

使用UPC²/MS/MS对蛋白沉淀血浆中的极性化合物直接进样

Jennifer L. Simeone and Paul D. Rainville

目的

对蛋白沉淀血浆中的强极性化合物直接进样分离，以进行生物分析。

背景

大多数生物分析方法都采用蛋白质沉淀(PPT)提取法，这是因为该技术简单、快速且成本较低。典型的PPT使用3:1的有机溶剂与生物样品，可得到大约75%的有机提取物。传统上，通常会采用反相液相色谱(RPLC)分析样品。

对于强极性化合物而言，由于强溶剂作用产生的色谱峰形较差，最为明显的是出现峰前伸和/或谱峰分叉，因此不能直接将高浓度有机提取物注入RPLC系统。因此，在向色谱系统进样之前需要进行额外的样品处理，包括蒸发和复溶或用水稀释。

通过从RPLC到UPC²改变MS入口技术，无需蒸发和复溶等额外样品制备步骤，便可以直接进样分离高度有机样品中的极性化合物。

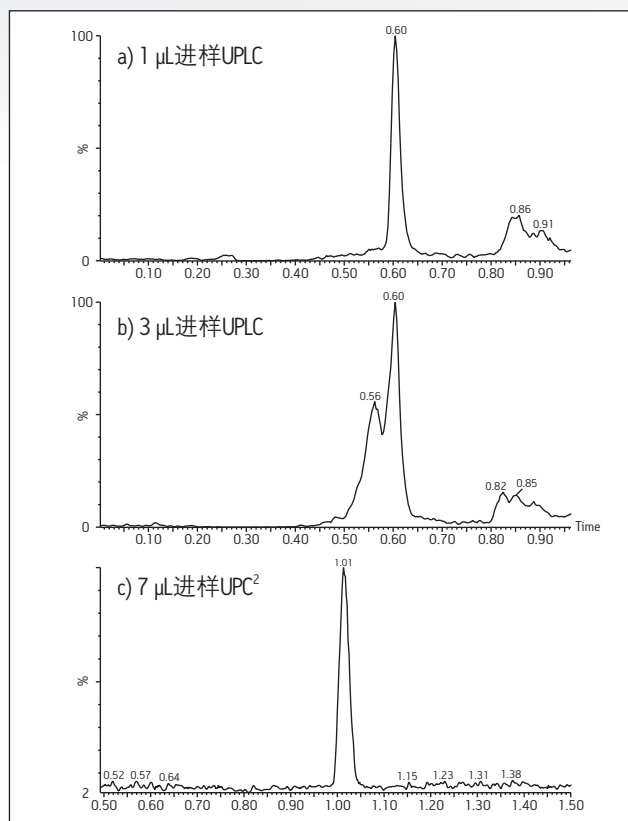


图1. 在反相模式下运行的UPLC[®]中，咖啡因PPT提取物通过(a) 1 μ L进样、(b) 3 μ L进样获得的示例色谱图，以及在ACQUITY UPC²系统中，相同咖啡因PPT提取物的(c) 7 μ L进样示例色谱图。

解决方案

UltraPerformance Convergence Chromatography™ (UPC²)使用超临界二氧化碳作为主要流动相，其保留机制与RPLC不同，可直接进样高度有机提取物。

在本示例中，通过PPT提取法使用乙腈以3:1的比率从大鼠血浆中提取了四种极性较强的化合物，直接进样至ACQUITY UPC²™系统中，并使用传统RPLC系统作为对比。UPC²分析在ACQUITY UPC² BEH色谱柱上进行，采用经氢氧化铵改性的甲醇作为共溶剂(流动相B)。RPLC分析在配备ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱的ACQUITY UPLC®系统上进行，采用水和经氢氧化铵改性的乙腈作为流动相。

图1将含咖啡因的PPT提取物在ACQUITY UPLC系统中的1 μL直接进样和3 μL直接进样与在ACQUITY UPC²系统中的7 μL进样进行了对比。RPLC中的1 μL进样显示出良好的峰形，但在3 μL进样体积下峰形发生变形，可以观察到前伸峰和谱峰交叉。而采用UPC²进行的7 μL进样依然表现出良好的峰形。

以相同方式测试的其它极性分子也观察到类似的结果(表1)。表1还显示了使用RPLC和UPC²时，在PPT提取物中测试的所有分析物的最大进样体积。

	咖啡因	雷尼替丁	氟康唑	醋胺酚
UPLC	1 μL	NA	3 μL	NA
UPC ²	7 μL	10 μL	5 μL	7 μL

表1. 针对UPLC和UPC²确定的最大进样体积。NA=峰形不足以在1 μL下进行积分。

这些数据明确证实了使用ACQUITY UPC²系统分析高度有机提取物中极性化合物的优势，并且不必像RPLC系统那样在进样前需要进行额外的样品制备，从而简化了工作流程。

总结

通过从标准RPLC到UPC²改变MS入口技术，无需蒸发和复溶等额外样品制备步骤，便可以直接在ACQUITY UPC²系统中注入溶于高度有机样品中的极性化合物。为生物分析实验室增添UPC²可以简化高度有机样品制剂中极性化合物的分析。



Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters、The Science of What's Possible、UPC²、ACQUITY UPLC和UPLC沃特世公司的注册商标。UltraPerformance Convergence Chromatography 和 ACQUITY UPC²是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

沃特世科技(上海)有限公司
北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 6555
成都: 028 - 6554 5999

沃特斯中国有限公司
香港: 852 - 2964 1800

©2013 沃特世公司 中国印刷
2013年7月 720004754ZH TC-PDF

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com