

# 使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 净化产品对人血浆和血清中的滥用药进行 LC/MS/MS 定量测定

## 作者

Limian Zhao  
安捷伦科技公司

## 摘要

Agilent Captiva 增强型脂质去除产品 (EMR-Lipid) 是第二代 EMR 产品，采用便捷的 SPE 过滤柱或 96 孔板。本研究采用 96 孔板形式对人血浆和血清中的 24 种代表性滥用药进行 LC/MS/MS 定量测定。样品的前处理方法为：采用孔内蛋白质沉淀法 (PPT) 去除蛋白质，接着采用 Captiva EMR-Lipid 净化产品去除脂类。整个样品处理在 96 孔板中作为一个批处理执行，并通过离心和正压歧管验证样品的洗脱。整个批次流程简单易用，能够在两小时内完成样品板中 96 个样品的前处理。高效基质净化产品使磷脂去除率高于 99%，从而减小了基质离子抑制效应和系统污染。通过准确度和精密度的运行实现定量方法的验证，在三个 QC 浓度下均获得了优异的准确度 ( $100\% \pm 20\%$ ) 和精密度 ( $RSD < 20\%$ )。血浆和血清中的定量限 (LOQ) 为 0.1–0.5 ng/mL，且线性校准曲线的  $R^2 > 0.99$ 。用通常的人血基质（包括含各种抗凝血剂的血清和血浆）对该方法进行了交叉验证。

## 前言

在法医毒理学中，对快速可靠地筛查和定量测定生物样本中的滥用药物 (DoA) 的需求正在不断增加<sup>1,2</sup>。主要原因是滥用药物以及提交分析的样品数量日益增多。使用血液基质有以下几个优势：首先，药物一经摄入，能够在体内代谢或过滤之前立即进行检测。其次，由于生理参数的变化范围非常窄，血液相对均匀。再次，许多欧洲国家和美国一些州，在要求药驾 (DUID) 测试时指定用血液样品<sup>3</sup>。因此，可靠地定量测定血液基质中的 DoA 对于常规毒理学分析非常重要。

用于系统毒理学分析的样品前处理方法包括液液萃取 (LLE)、固相萃取 (SPE) 和固相支持液液萃取 (SLE)。然而，这些方法费力费时，并需要使用大量有毒溶剂。安捷伦增强型脂质去除产品 (EMR-Lipid) 所用的吸附剂是一种新型材料，能够选择性去除样品基质中的主要脂类且不会造成分析物损失。其脂质去除机制是基于脂质与 EMR 吸附剂之间的体积排阻和疏水相互作用。第二代 Captiva EMR-Lipid 吸附剂以 SPE 过滤柱/板形式包装，只需对样品进行直通式洗脱即完成净化，留在溶液中的溶质可供分析。研究表明，使用 Captiva EMR-Lipid 96 孔板进行孔内蛋白质沉淀 (PPT)，随后进行直通式净化，能够有效去除生物体液中的磷脂，并实现人血清中代表性药物的定量测定<sup>4,5</sup>。

在之前的研究中，建立了孔内 PPT 和 Captiva EMR-Lipid 板净化的方法，并针对人全血中流行的 DoA 分析进行方法验证<sup>6</sup>。本研究中，将一种类似的方法应用到不同的血液基质（包括血清和血浆）中。目标分析物的化学特性和结构列于之前的应用简报中<sup>6</sup>。该方法采用了一天的准确度和精密度测试以及分析物回收率和基质效应评估，就每种血液基质进行了交叉验证。

## 实验部分

### 试剂与化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。乙腈 (ACN) 购自 Honeywell (Muskegon, MI, USA)。试剂级甲酸 (FA) 来自安捷伦 (部件号 G2453-85060)。乙酸铵和氢氧化铵购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。混合 DoA 标准储备液 (1 µg/mL，溶于甲醇 (MeOH) 中) 来自安捷伦 (部件号 5190-0470-1)。人血清、肝素锂抗凝人血浆、柠檬酸钠抗凝人血浆以及 EDTA 二钾抗凝人血浆来自 Biological Specialty Corp. (Colmar, PA, USA)。内标 (IS) 储备液 (1 mg/mL，溶于 MeOH 或 ACN 中) 来自 Cerilliant (Round Rock, TX, USA)。

### 标样和溶液

利用混合 DoA 标准储备液和单独的 IS 储备液配制标样和 IS 加标溶液。在 20:80 甲醇/水中配制浓度为 200 ng/mL 的标样加标溶液，用于对校准标样和质量控制 (QC) 样品加标。用 20:80 甲醇/水将单独的 IS 储备液稀释至 2 µg/mL，制得 IS 加标溶液，并将该 IS 加标溶液直接加入样品中。

将 385.3 mg 乙酸铵溶于 1 L Milli-Q 水中，然后加入 1 mL FA，制得含 0.1% FA 的 5 mmol/L 乙酸铵缓冲液，作为流动相 A。将 1 mL FA 加入 1 L 乙腈中，制得含 0.1% FA 的乙腈溶液，作为流动相 B。

将 400 µL NH<sub>4</sub>OH 加入 40 mL 预混合的 95:5 ACN/MeOH 中，新鲜配制的 95:5 ACN/MeOH 溶液中含 1% 氢氧化铵。溶剂在使用前保存于 -20 °C 下。混合 80 mL 乙腈和 20 mL 水，制成 80:20 乙腈/水溶液。

将 77.06 mg 乙酸铵溶于 200 mL Milli-Q 水中，制得 5 mmol/L 乙酸铵溶液。以 8:2 的比例混合上述缓冲液和乙腈，制成复溶液。

## 仪器与材料

用于样品前处理的仪器包括：

- Centra CL3R 离心机 (Thermo IEC, MA, USA)
- 多管涡旋仪 (VWR, PA, USA)
- Eppendorf 移液器和连续分液器
- SPE 干式 96 蒸发器
- 安捷伦 PPM-96 (部件号 5191-4116)
- Agilent Captiva EMR 96 孔板 (部件号 5190-1001)
- Agilent Captiva 96 孔 1 mL 收集板 (部件号 A696001000)
- Agilent Captiva 96 孔板盖, 10/包 (部件号 A8961007)

## 仪器条件

样品在 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统上运行, 该液相色谱系统包括 Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)、Agilent 1290 Infinity 高性能自动进样器 (G4226A) 和 Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)。该液相色谱系统与配备安捷伦喷射流 iFunnel 电喷雾离子源的 Agilent 6490 三重四极杆液质联用 (G6490A) 系统联用。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。

## 校准标样和 QC 样品前处理

使用 200 ng/mL 溶于 20:80 甲醇/水中的标样加标溶液, 在相应血液基质中制得校准曲线标样。全血校准曲线的动态范围为 0.1–20 ng/mL, 包括 0.1、0.5、1、5、10、15 和 20 ng/mL。将合适体积的标样加标溶液加入基质空白中, 然后充分涡旋混合, 制得这些标样。在准确度和精密度方法验证测试中, 运行三个浓度的质量控制 (QC) 样品, 包括浓度为 0.1 或

液相色谱条件		
色谱柱	InfinityLab Poroshell 120, EC-C8, 100 × 2.1 mm, 2.7 μm (部件号 695775-906(T)) InfinityLab Poroshell 120 保护柱, EC-C18, 2.1 × 5 mm, 2.7 μm (部件号 821725-911)	
流速	0.5 mL/min	
柱温	60 °C	
进样量	5 μL	
流动相	A) 5 mmol/L 醋酸铵缓冲液, 含 0.1% 甲酸的水溶液 B) 0.1% 甲酸的乙腈溶液	
进样针清洗	1:1:1:1 ACN/MeOH/IPA/H <sub>2</sub> O (含 0.2% FA)	
梯度	时间 (min)	%B 流速 (mL/min)
	0	10 0.5
	0.5	10 0.5
	3.0	50 0.5
	4.0	95 0.5
6.0	100 0.5	
停止时间	6 min	
后运行时间	2 min	
质谱条件		
干燥气温度	120 °C	
气体流速	14 L/min	
雾化器	40 psi	
鞘气温度	400 °C	
鞘气流速	12 L/min	
毛细管电压	3000 V	
iFunnel 参数	高压 RF: 90 V (正离子), 90 V (负离子) 低压 RF: 70 V (正离子), 60 V (负离子)	
数据采集	dMRM, 正离子化模式 有关分析物 MRM 参数请见参考文献 <sup>6</sup> , 有关柠檬酸钠抗凝人血浆中浓度为 LOQ 的 DoA 的 LC/MS/MS 色谱图, 请见图 1。	

0.5 ng/mL 定量下限 (LLOQ) 的 QC 样品、浓度为 1 ng/mL 或 5 ng/mL 中等浓度 QC 样品以及浓度为 20 ng/mL 定量上限 (HLOQ) 的 QC 样品。所有校准标样和 QC 都在 2 mL 卡口盖管中制得。然后将样品等量加入 Captiva EMR-Lipid 96 孔板中进行萃取。

## 样品萃取

之前的应用简报中详细介绍了样品前处理过程的步骤<sup>6</sup>。在样品前处理之前, 将 96 孔收集板置于 Captiva EMR-Lipid 板下方。对板叠层执行各个步骤, 直至收集到洗脱液。向 Captiva EMR-Lipid 板孔的等量血样中加入沉淀溶剂, 对血液样品进行原位 PPT 处理。这种添加顺序可显著改

善混合均匀性, 并确保蛋白质沉淀完全。Captiva EMR-Lipid 板的深度过滤设计有助于样品洗脱过程, 且不会堵塞。早期全血研究中的测试和验证中采用了两种样品洗脱方法, 正压多孔处理装置 (PPM) 和离心。本研究中仅采用 PPM 洗脱。

## 方法验证

通常需要在一种基质中通过为期三天的准确度和精密度运行, 对方法进行完全验证, 而将方法应用到不同基质时仅需要交叉验证。因此, 本研究中给出全血的完全验证结果, 可对每种额外的血液基质通过一天的准确度和精密度 (A&P) 运行, 实施方法的交叉验证。

对校准标样和 QC 样品进行合适的预加标。按照以下顺序将样品等量加入 Captiva EMR-Lipid 板中：双基质空白，基质空白（加标 IS），第一组校准标样，2 至 3 个基质空白，LLOQ (n = 6)，中等浓度 QC (n = 6)，HLOQ (n = 6)，2 至 3 个残留基质空白，双基质空白，基质空白，第二组校准标样，2 至 3 个基质空白。

### 分析物回收率和基质效应

比较低浓度（血清和血浆中浓度为 1 ng/mL）和高浓度（血清和血浆中浓度为 10 ng/mL）的预加标和后加标 QC 样品之间的分析物响应（峰面积），对分析物绝对回收率进行研究。直接将预加标的 QC 样品适当地加标至基质空白中，并利用开发的方法对样品进行前处理。萃取后，将后加标的 QC 样品加标至基质空白

中。具体来说，后加标发生在样品的复溶阶段，是使用适当的纯标准溶液复溶干燥基质空白。比较后加标 QC 样品与试剂空白制得的相应纯标样之间的分析物响应（峰面积），对基质效应进行研究。

## 结果与讨论

本研究重点展示了在毒理学应用中使用 Captiva EMR-Lipid 净化产品对生物基质中的滥用药物进行定量测定。

### 方法方案 — 样品优先蛋白质沉淀

它表明了向粘稠全血样品中加入沉淀溶剂的加入顺序，可获得更高的混合均匀性，从而实现了更有效的蛋白质沉淀<sup>6,7</sup>。对于血清和某些血浆等粘度较低的生物体液来说，其生物体液混合阻力并未像全血等粘稠基质那样显著。然而，与溶剂优先 PPT

相比，对生物体液进行样品优先 PPT 能够改善混合均匀性。首先添加样品还可通过使用 Captiva EMR-Lipid 板直接实现 IS 原位加标，然后再添加沉淀溶剂。样品优先的添加顺序无需进行额外的样品转移，因此简化了工作流程。出色的混合均匀性无需额外的抽吸混合（之前的方法中推荐使用）即可实现完全的蛋白质沉淀<sup>4,5</sup>。另外，上述修改降低了样品在 96 孔板上的交叉污染风险，这一点对高通量测试非常重要，特别是自动化的样品前处理操作。在省略转移步骤的同时，减少了消耗品（例如收集板和移液枪头）的使用数量。根据以上几点考虑，新的样品优先 PPT 可用于血清和血浆样品分析。

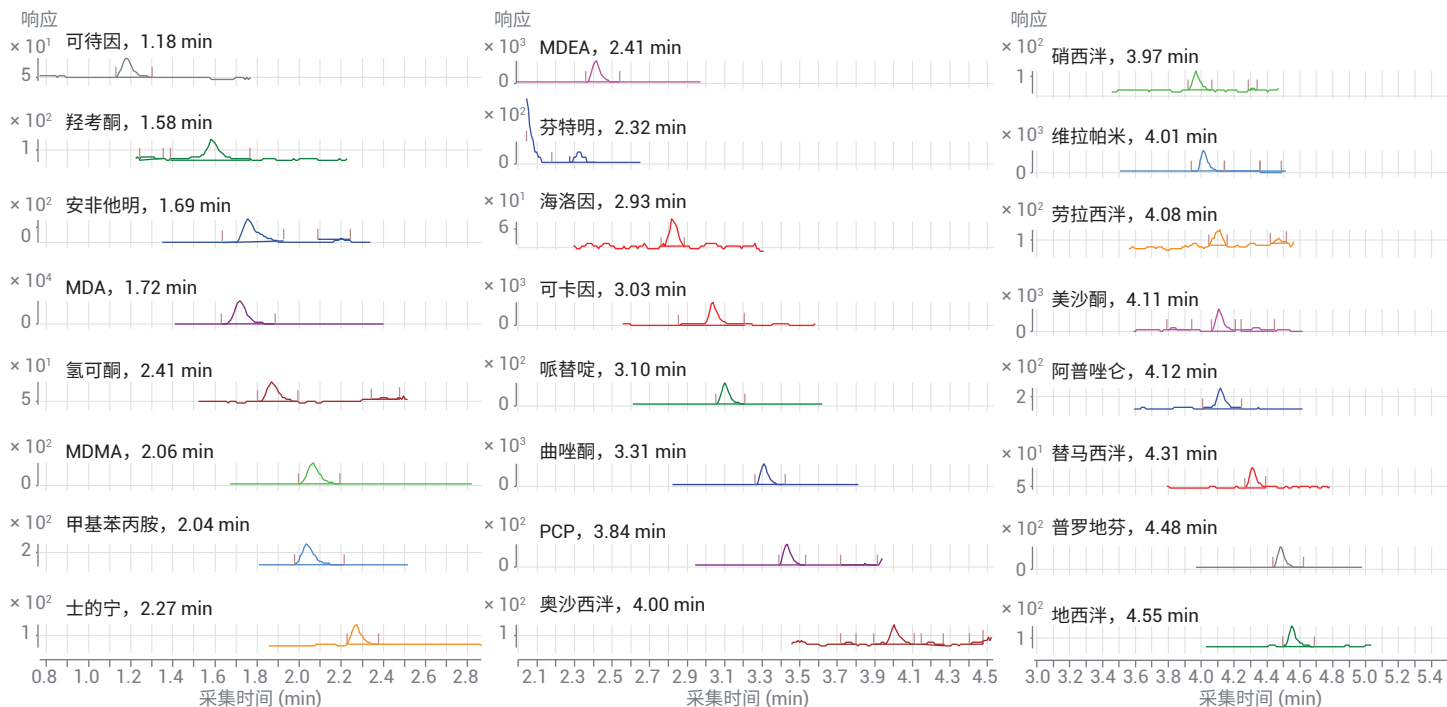


图 1. 柠檬酸钠抗凝人血浆中 DoA 加标浓度为 LOQ（除安非他明和海洛因加标浓度为 0.5 ng/mL 以外，其他化合物的加标浓度均为 0.1 ng/mL）的柠檬酸钠抗凝人血浆 LC/MS/MS 色谱图 (DMRM)

离心洗脱和正压洗脱均在全血的 DoA 分析中进行了测试和验证<sup>7</sup>。结果显示两种洗脱技术能够获得同等的洗脱效果。本研究中，仅将正压洗脱技术用于方法的交叉验证。图 2 为 Captiva EMR-Lipid 96 孔板上进行样品批处理的图片。图 2A 和

图 2B 为 Captiva EMR-Lipid 板上进行孔内 PPT 的样品均匀性和一致性。图 2C 和图 2D 为洗脱后 Captiva EMR-Lipid 板上的干燥沉淀残留物，以及收集板上收集的一致样品洗脱液。

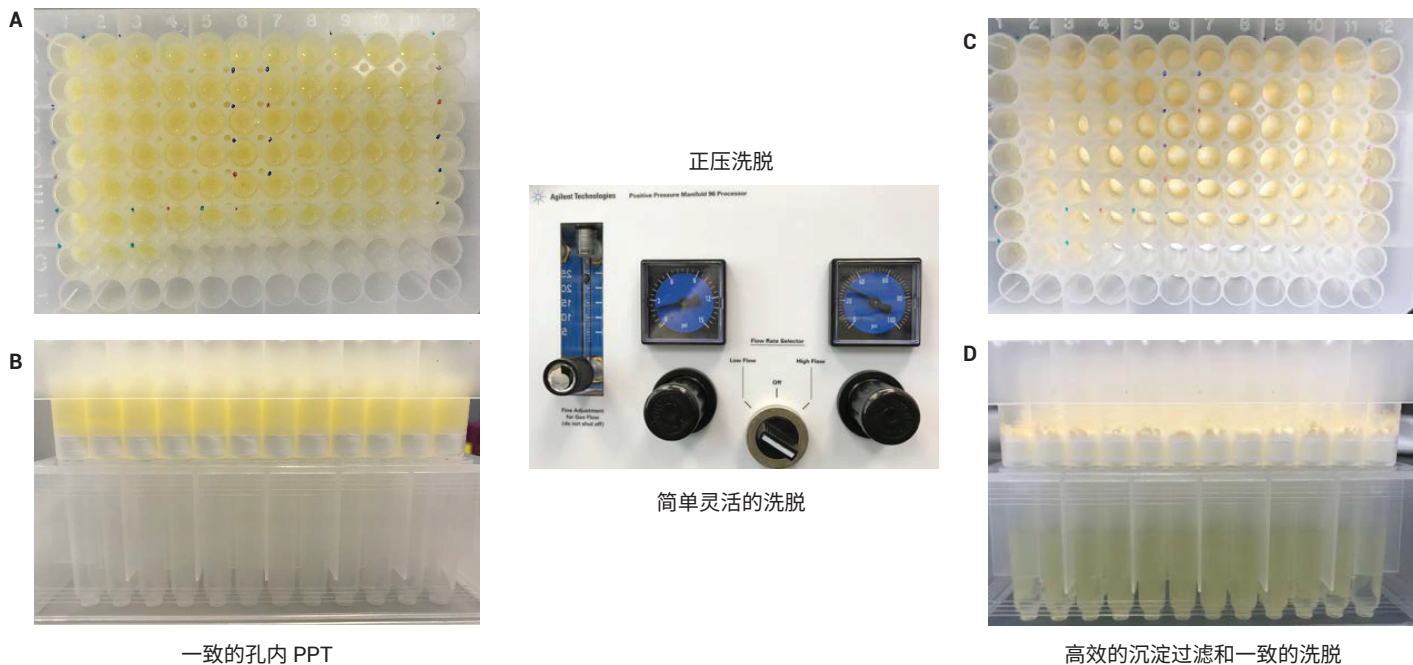


图 2. 在 96 孔 Captiva EMR-Lipid 板上对人血浆样品进行批处理，然后进行 EMR-Lipid 直通式净化。A) 从 Captiva EMR-Lipid 板顶部看到的孔内 PPT 视图；B) 从 Captiva EMR-Lipid 板侧面看到的孔内 PPT 视图；C) 从 EMR-Lipid 板顶部看到的孔内干燥沉淀物（洗脱后）视图；D) 收集板中收集的一致样品洗脱

### 分析物回收率和基质效应

多种血液基质中 DoA 的分析物回收率和基质效应结果如图 3 所示，基质中标浓度分别为 1 和 10 ng/mL 时得到 6 次重复进样的平均值。虽然不同血液基质类型具有差异，但分析物的回收率和基质效应一致；然而不同的样品类型产生了几种分

析物基质效应。发现某些分析物的回收率降低；然而方法的精密度和灵敏度可接受。

### 方法验证

本研究中包含了 4 种常见的血液基质：人血清、肝素锂抗凝人血浆、柠檬酸钠抗凝人血浆以及 EDTA 二钾抗凝人血浆。血

清与血浆都是从血细胞中分离出来的重要血液组成。血浆和血清的主要区别在于凝血因子。血浆中还包含凝血物质和纤维蛋白原，但是血清中不含这些物质。因此向血浆中添加抗凝剂以防凝血，而血清中不添加抗凝剂。血清和血浆都可以作为 DoA 筛查和确认分析的样品基质。

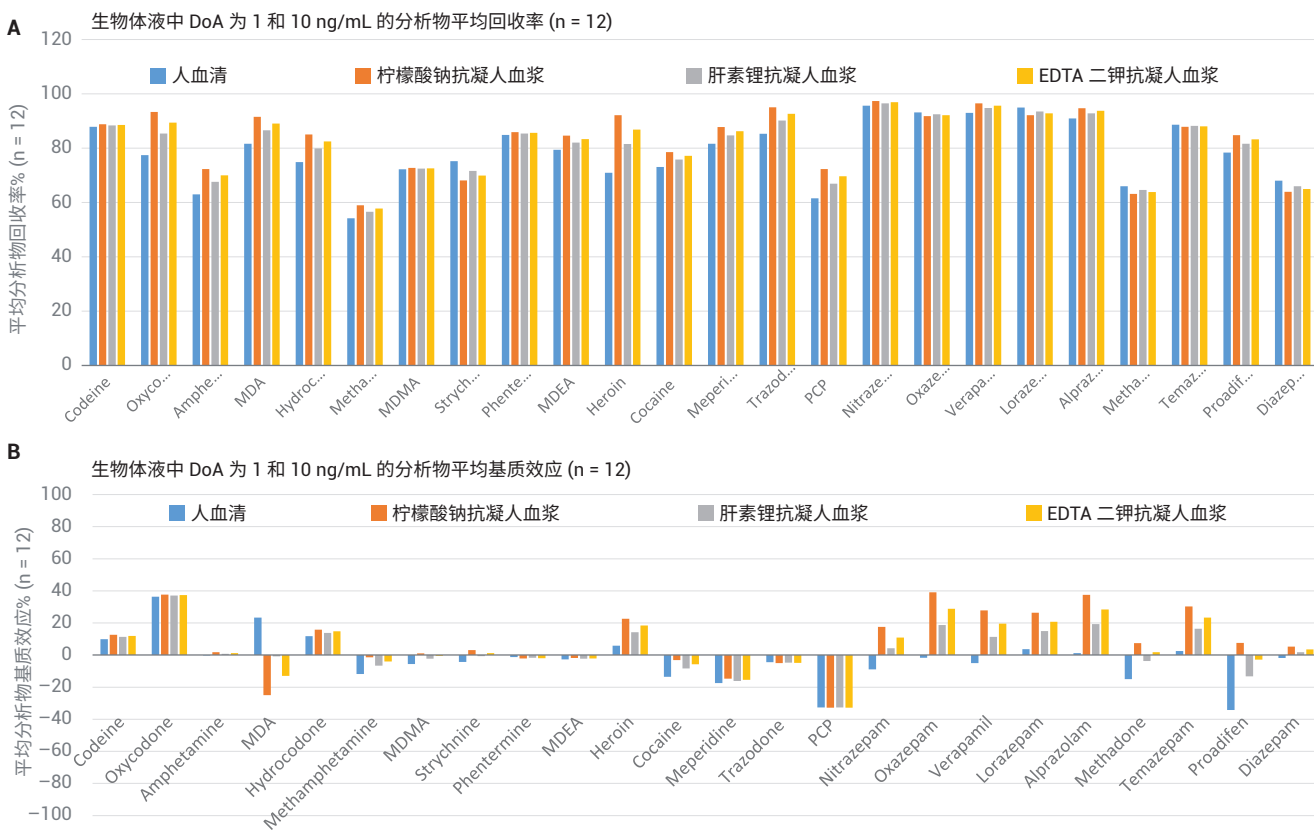


图 3. 生物体液中 1 ng/mL (n = 6) 以及 10 ng/mL (n = 6) DoA 的平均回收率 (A) 和基质效应 (B)，采用孔内 PPT 和 Captiva EMR-Lipid 净化

结果如表 1 所示，包括每种基质方法交叉验证的校准曲线数据、LOQ 以及准确度和精密度数据。血液基质中的校准范围为 0.1 (0.5) 至 20 ng/mL。校准曲线回归分

析中，使用线性回归拟合  $1/x^2$  加权。血液中大多数分析物的 LOQ 为 0.1 ng/mL，海洛因（在所有基质中的灵敏度均很低）以及安非他明和劳拉西泮（在特定基质中

产生基质干扰效应）除外。所有的定量结果都表明方法可成功转移到多种基质。

表 1. 交叉验证数据

DoA 分析物	肝素锂抗凝人血浆					柠檬酸钠抗凝人血浆					EDTA 二钾抗凝人血浆					人血清				
	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **
可待因	0.1	0.9967	0.1	92	6.5	0.1	0.9968	0.1	103	6.0	0.1	0.9985	0.1	98	2.5	0.1	0.9917	0.1	88	4.4
			1	98	5.7			1	96	4.1			1	103	4.2			1	91	7.4
			20	100	3.3			20	102	3.5			20	102	3.4			20	99	9.1
羟考酮	0.1	0.9949	0.1	99	6.3	0.1	0.9939	0.1	100	9.0	0.1	0.9936	0.1	93	5.6	0.1	0.9797	0.1	84	3.2
			1	104	4.7			1	95	4.1			1	96	1.9			1	101	11.4
			20	110	3.7			20	105	3.1			20	107	2.8			20	115	3.5
安非他明	0.1	0.9971	0.1	98	6.5	0.5	0.9972	0.1	100	4.4	0.1	0.9980	0.1	92	5.3	0.1	0.9963	0.1	97	4.7
			1	96	1.4			1	100	4.4			1	99	2.6			1	100	5.3
			20	100	4.9			20	100	3.8			20	102	2.5			20	100	3.8
MDA	0.1	0.9978	0.1	88	6.2	0.1	0.9991	0.1	105	6.3	0.1	0.9968	0.1	104	3.6	0.1	0.9863	0.1	88	8.1
			1	101	3.3			1	97	6.9			1	101	2.8			1	105	6.4
			20	107	3.2			20	100	2.1			20	105	2.0			20	111	5.7
氢可酮	0.1	0.9951	0.1	98	9.2	0.1	0.9947	0.1	103	13.0	0.1	0.9913	0.1	87	9.3	0.1	0.9855	0.1	102	12.9
			1	99	4.4			1	91	6.0			1	102	7.4			1	106	7.5
			20	108	5.1			20	103	3.3			20	106	3.2			20	116	6.1
甲基苯丙胺	0.1	0.9988	0.1	93	5.4	0.1	0.9982	0.1	105	5.1	0.1	0.9977	0.1	91	7.6	0.1	0.9928	0.1	104	5.6
			1	93	2.2			1	94	6.8			1	97	5.4			1	100	5.7
			20	97	4.5			20	100	5.7			20	101	2.7			20	94	6.9
MDMA	0.1	0.9989	0.1	94	5.0	0.1	0.9955	0.1	100	4.7	0.1	0.9979	0.1	102	3.3	0.1	0.9957	0.1	85	3.6
			1	96	3.1			1	94	3.5			1	100	5.1			1	91	7.9
			20	101	3.7			20	101	5.3			20	103	4.1			20	99	7.1
土的宁	0.1	0.9984	0.1	100	8.3	0.1	0.9930	0.1	109	7.8	0.1	0.9967	0.1	101	6.6	0.1	0.9929	0.1	96	9.7
			1	101	5.0			1	93	6.9			1	100	5.7			1	96	3.6
			20	108	3.6			20	102	4.3			20	108	3.1			20	101	6.7
芬特明	0.1	0.9948	0.1	97	7.9	0.1	0.9952	0.1	97	6.0	0.1	0.9941	0.1	102	7.5	0.1	0.9968	0.1	98	5.7
			1	109	4.0			1	104	4.9			1	97	3.8			1	106	5.3
			20	100	4.6			20	91	2.9			20	97	3.9			20	102	11.1
MDEA	0.1	0.9993	0.1	99	4.5	0.1	0.9985	0.1	99	5.6	0.1	0.9984	0.1	99	6.6	0.1	0.9983	0.1	98	3.8
			1	98	3.5			1	94	6.7			1	101	3.6			1	106	4.2
			20	100	3.7			20	94	3.0			20	99	3.7			20	100	4.1
海洛因	0.5	0.9848	0.5	99	10.3	0.5	0.9932	0.5	101	10.3	0.5	0.9908	0.5	107	7.7	0.5	0.9802	0.5	93	11.2
			5	103	6.6			5	113	6.7			5	108	9.8			5	112	11.2
			20	101	10.4			20	102	10.1			20	106	3.8			20	111	4.3
可卡因	0.1	0.9981	0.1	93	11.7	0.1	0.9948	0.1	96	11.8	0.1	0.9979	0.1	100	6.9	0.1	0.9959	0.1	88	16.7
			1	98	2.0			1	100	4.6			1	98	3.9			1	95	5.7
			20	100	2.1			20	95	2.4			20	100	2.5			20	102	5.9
哌替啶	0.1	0.9988	0.1	100	6.3	0.1	0.9983	0.1	101	4.0	0.1	0.9991	0.1	100	2.3	0.1	0.9924	0.1	111	5.7
			1	99	4.2			1	94	5.2			1	103	4.1			1	113	5.3
			20	102	5.3			20	96	2.4			20	104	2.9			20	98	8.4

\* 浓度单位: ng/mL, 人血浆或血清中

\*\* n = 6 次重复测定

表 1. 交叉验证数据 (续)

DoA 分析物	肝素锂抗凝人血浆					柠檬酸钠抗凝人血浆					EDTA 二钾抗凝人血浆					人血清				
	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **	LOQ*	R <sup>2</sup>	浓度*	准确度 %**	RSD% **
曲唑酮	0.1	0.9955	0.1	101	3.1	0.1	0.9976	0.1	95	4.0	0.1	0.9962	0.1	84	6.2	0.1	0.9920	0.1	101	5.6
			1	94	4.4			1	95	3.3			1	97	3.5			1	101	2.8
			20	101	3.5			20	97	4.4			20	104	2.7			20	102	3.0
PCP	0.1	0.9987	0.1	100	3.4	0.1	0.9983	0.1	102	1.6	0.1	0.9985	0.1	99	2.5	0.1	0.9857	0.1	107	8.0
			1	96	5.5			1	97	4.8			1	100	2.9			1	112	10.2
			20	98	4.8			20	95	1.4			20	99	3.2			20	92	11.9
硝西洋	0.1	0.9858	0.1	94	9.3	0.1	0.9870	0.1	115	2.7	0.1	0.9938	0.1	100	13.6	0.1	0.9913	0.1	96	14.5
			1	107	3.9			1	109	4.6			1	105	8.2			1	112	5.6
			20	97	3.4			20	86	2.8			20	100	7.2			20	100	8.4
奥沙西洋	0.1	0.9870	0.1	100	3.6	0.1	0.9783	0.1	99	10.0	0.1	0.9842	0.1	99	10.6	0.1	0.9936	0.1	98	11.2
			1	108	7.1			1	96	7.3			1	89	6.1			1	103	4.0
			20	111	9.0			20	107	10.0			20	88	5.5			20	105	7.3
维拉帕米	0.1	0.9944	0.1	103	6.3	0.1	0.9934	0.1	103	2.7	0.1	0.9950	0.1	98	4.7	0.1	0.9973	0.1	111	5.1
			1	91	8.0			1	93	8.2			1	91	7.3			1	103	10.3
			20	105	3.3			20	104	4.0			20	105	3.6			20	99	6.5
劳拉西洋	0.5	0.9935	0.5	95	12.7	0.1	0.9882	0.5	101	12.3	0.5	0.9778	0.5	103	9.9	0.5	0.9936	0.5	98	12.7
			5	112	4.9			5	107	6.3			5	111	4.8			5	105	3.6
			20	105	4.1			20	111	8.0			20	102	7.0			20	107	6.4
阿普唑仑	0.1	0.9943	0.1	103	10.0	0.1	0.9936	0.1	99	4.2	0.1	0.9921	0.1	85	10.9	0.1	0.9951	0.1	92	12.5
			1	106	5.7			1	100	6.4			1	98	5.2			1	103	7.2
			20	105	6.3			20	98	4.3			20	99	5.0			20	100	4.9
美沙酮	0.1	0.9963	0.1	94	5.3	0.1	0.9966	0.1	102	5.3	0.1	0.9963	0.1	104	4.2	0.1	0.9919	0.1	109	5.5
			1	89	6.3			1	87	9.3			1	99	5.3			1	102	9.8
			20	5.3	7.5			20	95	6.7			20	100	2.7			20	93	5.4
替马西洋	0.1	0.9862	0.1	105	11.0	0.1	0.9930	0.1	117	6.7	0.1	0.9821	0.1	91	14.4	0.1	0.9941	0.1	101	9.8
			1	98	6.8			1	102	6.3			1	90	8.1			1	98	4.2
			20	105	6.1			20	98	2.1			20	97	3.4			20	97	10.8
普罗地芬	0.1	0.9888	0.1	111	5.1	0.1	0.9887	0.1	111	3.9	0.1	0.9933	0.1	101	4.8	0.1	0.9835	0.1	119	10.1
			1	84	4.3			1	85	6.8			1	92	3.4			1	104	11.3
			20	111	6.3			20	100	8.1			20	102	3.6			20	92	8.4
地西洋	0.1	0.9959	0.1	94	8.5	0.1	0.9967	0.1	109	8.3	0.1	0.9974	0.1	97	8.5	0.1	0.9977	0.1	113	6.2
			1	95	3.3			1	99	3.9			1	102	3.2			1	102	6.9
			20	100	4.7			20	100	5.7			20	102	2.1			20	102	5.9

\* 浓度单位: ng/mL, 人血浆或血清中

\*\* n = 6 次重复测定

### 基质净化以及对仪器检测系统的影响

之前的研究<sup>4</sup> 中证实了各种血液基质均实现了基质净化, 使用 Captiva EMR-Lipid 净化产品去除了超过 99% 的磷脂。去除磷脂改善了方法可靠性和定量一致性; 而且显著减小了系统污染和残留。将更洁净

的样品进样到 LC/MS/MS 检测系统能够减小系统污染, 使得分析周期缩短, 并能提高样品测试通量<sup>7</sup>。这些效果在血清和血浆样品中均有体现, 为提高分析通量提供了一种可能的解决方案。

## 结论

在人血液基质中 24 种代表性 DoA 化合物的定量测定中，对一种使用孔内蛋白质沉淀和 Captiva EMR-Lipid 净化产品的样品前处理方法进行了交叉验证。对每种血液基质进行一天的准确度和精密度评估，证实该方法能够成功转移到其他基质。采用 96 孔板形式开发的方案适用于高通量实验室对快速、可自动化的样品前处理方法的需求，便捷的孔内 PPT 和 Captiva EMR-Lipid 净化产品简化了工作流程，同时仍可提供高效的样品提取和脂质净化。更干净的分析样品还可缩短清洗检测系统所耗的时间，提高样品检测通量。首先添加血浆或血清样品再添加沉淀溶剂的蛋白质沉淀方法，可改善样品混合的均匀性，这样，易去除蛋白质并减少转移步骤。

## 参考文献

1. Saito, K.; *et al.* Analysis of Drugs of Abuse in Biological Specimens, *J. Health Science*, **2011**, 57(6), 472–487
2. Moeller, M. R.; Steinmeyer, S.; Kraemer, T. Determination of drugs of abuse in blood, *J. Chromatog.B* **1998**, 713, 91–109
3. Moeller, M. R.; Kraemer, T. Drugs of Abuse Monitoring in Blood for Control of Driving Under the Influence of Drugs, *Therapeutic Drug Monitoring* **2002**, 24, 210–221
4. Zhao, L.; Lucas, D. Efficiency of Biological Fluid Matrix Removal Using Agilent Captiva EMR-Lipid Cleanup (Agilent Captiva EMR-Lipid 净化产品的生物体液基质去除效率), *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-8006EN, **2017**
5. Zhao, L.; Lucas, D. 使用 Agilent EMR-Lipid 净化产品对人血清中的药物进行 LC/MS/MS 定量分析, *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-8007CHCN, **2017**
6. Zhao, L.; Juck, M. Quantitative Determination of Drugs of Abuse in Human Whole Blood by LC/MS/MS Using Agilent Captiva EMR-Lipid Cleanup (使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 净化产品对人全血中的滥用药进行 LC/MS/MS 定量测定), *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-9251EN, **2018**
7. Zhao, L.; Juck, M. Protein Precipitation for Biological Fluid Samples Using Agilent Captiva EMR-Lipid 96-well Plates (使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 96 孔板对生物体液样品进行蛋白质沉淀), *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-9222EN, **2018**

查找当地的安捷伦客户中心：

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

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**LSCA-China\_800@agilent.com**

在线询价：

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

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

本文中的信息、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，2018  
2018 年 5 月 8 日，中国出版  
5991-9312ZHCN