



应用通讯#704423

应用EVOQ™ Elite液质联用系统对马尿液中一种类鸦片活性肽皮啡肽的研究

摘要

皮啡肽是一种天然存在的七肽物质。它是一种强效止痛剂，是赛马的Ⅰ类违禁药品。本次研究利用EVOQ Elite液相色谱三重四极杆质谱联用系统对马尿液中的皮啡肽进行定量研究，线性定量范围0.05-100ng/mL，并轻松达到0.05ng/mL的定量下限（LLOQ）。

前言

皮啡肽是一种类鸦片的七肽类物质，来源于南美洲青蛙（腊白猴树蛙）皮肤的分泌物。皮啡肽是一种比吗啡¹的止痛效果高出30-40倍的镇痛剂。因结构中含有D-丙氨酸，使其可以高效的对抗蛋白酶介导降解^[1]。D-氨基酸小肽因其较弱的免疫反应而颇受欢迎并广泛应用于拟肽类药物设计。皮啡肽在赛马时的使用使得这种类鸦片活性肽从毫不起眼一跃成为头条。皮啡肽镇痛的特性被用于激发赛马的体能极限而使其有更好的赛绩，但常常会对动物造成伤害。

因此，国际赛马委员会（RCI）指导原则将皮啡肽列为Ⅰ类违禁药品。然而因复杂的基质和缺乏稳定的内标物，导致马尿液中皮啡肽的定量成为一项非常具有挑战性的研究。

结果与讨论

本次研究利用EVOQ Elite三重四极杆质谱系统建立了马尿液中皮啡肽的定量方法。马尿液样本经过固相萃取处理，轻易达到0.05-100 ng/mL的准确定量范围。图1显示了马尿液中皮啡肽的浓度为0.05 ng/mL时的MRM色谱图，图2为校正曲线。三种QC水平（低，中，高）响应因子的RSD为7.3%（表1），显示了在不需要转换阀阻止基质进入离子源的情况下，离子源性能稳定。

实验条件

色谱条件 (Advance™ HPLC)

- 色谱柱: C18, 3 μ , 2.1x100 mm (ACE 3 μ , C18, 100x2.1 mm)
- 进样量: 40 μ L
- 流速: 0.4 mL/min
- 流动相A: 0.2%甲酸-水溶液
- 流动相B: 0.2%甲酸-乙腈溶液
- 流动相梯度:
 - 0.00min 5% B
 - 0.20min 5% B
 - 8.00min 95% B
 - 8.50min 95% B
 - 8.51min 5% B
 - 12.50min 5% B

质谱条件 (EVOQ™ Elite)

- VIP-HESI 真空隔层加热电喷雾离子源加热温度: 350°C
- 加热气体流量: 70 unit
- 雾化气流量: 70 unit
- 锥孔气温度: 250 °C
- 锥孔气流量: 10 unit
- 喷雾电压: 4000 v
- 主动排空: On
- 皮啡肽和皮啡肽-II (内标)的MRM条件:
 - m/z 803.4>602 (CE=20 v), 定量离子
 - m/z 803.4>202 (CE=32 v), 定性离子
 - m/z 783>277 (CE=40 v), 内标

表1 QC响应因子RSD

QC	浓度 (ppb)	峰面积比值	响应因子
低浓度QC	0.3	0.01000	0.03335
低浓度QC	0.3	0.01031	0.03438
中浓度QC	6.0	0.22314	0.03719
中浓度QC	6.0	0.17834	0.02972
高浓度QC	50.0	1.67945	0.03359
高浓度QC	50.0	1.62102	0.03242
响应因子RSD			7.3%

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.
本产品仅用于研究, 不能用于诊断过程

皮啡肽色谱图

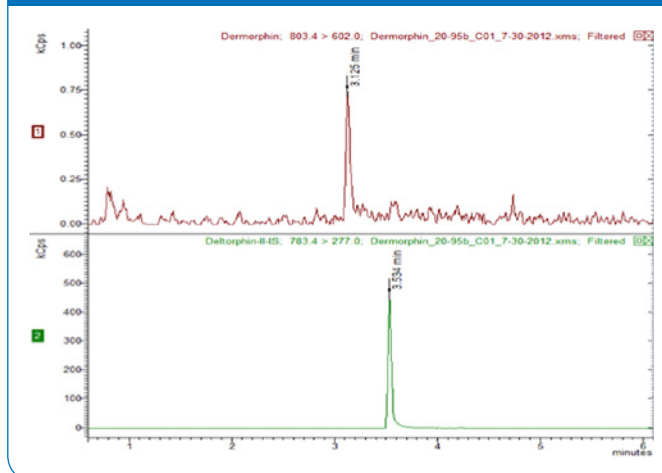


图1: 0.05 ng/mL (LOQ)马尿液中皮啡肽和内标啡肽 (绿线) 色谱图

皮啡肽校正曲线

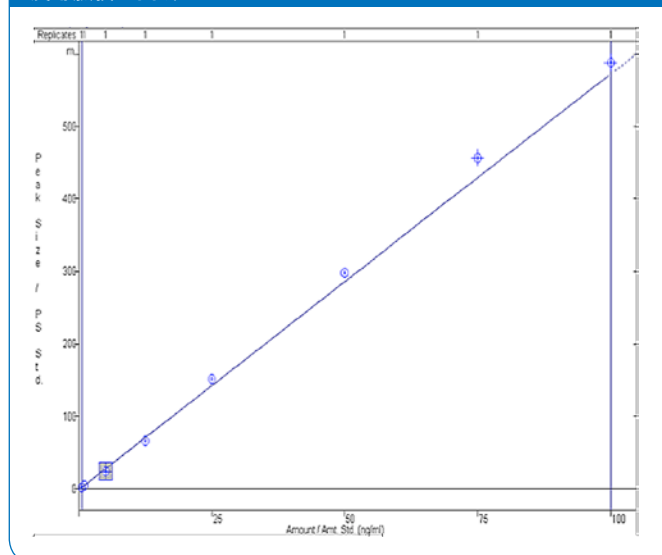


图2: 马尿液中0.05-100 ng/mL皮啡肽校正曲线图

作者

Rohan Thakur

感谢

加州大学戴维斯分校的Scott Stanley教授提供皮啡肽标准品和制备好的马尿液样品

Bruker Daltonics is continually improving its products and reserves the right to change specifications without notice. © Bruker Daltonics 09-2012, #704423

● Bruker Daltonik GmbH

Bremen · Germany
Phone +49 (0)421-2205-0
Fax +49 (0)421-2205-103
sales@bdal.de

www.bruker.com/ms

Bruker Daltonics Inc.

Billerica, MA · USA
Phone +1 (978) 663-3660
Fax +1 (978) 667-5993
ms-sales@bdal.com

Bruker Daltonics Inc.

Fremont, CA · USA
Phone +1 (510) 683-4300
Fax +1 (510) 490-6586
ms-sales@bdal.com