

# 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

小分子药物与仿制药

### 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	

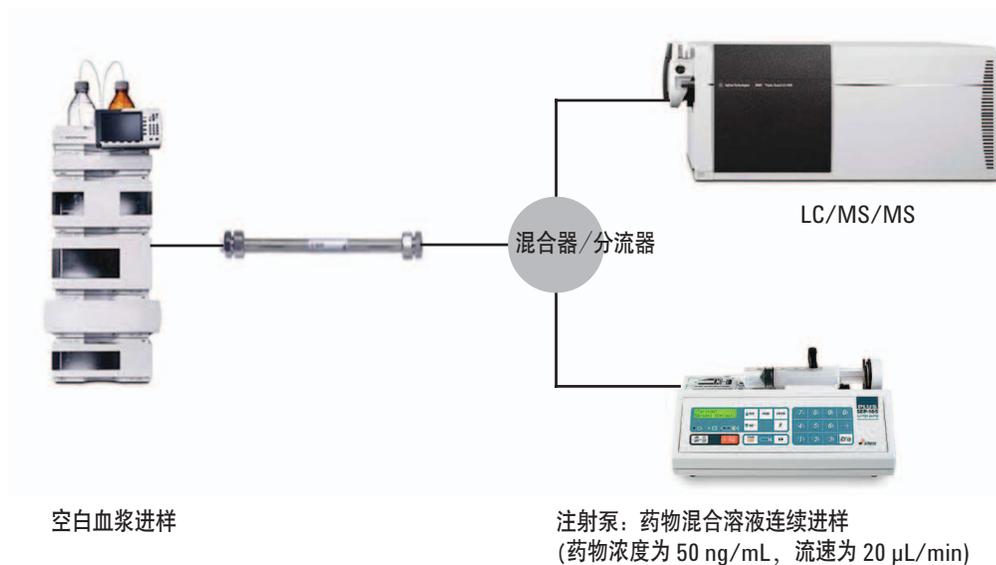


图 1. 离子抑制效应比较分析实验示意图

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)。

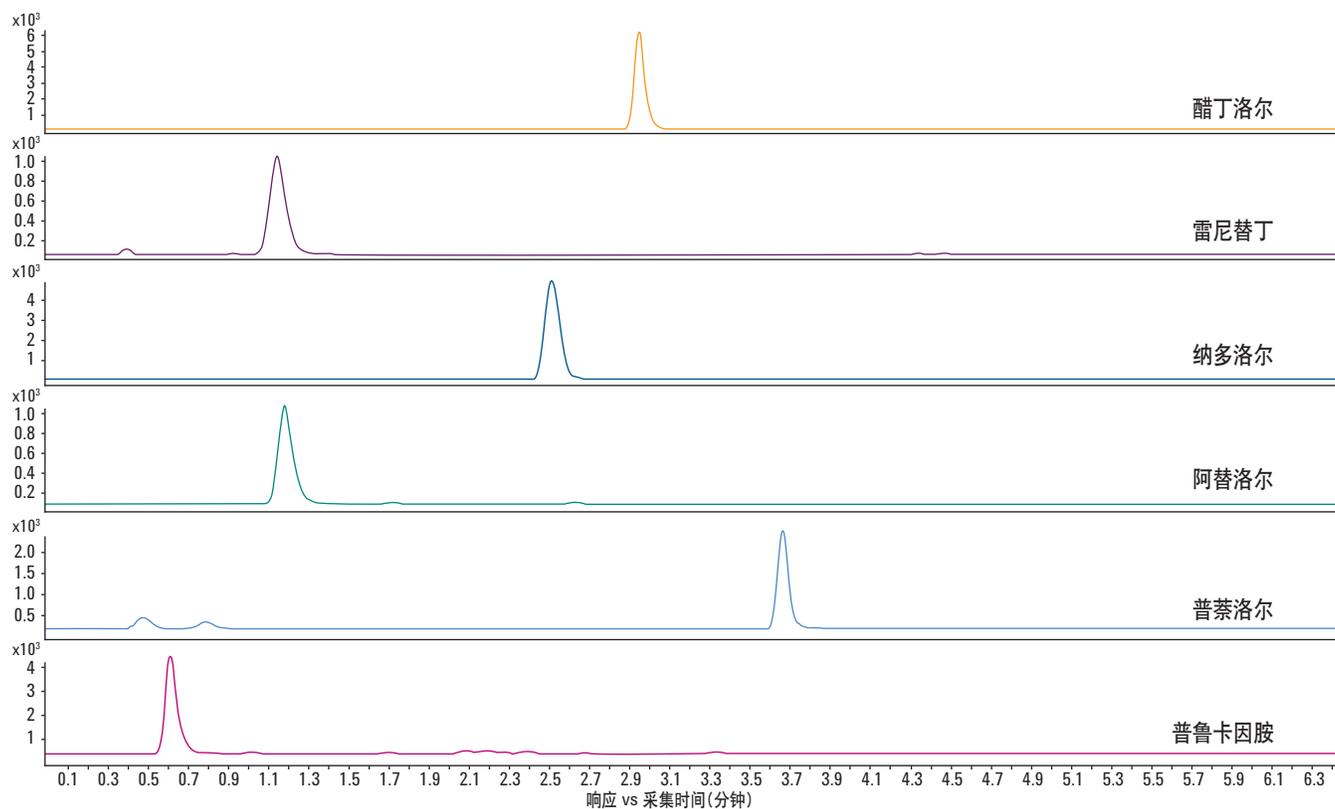


图 2. 采用安捷伦 Bond Elut Plexa PCX 处理的标样添加 (每个标样的浓度均为 5 ng/mL) 血浆样品的质谱图

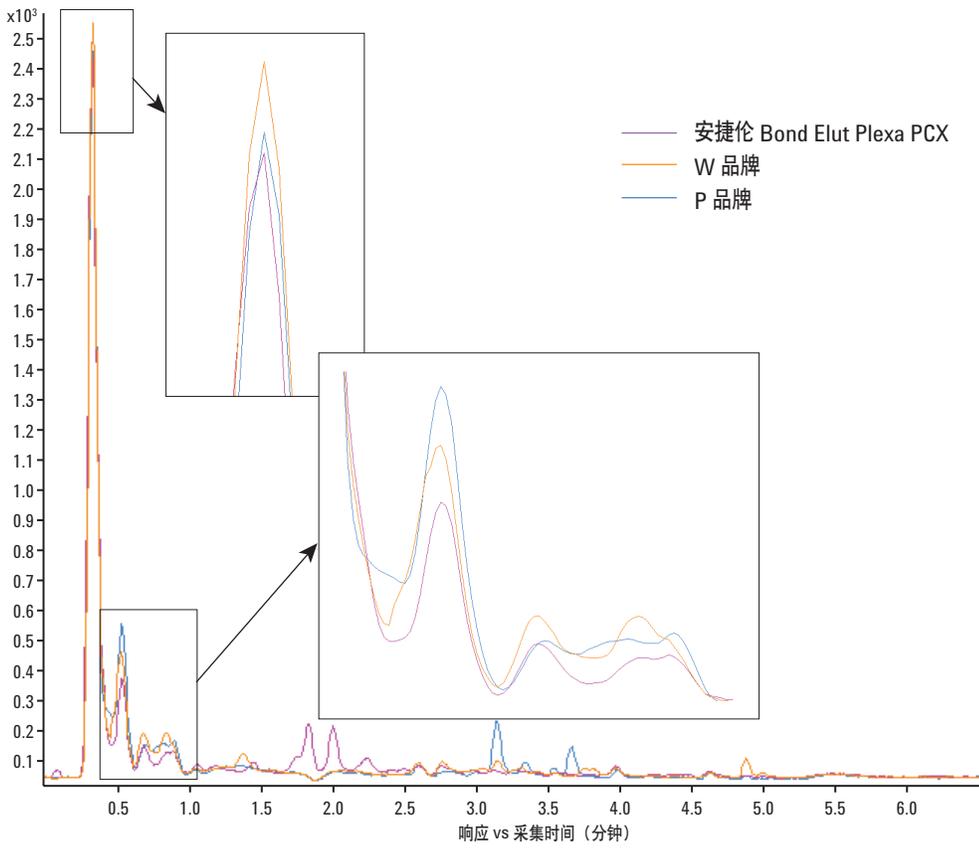
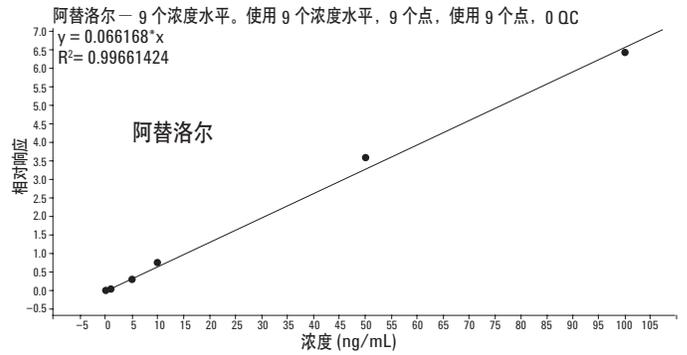
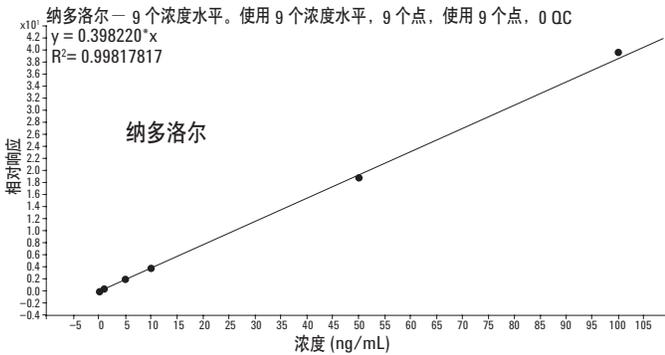
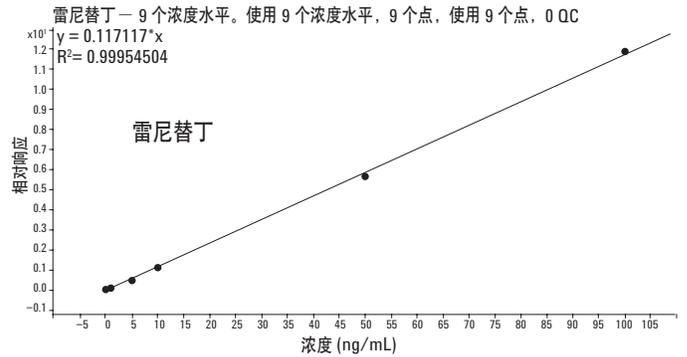
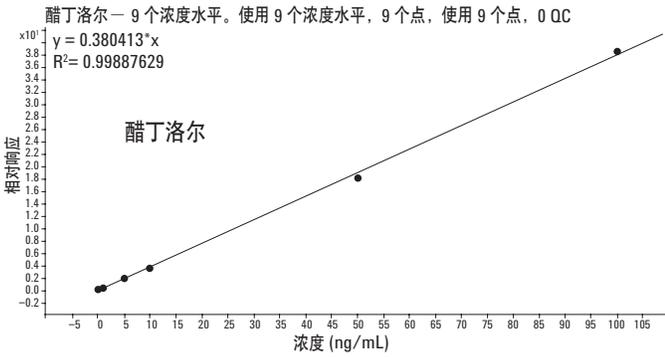


图3. 用184 → 184 m/z监测空白血浆样品中的脂质化合物



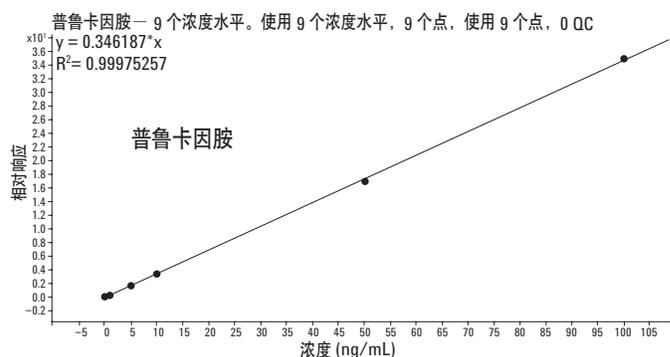
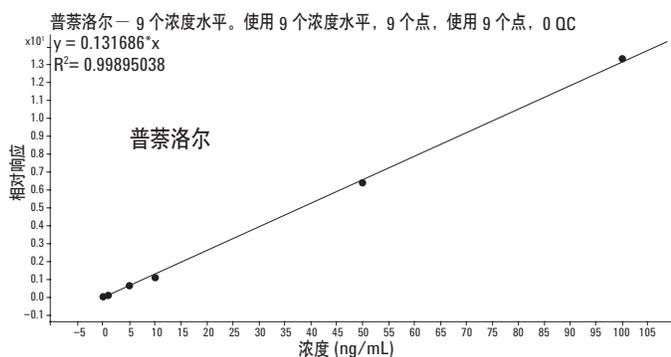


图 4. 9 个浓度水平下 (0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50 和 100 ng/mL) 的 6 个阻断剂的校正曲线

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，2013

2013 年 12 月 1 日，中国印刷

5990-8400CHCN



**Agilent Technologies**