

血浆中利拉鲁肽的分析方法

付尧

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

本实验为自建方法。样品经乙腈-甲醇 (25:75) 提取后, Peptide-1-MW 96孔板固相萃取净化, Luna Omega Polar C18 (2.1×50mm 1.6μm) 液相色谱柱进行检测, 采用外标法定量。结果表明, 利拉鲁肽添加水平的相对回收率为62.3%, 满足检测要求。

关键词

Luna Omega Polar C18; Peptide-1-MW; 利拉鲁肽

化合物信息

表1. 化合物信息

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
利拉鲁肽	Liraglutide	204656-20-2	C ₁₇₂ H ₂₆₅ N ₄₃ O ₅₁	3751.20

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪(AB SCIEX API 5500+), 配有电喷雾离子源(ESI);
孔正压装置(Agela Cleanert M96);

3.1.2试剂材料

Peptide 96 Well Microlates: 5mg/1mL

Cat: Peptide-1-MW

实验用水为屈臣氏水; 乙腈、甲醇均为色谱纯试剂; 甲酸、乙酸铵为分析纯。

3.1.3样品

- 利拉鲁肽标品: 客户提供 (500 μg/mL) ;
- 样品基质: 血浆;

3.2样品前处理方法

称量: 准确吸取50μL样品基质于1.5mL离心管中, 加标;

提取: 准确加入200μL 乙腈-甲醇 (25:75), 涡旋30s, 冰箱冷冻10min, 后以10000r/min, 离心5min, 上清液待净化;

活化: Peptide-1-MW96孔板固相萃取柱上样前用900μL 甲醇、900μL 水依次活化 (适当加压) ;

上样: 将待净化的上清液全部加载到小柱上;

加压: 下接收集板, 适当加压, 使流速控制在3~5s/滴, 压干, 待上机检测;

3.3仪器检测条件

3.3.1色谱条件

色谱柱: Luna Omega Polar C18 (2.1×50mm, 1.6μm, 100Å) ;

P/N: 00B-4748-AN

流动相: A: 0.1%甲酸5mM乙酸铵水溶液;

B: 0.1%甲酸乙腈溶液;

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 40 °C;

进样量: 15 μL;

梯度程序见表2:

表2. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.3	80	20
0.5	0.3	80	20
3.0	0.3	50	50
3.2	0.3	2	98
4.1	0.3	2	98
4.3	0.3	80	20
6.0	0.3	80	20



3.3.2质谱条件

离子源类型：电喷雾离子源（ESI）
扫描方式：多反应监测正离子模式（MRM+）
喷雾针电压：5500 V
离子源温度：500 °C
加热器（GS1）：60 psi
辅助加热气（GS2）：60 psi
气帘气（CUR）：40 psi
碰撞气（CAD）：10 psi

为获得较好的稳定和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压（DP）和碰撞电压（CE），目标化合物定量定性离子对参数均经过系统优化，优化信息参见表3。本案例参数仅供参考不具备法律效力。

表3. 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
利拉鲁肽	938.9	1064.3	120	40
	938.9	683.2	120	40

注：表3中标“*”为定量离子。

3.4结果与讨论

3.4.1基质匹配标准曲线的制备

本实验为单点定量。精密吸取利拉鲁肽标品（500μg/mL）2μL，用基质空白定容至100 μL（10μg/mL），液质联用仪上机测定。

3.4.2方法准确度

本实验选择5μg/mL加标，结果由表4可得，利拉鲁肽添加浓度的回收率为62.3%；本实验色谱图见图。

表4.加标回收实验结果

化合物	理论加标浓度 (μg/mL)	平均检测结果 (μg/mL)	回收率%	RSD%
利拉鲁肽	5.00	3.12	62.3	15.3

3.4.3讨论

实验对比了不同蛋白沉淀板及肽专用板。蛋白沉淀板回收均为10%以下，而Peptide肽专用板可以得到一个相对较好的回收，并且操作简单，通过实验图谱可以看到基质干扰比较小。所以实验选择Peptide-1-MW进行净化。

3.5实验谱图

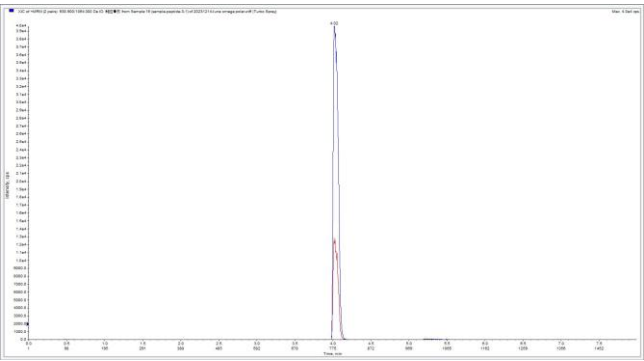


图1. 万古霉素基质标色谱图（5μg/mL）

结论

样品经乙腈-甲醇（25:75）提取后，Peptide-1-MW 96孔板固相萃取净化，Luna Omega Polar C18（2.1×50mm 1.6μm）液相色谱柱进行检测，采用外标法定量。结果表明，利拉鲁肽添加水平的相对回收率为62.3%，RSD为15.3%，满足检测要求。



Xccelerator 加速服务

探索分离, 使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中, 抢占先机越来越多被大家提及, 同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此, 我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心, 为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心, 以色谱技术为中心, 为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址: 天津市开发区西区南大街179号

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址: 上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址: 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的, 不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题, 或想要了解更多信息,
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家, 我们很乐意为您提供帮助!

Confidential - Company Proprietary

