

# 安捷伦Bond Elut Plexa PCX—阳离子交换固相萃取柱

## 降低离子抑制效应，提高液质对于生物样品的分析灵敏度

### 应用简报

生物制药

### 作者

Mike Chang  
Agilent Technologies, Inc.  
25200 Commercentre Drive  
Lake Forest, CA 92630  
USA

### 前言

在医药行业药物研发的整个过程中，开发和验证快速而又不损失灵敏度的生物分析方法是很关键的。离子抑制效应是最常遇到的问题，它能导致较差的回收率和精确度，以及增加仪器维护成本和时间。对于生物样品的分析，离子抑制是无法彻底避免的，但是应该尽可能地降低。

安捷伦Bond Elut Plexa PCX的吸附剂表面有一层羟基界面，而其他品牌的产品对应的是酰胺残基。酰胺残基的存在会增加固相萃取吸附剂与生物样品中内源性物质的相互反应，会直接导致离子抑制效应。凭借吸附剂表面的羟基基团，Bond Elut Plexa PCX降低了吸附剂与生物样品中内源性物质的相互反应，从而提高了分析灵敏度。下面的实验数据清晰地证明，具有单层分散聚合物的Bond Elut Plexa PCX降低了离子抑制效应，提高了灵敏度。



**Agilent Technologies**

## 试验材料和方法

### 固相萃取试剂和溶液

2% 磷酸	加20 $\mu\text{L}$ 磷酸至1 mL 水中
2% 甲酸	加20 $\mu\text{L}$ 甲酸1 mL水中
甲醇	试剂纯或更高
50:50甲醇:乙腈	1 mL 甲醇和1 mL 乙腈混合
含5%氨水的50:50 甲醇:乙腈	加50 $\mu\text{L}$ 的稀氨水至1 mL 50:50甲醇:乙腈溶液中

### 固相萃取方法

所有的样品都用同样的固相萃取方法进行处理

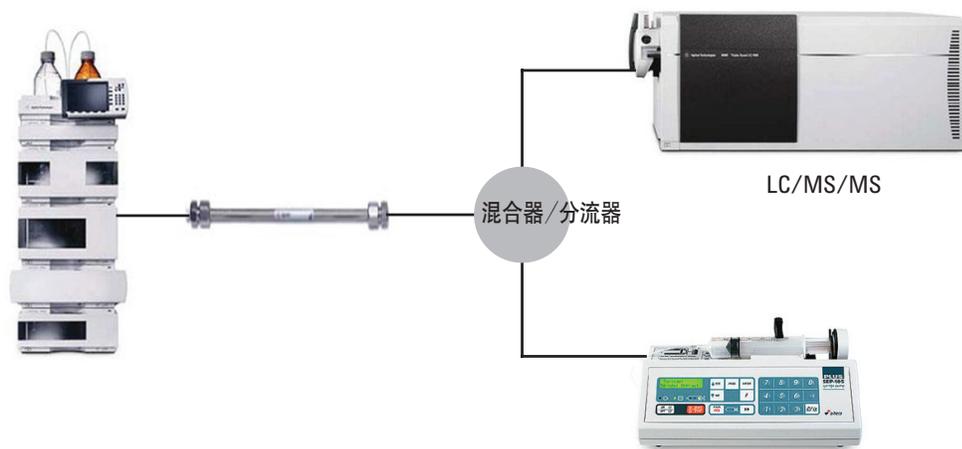
固相萃取产品	安捷伦Bond Elut Plexa PCX 96孔板 (10 mg) (p/n A4968010) W品牌 96孔板 (10 mg) P 96品牌 96孔板 (10 mg)
样品	100 $\mu\text{L}$ 人血浆 <sup>1</sup>
预处理	用300 $\mu\text{L}$ 2% 甲酸稀释血浆
活化	1. 500 $\mu\text{L}$ 甲醇 2. 500 $\mu\text{L}$ 水
上样	400 $\mu\text{L}$ 经稀释的样品 (血浆的实际体积是 100 $\mu\text{L}$ )
淋洗	1. 500 $\mu\text{L}$ 2% 甲酸 2. 500 $\mu\text{L}$ 50:50 乙腈:甲醇
洗脱	250 $\mu\text{L}$ 5%氨水的50:50 乙腈:甲醇溶液洗脱两次

## 实验设计

为了进行离子抑制的比较, 用注射泵以每分钟20微升的速度将药物化合物溶液 (浓度为50 ng/mL) 连续注入液质。对空白血浆样品进行注射进样。空白血浆分别用安捷伦Bond Elut Plexa PCX和两个竞争对手品牌的固相萃取柱处理。选择 184  $\rightarrow$  184的MS离子对来监测脂质化合物。

### 液相色谱分析条件

色谱柱	安捷伦Poroshell 120 EC-C18, 2.1 $\times$ 5.0 mm, 2.7 $\mu\text{m}$ (p/n 699775-902)	
液质联用仪	Agilent 1260 Infinity LC/MS	
A	0.1% 甲酸溶液	
B	0.1% 甲酸的甲醇溶液	
流速	0.4 mL/min	
进样体积	10 $\mu\text{L}$	
梯度	时间 (min)	%B
	0	10
	4.0	90
	4.1	10
	6.5	10
温度	样品 (25 $^{\circ}\text{C}$ ), 色谱柱 (室温)	
离子源	喷射流技术ESI	
干燥气温度	350 $^{\circ}\text{C}$	
干燥气流速	10 L/min	
雾化气压力	35 psi	
鞘流气温度	400 $^{\circ}\text{C}$	
鞘流气流速	12 L/min	
毛细管电压	4000 V	



空白血浆进样

注射泵: 药物混合溶液连续进样  
(药物浓度为50 ng/mL, 流速为20  $\mu\text{L}/\text{min}$ )

图1. 离子抑制效应比较分析实验示意图

1. 利用血浆样品基质中添加不同浓度的药物化合物建立校正曲线和检测回收率。  
用经过固相萃取处理过的空白血浆进行离子抑制比较分析

表1. 样品

	pKa	log P	MS/MS 离子对	碰撞能量	碎裂电压
醋丁洛尔	9.40	1.71	337.2 → 116.1	20	128
雷尼替丁	8.20	0.27	315.2 → 176.1	12	92
纳多洛尔	9.67	0.81	310.2 → 254.1	12	92
阿替洛尔	9.60	0.16	267.2 → 190.1	12	92
普萘洛尔	9.42	3.48	260.2 → 116.2	16	92
普鲁卡因胺	9.32	0.88	236.2 → 120.1	16	92
美托洛尔 (内标)	9.70	1.90	268.2 → 116.2	16	92

## 结果与讨论

如图2所示, 所有的化合物都得到了很好地分离。如图3所示, 降低离子抑制将得到更高的灵敏度。图中所示是经过三种固相萃取处理的血浆样品的提取离子流色谱图, 进样方式是样品溶液用注射泵连续导入, 同时对空白血浆进行注射进样。数据清楚地显示安捷伦Bond Elut Plexa PCX相比其它两种类型的固相萃取柱, 能够显著降低离子抑制效应。

利用Bond Elut Plexa PCX获得了优异的检测限和定量限。在三个浓度水平下(低、中和高浓度, n = 6)进行了回收率实验, 数据总结于表1中。结果显示其回收率和精密度(% RSD)结果都非常好。用9个浓度水平进行了线性校正曲线的测定(0.01 – 100 ng/mL), 所有组分都具有优异的线性度, 其线性相关系数 $R^2 \geq 0.995$  (图4)。

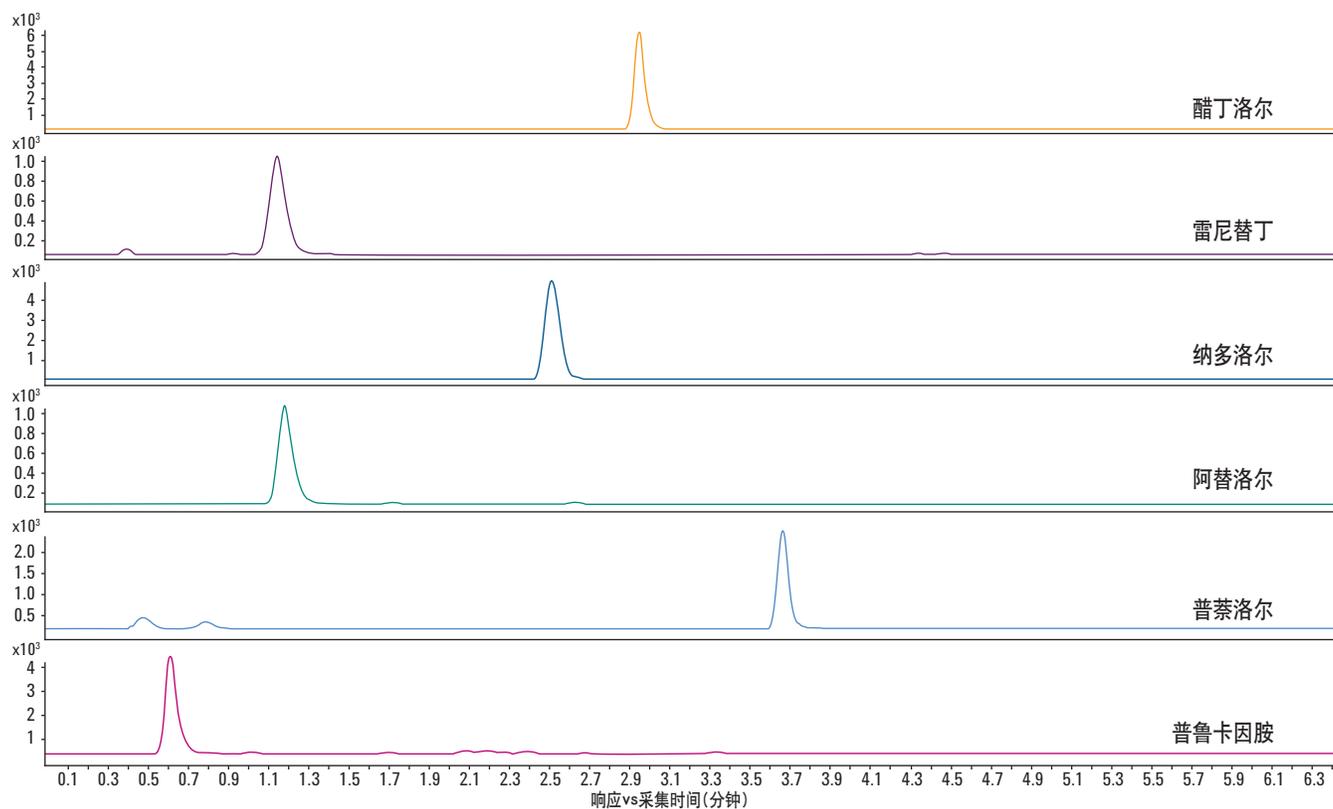


图2. 采用安捷伦Bond Elut Plexa PCX处理的标样添加(每个标样的浓度均为5 ng/mL)血浆样品的质谱图

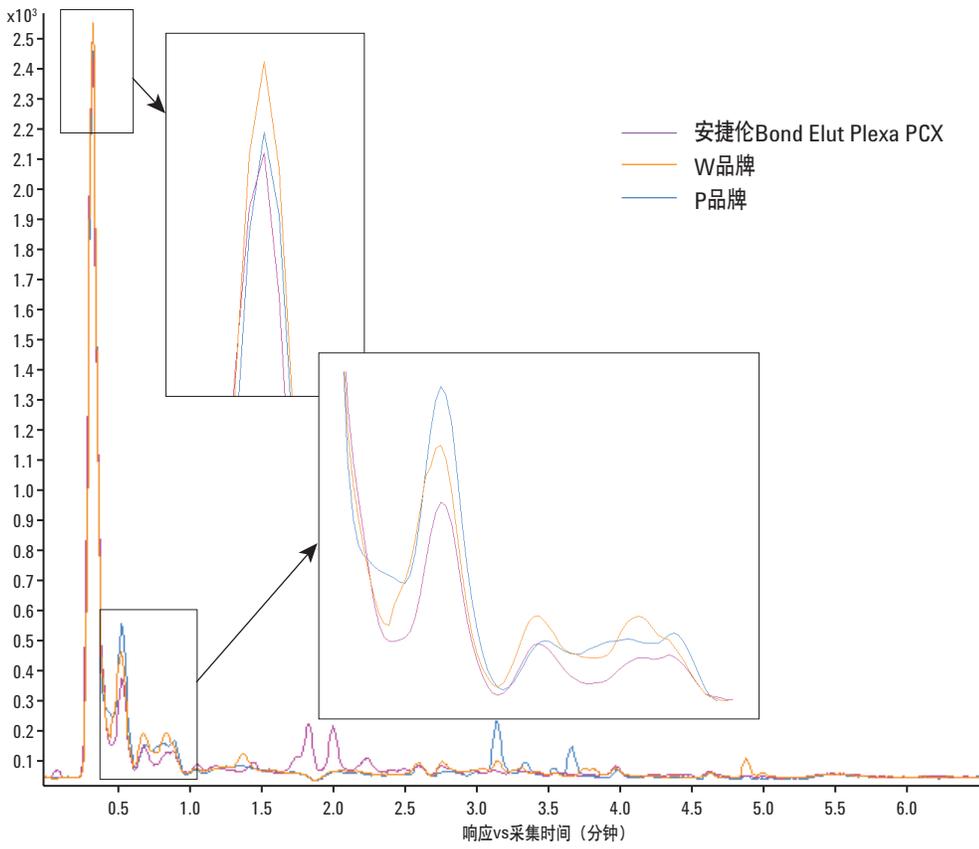
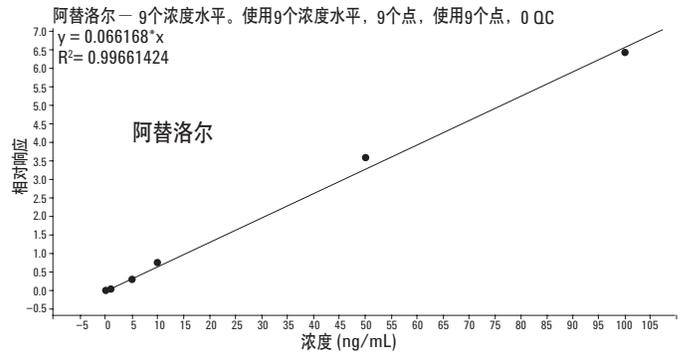
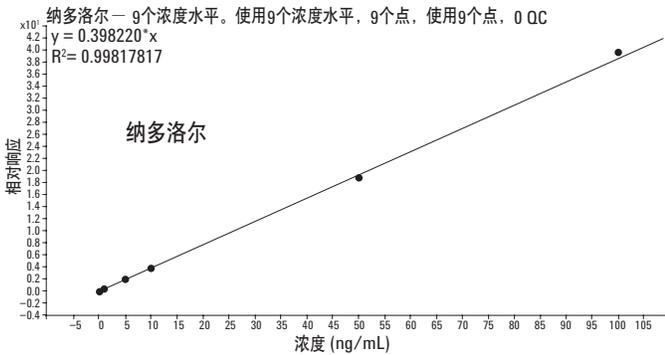
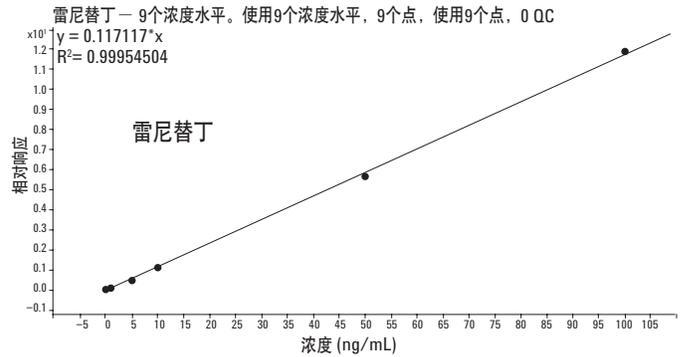
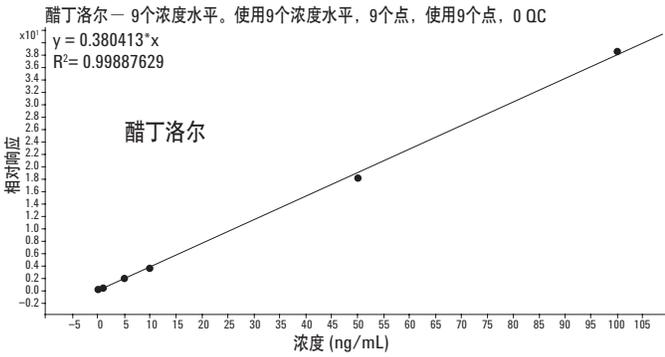


图3. 用184 → 184 m/z监测空白血浆样品中的脂质化合物



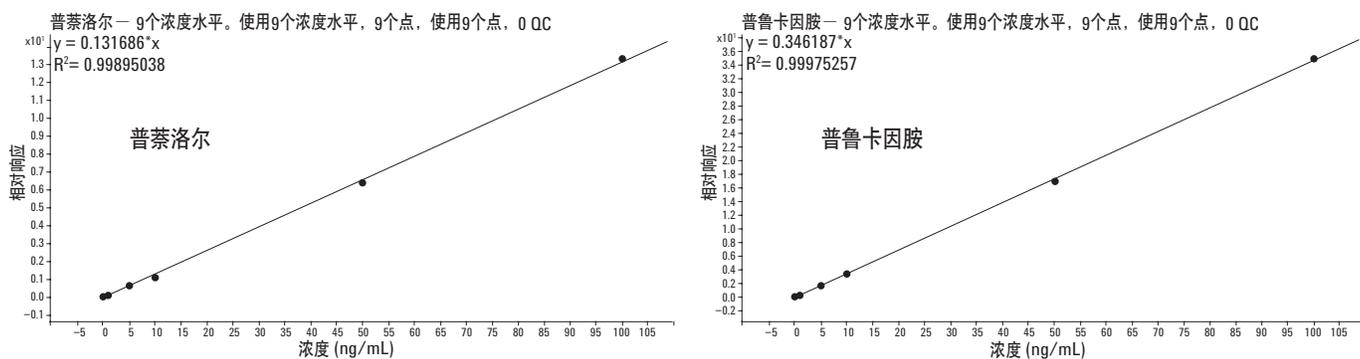


图4. 9个浓度水平下(0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50和100 ng/mL)的6个阻断剂的校正曲线

表2. 安捷伦Bond Elut Plexa PCX数据汇总

	pKa	log P	检测限LOD (ng/mL)	定量限LOQ (ng/mL)	5 ng/mL 回收率	% RSD	50 ng/mL 回收率	% RSD	100 ng/mL 回收率	% RSD	线性相关系数, R <sup>2</sup>
阿替洛尔	9.60	0.16	0.05	0.1	109.0	1.2	95.6	2.3	95.5	3.3	0.997
纳多洛尔	9.67	0.81	0.01	0.05	110.8	1.4	120.7	1.5	95.4	1.6	0.998
醋丁洛尔	9.40	1.71	0.01	0.1	113.9	0.9	108.6	2.0	98.7	2.4	0.999
普萘洛尔	9.42	3.48	0.05	0.1	120.2	1.1	103.5	2.7	93.6	2.5	0.999
普鲁卡因胺	9.32	0.88	0.05	0.1	93.0	2.1	104.5	1.8	96.9	3.9	1
雷尼替丁	8.20	0.27	0.05	0.1	90.7	1.9	96.4	2.7	91.1	3.9	1

## 结论

与其他品牌的固相萃取产品相比, 安捷伦Bond Elut Plexa PCX固相萃取柱降低了离子抑制效应, 实现了更高的分析灵敏度。灵敏度的改善带来了低检测限 (LOD 0.01 – 0.05 ng/mL) 和定量限 (LOQ 0.05 – 0.5 ng/mL)。此外, 还获得了优异的线性度( $R^2 \geq 0.995$ )、回收率以及精密度 (% RSD)。

## 更多信息

这些数据代表典型的结果。更多有关产品和服务的信息, 请浏览我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息、描述和性能指标如有更改，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011

中国印刷

2011年7月15日

5990-8400CHCN



**Agilent Technologies**