

使用聚合固相萃取 **Bond Elut Plexa** 柱分析血液中的酸性药物（宋体 15）

姓名

单位

前言（宋体 12）

从生物流体中萃取酸性药物一直是生化分析领域的难题。一般方法中，在分析碱性药物时通常采用阳离子交换 SPE 技术，可以得到较好的分析结果，但是在酸性药物分析方面，由于血液中以及其它生物流体中会存在磷酸盐，柠檬酸盐以及多种硫酸盐等大量的阴离子，会在阴离子交换 SPE 柱上保留，对酸性分析物的分析造成干扰。因此采用阴离子 SPE 技术萃取，无法得到理想的萃取结果。而对于阳离子交换 SPE 分析，由于生物流体内在的阳离子多为钠离子和钾离子等较小、极性也较强的金属离子，在离子交换时不容易保留，所以一般不影响萃取结果。

因此分析酸性的分析物时，最好采用非极性的萃取方式来取代阴离子交换萃取方式，为了达到良好的萃取效果，可以采用酸性条件下上样而使目标分析物中和（质子化）。

由于在 SPE 分析时，采用非极性保留模式的选择性比离子交换模式要小。另外此种萃取模式在结合 LC-MS 分析技术时还要考虑干扰的存在和离子抑制效应。

安捷伦公司的独特的聚合 SPE 固定相，是分析酸性化合物的最好地选择。在聚合物的表面存在极性梯度，可以更好地分流小分子的目标分析物以及中和酸，到达聚合物疏水中心，并使它们得到较好的保留；而在聚合物表面具有较高的极性但不含有氨基，因此可以使蛋白质在表面的粘和降到最低，从而得到纯净的目标萃取物。基于以上原理，**Bond Elut® PlexaTM**SPE 对于血液中酸性药物的分析是一种简单而又有效的萃取技术。

样品前处理

试剂和溶液

1% 甲酸：10μl 浓甲酸加入到 1ml 的去离子水中

甲醇：色谱级或更高

5%的甲醇溶液：5ml 的甲醇加入到 95ml 的去离子水中

100μL 人体血液加入 300 μL 1%甲酸水溶液进行稀释

SPE 净化过程

Bond Elut® Plexa
10 mg 96-孔板(P/N A4969010)

活化 500 μL 甲醇, 500 μL 水
上样 10mL 样品溶液, 重力自流
淋洗 500 μL 5% 甲醇水溶液
洗脱 500 μL 甲醇
收集的洗脱液蒸发至干, 以 100ul 的 80:20 的 5mM 甲酸铵: 甲醇溶液溶解

液相色谱条件

流动相:

A 5mM 甲酸铵

B 甲醇

LC 梯度洗脱程序

时间	%B
0:00	40
0:15	40
1:00	80
3:00	80
4:30	40

色谱柱: Pursuit C18 3μm 50×2.0mm(P/N A6001050X020)

柱流速: 0.2ml/min

质谱条件

仪器: Agilent 320 LC-MS/MS

离子化模式: ESI-

干燥气: 250° C, 25psi

人体血液中的酸性药物分析色谱图

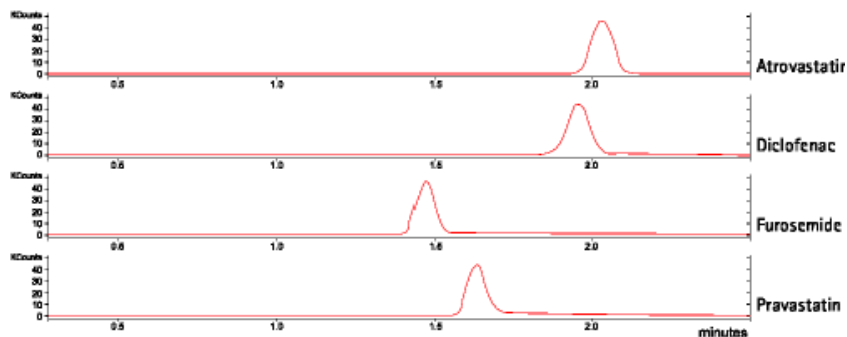


图 1, 50 ng/mL 人体血液中的酸性萃取物的色谱图

酸性药物回收率结果

药物	2ug/ml		5ug/ml		R ²
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	
阿托他汀	91	10	100	9	0.9967
扶他林	97	6	100	5	0.9995
呋塞米	95	5	100	2	0.9983
普伐他汀	95	8	100	7	0.9986

结果讨论

SPE 结合 LC-MS-MS 分析人体血液中的酸性药物, 内标物使用浓度为 100ng/ml 的萘普生, 最低检测限为 5.0ng/ml。6 次重复近样, 可以得到良好的回收率和 RSD 值, 见表 1。

实验证明, Bond Elut® Plexa 先进的聚合体技术对酸性药物有良好的保留和洗脱能力, 同时又使离子抑制效应降至最低。在从 5.0ng~5.0 μg/ml 浓度范围内保持良好的线性相关, 实验中所涉及的药物 RP^{2P} 值均在 0.995 以上。图 1 为浓度为 50ng/ml 人体血液中所萃取目标分析物的色谱图。表 1 中给出了两种浓度 6 次重复的回收率和重现性结果。

由图 1 和表 1 数据可见, 使用 Bond Elut® Plexa 取代常规混合模式的以及其它复杂的离子交换吸附剂来分析萃取人体血液中的酸性药物。使用方法简单; 在淋洗液中无需加缓冲液, 而且对 logP 在 1.5~6.3 的较宽极性范围内的化合物均可以达到较好的回收率和高结果重复性。由于聚合体优秀的性能大大提高了分析方法的灵敏度和重现性, 同时简化了固相萃取方法。因此 Bond Elut® Plexa 更适合高通量分析的实验室使用, 在保证数据质量和重现性的前提下, 简化了方法开发过程。