

本土化SCIEX Triple Quad™ 4500系统测定大鼠血浆中可电离脂质 SM-102

Quantitative Analysis of Cationic Liposomes SM-102 in Rat plasma by Localize SCIEX Triple Quad™ 4500 System

雷敏, 龙志敏, 郭立海

Lei Min, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX, 中国

Key word: Quantitation, LNP (Lipid nanoparticles), Cationic Liposomes SM-102, pharmacokinetics, Localize SCIEX Triple Quad™ 4500 System

引言

脂质纳米粒(LNP)是一种具有均匀脂质核心的脂质囊泡, 广泛用于小分子和核酸药物的递送, 近年来因其作为COVID-19mRNA疫苗递送平台的巨大成功而备受关注。目前, 经典的LNP的脂质成分通常包括四种: 可电离脂质(或阳离子脂质)、辅助脂质, 胆固醇, 聚乙二醇化脂质(PEG-脂质)^[1]。阳离子脂质体SM-102(Cationic Liposomes SM-102)作为mRNA疫苗的重要组成部分, 被用作脂质纳米颗粒(LNP)的一部分, 以增强疫苗的稳定性和有效性。其阳离子特性可以与mRNA的负电荷相互作用, 形成稳定的复合物, 进而保护mRNA并使其能够有效地进入人体细胞。其次, SM-102还可以用于其他核酸药物的递送。通过作为载体, SM-102可以改善核酸药物的稳定性, 防止其被外界降解, 并促进其在体内的靶向输送。这种脂质体配方已被证明能有效地将生物活性物质如小分子药物、蛋白质和核酸运输到细胞和/或细胞内隔室^[2]。随着脂质纳米颗粒(LNP)的应用越来越多, 脂质纳米颗粒中的成分在体内的药代动力学研究也逐渐受到该研究领域的企业和学者的关注。因此, 本方案在高效液相串联质谱仪上开发液质方法和前处理方法为血浆中测定SM-102提供参考。

本文中实验方法特点

本方法使用本土化SCIEX Triple Quad™ 4500系统进行定量, 方法特点如下:

- 1、使用本土化SCIEX Triple Quad™ 4500系统, 建立6 min 色谱梯度, 实现高通量定量分析。
- 2、方法灵敏度高(血浆中定量下限LOQ: 0.1 ng/mL); 标准溶液线性范围宽(0.1~200 ng/mL, 2000倍线性范围); 线性关系良好(相关系数0.999); 不同浓度的QC样本重现性好(低、中、高不同浓度的RSD均在2.24%以内), 表明仪器和方法重现性好。
- 3、该方案中包含的液质条件和前处理方法均可为血浆中测定SM-102提供参考。

实验方法

1、仪器设备



图1. ExionLC™ AE系统和SCIEX LC-MS/MS系统

2、液相条件

液相：SCIEX ExionLC™ AE系统

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (2.1 × 100 mm, 2.6 μm)

流动相A相：水:甲醇:乙腈=2:1:1(含 0.1%甲酸& 1 mmol/L乙酸铵)

B相：乙腈:异丙醇=1:1(含 0.1%甲酸)

流速：0.5 mL/min

柱温：45 °C

进样体积：5 μL

梯度洗脱程序如表1:

表1. 液相梯度条件

时间 (min)	A%	B%
0	55	45
2.5	5	95
4.0	5	95
4.1	55	45
6.0	55	45

3、质谱条件

本土化SCIEX Triple Quad™ 4500系统

数据采集方法：MRM (多反应监测)

离子源：ESI+源

离子源参数：

气帘气CUR：30psi IS电压：5500V

源温度 TEM：550°C 雾化气Gas1：55psi

辅助气Gas2：55psi 碰撞气 CAD：Medium

SM102化合物结构式如下，图2:

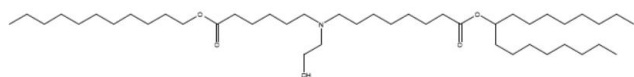


图2. SM102结构式

多反应监测离子通道如表2

表2. MRM离子对信息

化合物	母离子Q1 (m/z)	子离子Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
SM102	710.7	472.3	180	55

4、实验结果

灵敏度及线性考察

空白溶剂、空白血浆、0.1 ng/mL和200 ng/mL 标准溶液典型谱图见图3。从图3可以看出，空白溶剂和空白血浆中均无干扰，表明方法专属性好，特异性高。血浆中LOQ可低至0.1 ng/mL，表明仪器灵敏度高。该色谱条件下，色谱峰峰形良好。

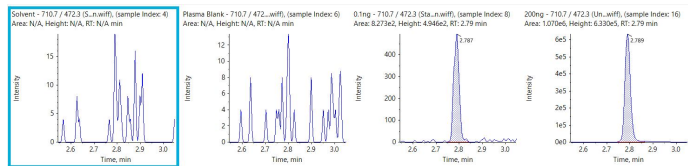


图3. 典型色谱图 (从左到右, 分别为空白溶剂、空白血浆、0.1 ng/mL和200 ng/mL标准溶液)

以甲醇作为溶剂配制不同浓度的标准溶液，并将标准溶液分别加入至一定量的大鼠血浆中，最终配制血浆浓度分别为0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 200 ng/mL。

前处理流程：分别取血浆标曲样本100 μL，加入300 μL乙腈，涡旋混匀，高速离心，取上清液进LC-MS/MS系统进行分析。

不同浓度的峰面积及线性回归方程见图4。从图4可见，0.1~200 ng/mL的浓度范围内，线性相关系数0.999，表明仪器的线性范围宽，且线性关系良好。不同浓度的回收率均在85.5-111.2% (见图4中Accuracy列)，满足生物样本对准确性的要求，表明仪器和方法的准确性高。

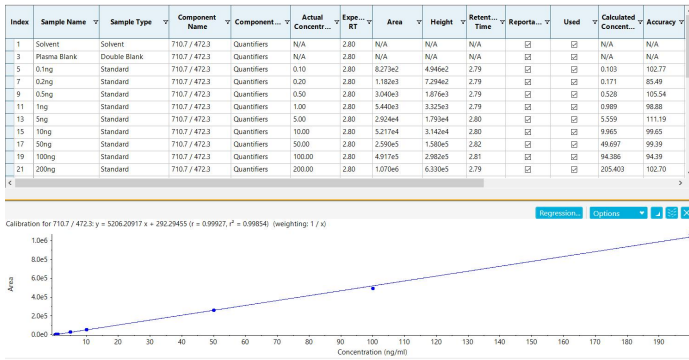


图4. 标准曲线和线性回归方程，线性相关系数 0.999

重现性

为考察方法和仪器的重现性，将低、中、高3个不同浓度点分别重复进样6次和3次，计算RSD。不同浓度的RSD均在2.24%以内（见图5中Percent CV列），远满足方法学中对重复性要求，表明仪器和方法的重现性好。

Index	Sample Name	Sample Type	Component Name	Component	Actual Concentration	Expected RT	Area	Height	Retention Time	Reports	Used	Calculated Concentration
25	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.236e3	2.169e3	2.81			0.577
27	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.307e3	2.091e3	2.81			0.579
29	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.287e3	2.041e3	2.81			0.575
31	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.281e3	2.216e3	2.82			0.570
33	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.320e3	2.027e3	2.81			0.583
35	0.5ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	0.50	2.80	3.253e3	1.981e3	2.81			0.569
37	10ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	10.00	2.80	5.885e4	3.608e4	2.81			11.248
39	10ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	10.00	2.80	5.944e4	3.599e4	2.81			11.361
41	10ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	10.00	2.80	5.694e4	3.381e4	2.82			10.880
43	100ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	100.00	2.80	5.456e5	3.882e5	2.82			100.537
45	100ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	100.00	2.80	5.110e5	3.107e5	2.82			98.104
47	100ng	Quality Control	710.7 / 472.3	Quantifiers	100.00	2.80	5.046e5	2.913e5	2.81			96.900

Row	Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviat.	Percent CV	Value #1	Value #2	Value #3	Value #4	Value #5
1	710.7 / 472.3	0.50	6 of 6	3.286e3	2.817e1	0.86	3.294e3	3.303e3	3.289e3	3.261e3	3.320e3
2	710.7 / 472.3	10.00	3 of 3	5.841e4	1.309e3	2.24	5.885e4	5.944e4	5.694e4		
3	710.7 / 472.3	100.00	3 of 3	5.114e5	6.873e3	1.34	5.185e5	5.110e5	5.046e5		

图5. 不同浓度点峰面积、保留时间及RSD结果列表

5、结论

本方案中使用本土化SCIEX Triple Quad™ 4500系统，建立6 min 色谱梯度，实现高通量定量分析。该方法中空白溶剂和空白血浆均无干扰，专属性好，特异性高；血浆LOQ低至0.1 ng/ml，表明仪器灵敏度高；线性范围为0.1 -200 ng/ml，线性范围宽，线性关系良好；不同浓度点重复进样的RSD均在2.24%以内，表明仪器和方法的重现性和稳定性好。该方案中包含的液质条件和前处理方法为纳米脂质体药物中阳离子脂质SM-102的血药浓度检测提供参考。

参考文献和资料

- [1]. 深度解析脂质纳米粒(LNP)如何递送RNA药物，教你如何按需设计LNP! <https://zhuanlan.zhihu.com/p/470589382>
- [2]. SM-102核酸疫苗药物递送改善稳定性脂质纳米颗粒 (LNP) mRNA疫苗, <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1797019604067531541&wfr=spider&for=pc>

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美利和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2024 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-31687-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)