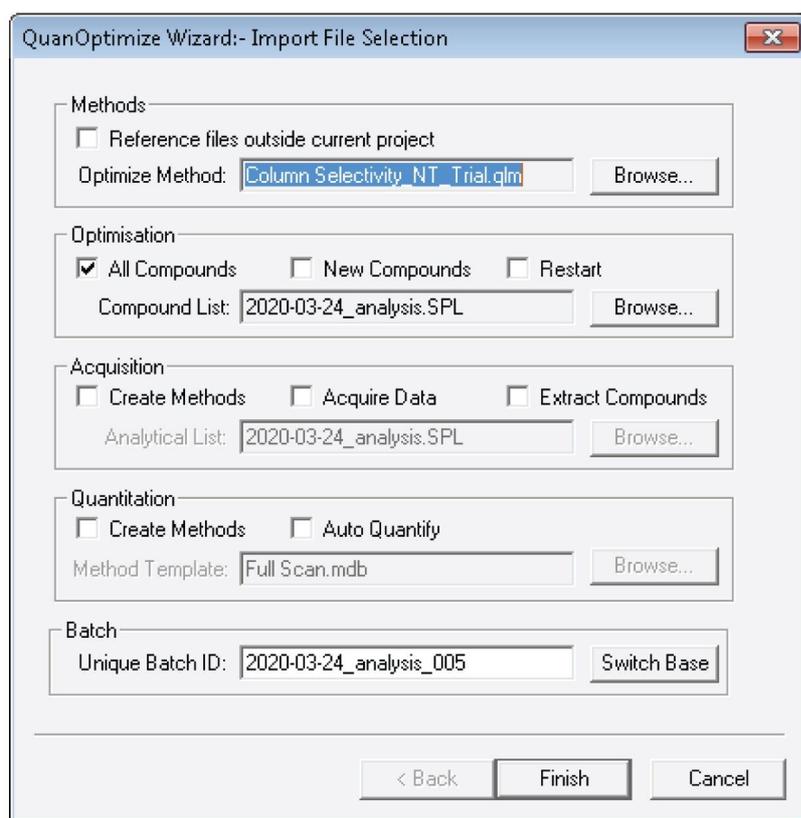
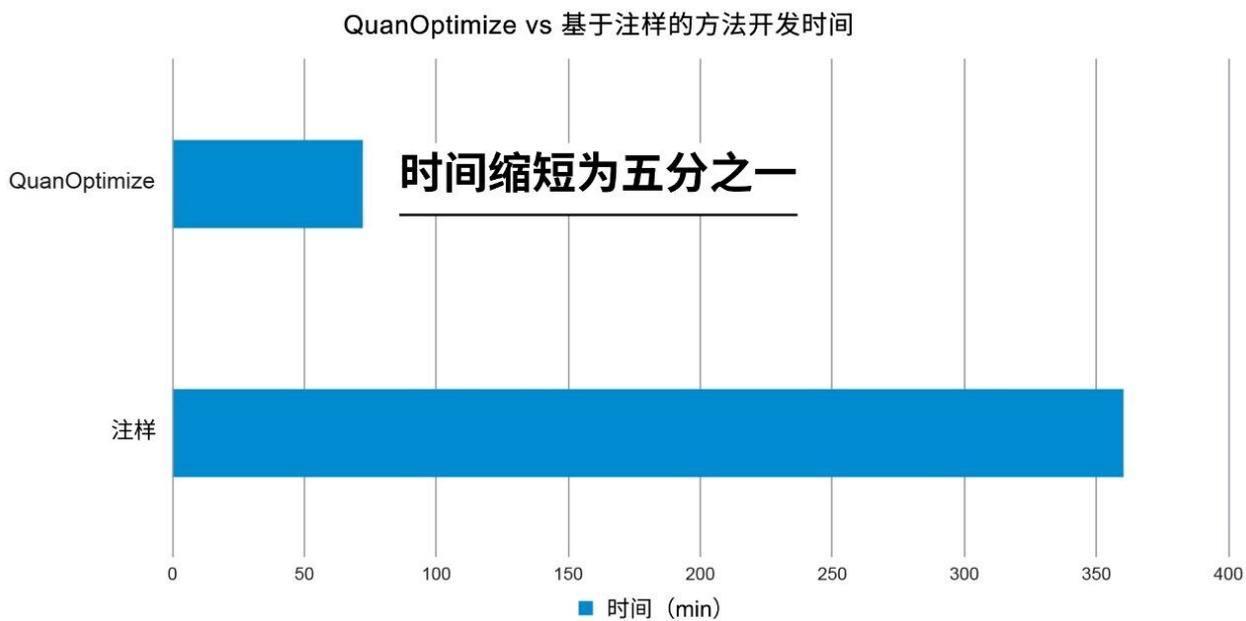


图3. *QuanOptimize Wizard* (*QuanOptimize*向导) – 用户选择 *QuanOptimize*方法以及需要为其开发方法的化合物列表。

将图1所示的*QuanOptimize*方法设置用于本研究选择的18种小分子（如图2中的列表所示）。本研究选择2分钟液相色谱方法。*QuanOptimize*将每个样品进样两次，每个化合物总共需要4分钟，因此整个方法开发时间为72分钟。相比之下，使用基于注样的手动方法开发时，每个化合物可能需要15~20分钟，完成这些化合物的方法开发总共需要360分钟。此外，针对每种化合物手动创建数据处理方法，然后生成结果文件，还需要额外的时间。与基于注样的方法开发相比，使用这种自动化手段的方法开发时间可缩短至五分之一（图4）。



采用基于注样的方法开发时，每种化合物需要20 min；采用QuanOptimize时，每种化合物只需6 min（2 min液相色谱运行）

图4.方法开发时间比较：QuanOptimize vs 基于注样的手段

结论

QuanOptimize可自动完成大量小分子化合物的MRM方法开发过程，确保所有经验水平的科学家能够开发出具有一致质量的方法，为科学家节省宝贵的时间和精力，使他们能够专注于科学研究中更关键的方面。此外，QuanOptimize可确保远程实验室工作的持续性，科学家可以加载需要开发方法的大量化合物，设置仪器，然后放心离开。这在进入实验室可能受到限制的情况下非常有用。对于本研究中使用的18种小分子，QuanOptimize在1.25小时内即可成功完成MRM方法开发，无需任何人工干预，方法开发时间缩短至五分之一。

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>>

QuanOptimize <<https://www.waters.com/534330>>

720007002ZH, 2020年9月

© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.