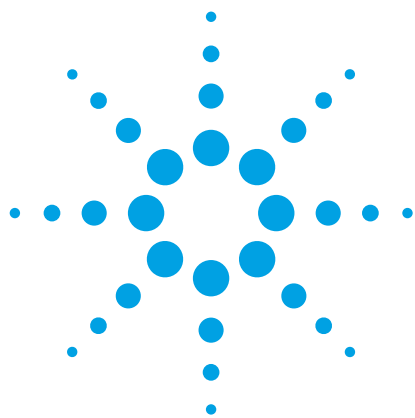




固相支持液液萃取 (SLE) 在 LC/MS/MS 生物分析领域中的应用

应用简报

制药

作者

Mike Chang
安捷伦科技公司

摘要

固相支持液液萃取 (SLE) 技术的操作简便，因此是一种常用的样品制备方法。由于不需要进行平衡和冲洗步骤，可大幅减少样品制备时间。如果采用 SLE 作为样品制备技术，并与 UHPLC 系统联用，那么将会极大地提高实验室通量，且不会影响数据的准确度和精确度。

前言

通常以阳离子交换固相萃取 (SPE) 法对含有碱性药物成分的生物样品进行制备。研究人员也一直在寻找更为简便的样品处理方法以提高生物分析的通量。Agilent VersaPlate SLE 多孔板是应对大量样品的理想解决方案，因为其避免了 SPE 方法中许多常规的必须步骤，例如调节、平衡和冲洗步骤。

本应用简报选择人类血浆作为生物样品基质。并使用 VersaPlate SLE 作为实际实验室方案，通过精确度和准确度数据展示了其性能和适用性。



Agilent Technologies

材料与方法

甲醇为 LC/MS 级。将 1 mL 甲酸加入 1 L 甲醇中制备含有 0.1% 甲酸的甲醇溶液；将 1 mL 甲酸加入 1 L 水中制备含有 0.1% 甲酸的水溶液。

下文列出了采用 Agilent VersaPlate SLE 分离 β 阻断剂的样品制备程序。

1. 用 2% 氨水 1:1 稀释加标后的血浆
2. 将 0.3 mL 加标稀释后的血浆加载到 VersaPlate 中
3. 应用微真空使样品开始流动，直至所有样品被吸附剂所浸润，然后停止真空
4. 等待 5 分钟，待样品吸附
5. 在微真空条件下，用 0.9 mL 乙酸乙酯洗脱两次
6. 蒸干并复溶于 0.15 mL 初始流动相中

条件

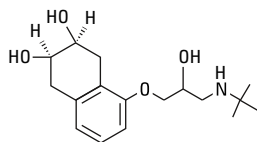
色谱柱：	Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl 色谱柱， 2.1 x 100 mm, 3.5 μ m (部件号 959793-912)	
样品制备：	Agilent VersaPlate 预装 96 孔板，含 Hydromatrix 和 ChemElut, 260 mg (部件号 75430260)	
样品：	参见表 1	
洗脱液：	A, 0.1% 甲酸 B, 甲醇 + 0.1% 甲酸	
进样量：	3 μ L	
流速：	0.6 mL/min	
梯度：	时间 (min)	% B
	0	30
	2	30
	3.5	80
	4.5	80
	4.6	30
	7	30
LC/MS/MS:	Agilent 1290 Infinity LC 与 Agilent 6460 三重四级杆 LC/MS 联用系统	
干燥气：	300 °C, 7 L/min	
鞘气：	325 °C, 8 L/min	
雾化器压力：	45 psi	
毛细管：	3,500 V (正)	
喷嘴电压：	0 V	

表 1. 所研究的 β 阻断剂

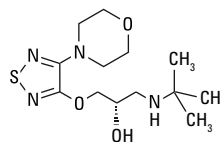
	纳多洛尔	心得乐	美托洛尔	噻吗心安	醋丁洛尔 (内标)
log P	0.81	1.75	1.6	1.83	1.71
pKa	9.67	9.25	9.68	9.21	9.20
MRM	310.2 $\rightarrow$ 254.1	249.2 $\rightarrow$ 116.2	268.2 $\rightarrow$ 56.1	317.2 $\rightarrow$ 74.2	337.2 $\rightarrow$ 116.2
碰撞能量	12	12	28	20	16

结构

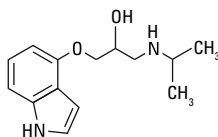
纳多洛尔



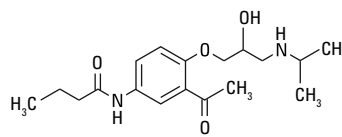
噻吗心安



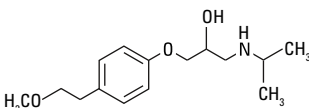
心得乐



醋丁洛尔



美托洛尔



结果与讨论

所有化合物均通过 Eclipse Plus Phenyl-Hexyl 色谱柱实现了很好的色谱分离 (图 1)。在 0.1 至 100 ng/mL 的整个校正范围内, 得到了线性极好 ($R^2 \geq 0.995$) 的校正曲线 (图 2)。

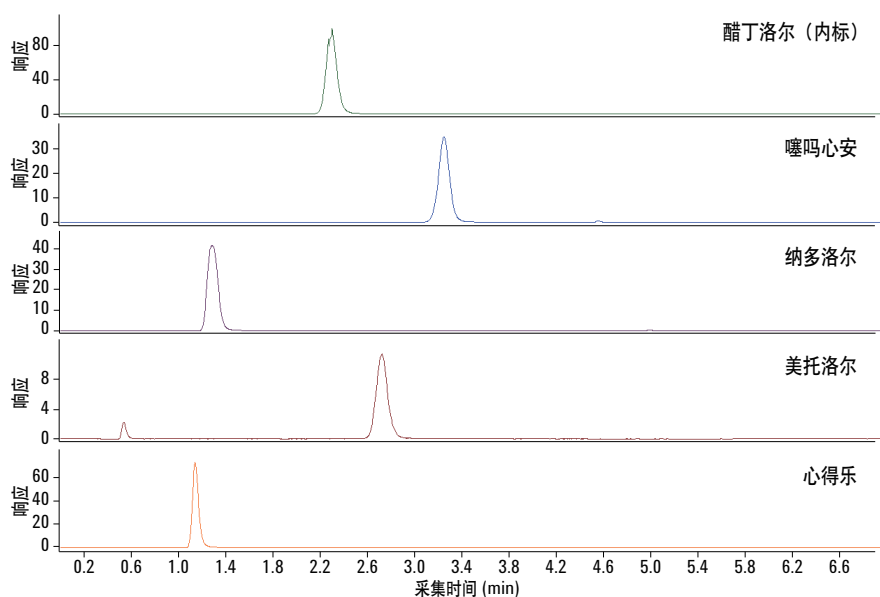


图 1. 人类血浆样品中加入 β 阻断剂后获得的 MS 色谱图

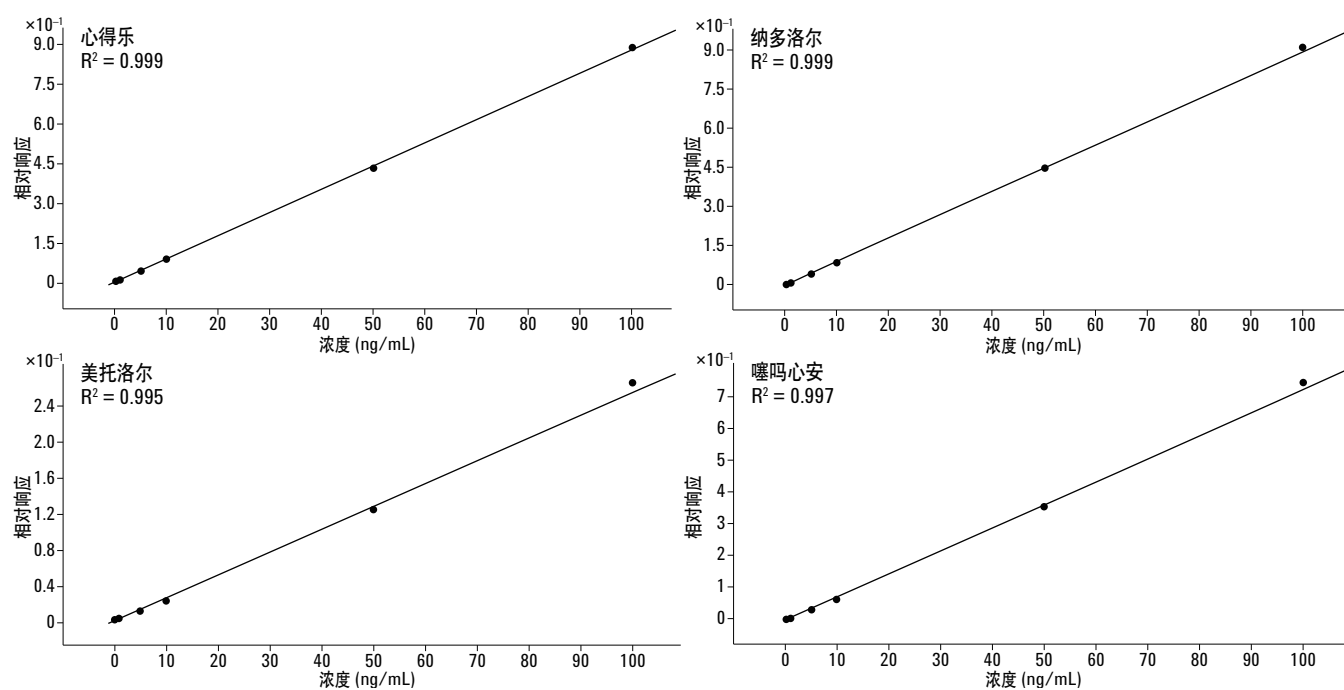


图 2. 人类血浆中五种 β 阻断剂的校正曲线, 浓度在 0.1 至 100 ng/mL 范围内 (七个数据点)

低、中、高浓度下的回收率在 81.6 至 105.8% 之间（每个浓度下 n=8）。此外，该研究的 %RSD 较低（约为 4.5%），表明精确度和重现性良好，也进一步证明了 SLE 多孔板的适用性（表 2）。

结论

对于样品量较小，同时样品数量很大的人类血浆样品，Agilent VersaPlate 形式的 SLE 可实现完美操作。不同于常规的 SPE 样品制备方法，SLE 无需进行调节、平衡或冲洗步骤。由于是采取液液萃取的方式，但无需特殊的玻璃器皿或重复的萃取步骤，只需在 VersaPlate 形式的 SLE 中进行简单的过滤，固相支持的液液萃取已成为获取可重复性数据的极佳方法。

更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：

www.agilent.com/chem/cn

表 2. 定量限、校正曲线线性 (R^2)、回收率及 %RSD 汇总数据（每个浓度 n=8）

	LOQ (ng/mL)	线性系数, R^2	5 ng/mL (低)		50 ng/mL (中)		100 ng/mL (高)	
			% 回收率	%RSD	% 回收率	%RSD	% 回收率	%RSD
纳多洛尔	0.5	0.9988	81.6	3.28	93.7	2.40	97.0	3.64
心得乐	0.5	0.9994	95.4	4.45	101.4	4.23	104.4	2.59
美托洛尔	0.5	0.9950	86.2	3.31	98.0	1.47	105.3	1.32
噻吗心安	0.5	0.9971	87.1	2.24	99.7	1.93	105.8	1.36

www.agilent.com/chem

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013

中国印制

2013 年 2 月 13 日

5991-1998CHCN



Agilent Technologies