

临床 生物样本分析

解决方案集锦



扫码,与技术专家在线沟通

技术支持专线: 400-606-8099
网址: www.agela.com.cn

Agela Technologies®

艾杰尔 - 飞诺美

About Agela - Phenomenex

艾杰尔(Agela)和飞诺美(Phenomenex)是我们双品牌经营策略。我们致力于新型分析化学解决方案的研究,从而解决工业、临床研究、政府和学术研究室研究人员所面临的分离和纯化挑战。艾杰尔-飞诺美的色谱解决方案推动着分离科学发展,并为研究人员提供改善全球健康和福祉所需的工具。四十年间,飞诺美(Phenomenex)已 11 次荣获“R&D 100 创新大奖”。

今天,艾杰尔-飞诺美作为丹纳赫中国生命科学平台的一员,我们将继续在色谱技术领域开发稳健、可靠的解决方案,以此助力罕见病、癌症和疫苗生物制剂等新兴疗法和相关药物从药物发现到临床试验成果的快速转化。在食品检测、接触性材料、毒物检测及环境检测等方面提供更高标准的分析检测手段。用分离科学的力量,让人类生活更加美好。





药物 环境
临床 食品
司法 消费品
化学合成



生物样品 (血浆、血清、尿液、组织样品等) 成分复杂、基质干扰大, 同时样品珍贵 (通常不易获得且量少), 被分析物的浓度通常又很低, 这使得我们从事分析生物样品的工作人员面临非常大的挑战。为了建立简单有效、基质干扰小、灵敏度高的生物样品分析方法, 前处理技术已成为决定分析成败的关键环节。

为了帮助您在分析生物样品时更加简便高效,
艾杰尔 - 飞诺美为广大用户提供了包括

蛋白沉淀板 (PPT)、固相支撑液液萃取 (SLE)、
磷脂去除专用板 (Bio-scavenger)、
过滤板 (FP) 和固相萃取板 (SPE)
等丰富的 96 孔前处理产品组合。

无论您分析的为极性、中等极性或非极性化合物;
抑或您的困扰是基质效应、复检率高、通量低或
操作复杂、不能自动化。

这里总有解决方案适合您。



CONTENTS 目录

生物基质样品前处理产品	05
Cleanert PPT 蛋白沉淀板产品	05
Cleanert Bio-scavenger 磷脂去除专用板	06
Cleanert SLE 固相支撑液液萃取产品	07
Cleanert 96 孔 SPE 板	08
Cleanert Peptide 多肽专用固相萃取板	10
生物样品分析配套装置及附件	12
Cleanert M96 生物样品前处理仪	12
Cleanert V96 氮吹浓缩仪	12
接收板、盖垫订购信息	12
典型应用实例	13
血清中 20 种类固醇激素 LC-MS 分析	13
血浆中 6 种儿茶酚胺类物质的 LC-MS 分析	16
血浆中司美格鲁肽与替尔泊肽药物的测定	18





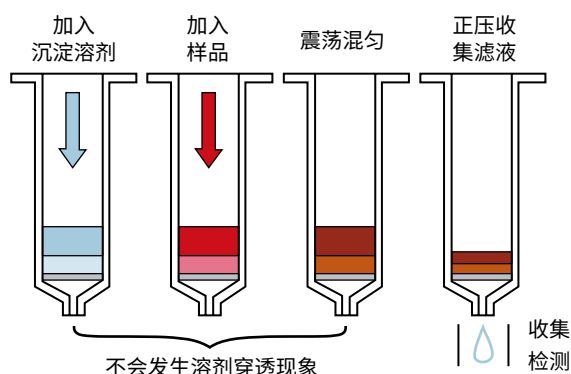
生物基质样品前处理产品

Cleanert® PPT 蛋白沉淀板产品

Cleanert PPT (Protein Precipitation Plate) 96 孔蛋白沉淀板产品采用高纯蛋白沉淀专用筛板, pH 耐受范围广 (pH 0-14), 配合有机沉淀剂可有效完成蛋白沉淀, 是一款适用于临床检测、药物动力学、新药研发等高通量生物样品的前处理产品。

产品特点:

- 操作简便快速, 无需离心
- 无需二次移液, 有效避免交叉污染
- 采用医用级材料, 无本底干扰、蛋白去除彻底



操作步骤 (推荐):

- 将 Cleanert PPT 96 位蛋白沉淀板放置于收集板上;
- 每孔加入不少于 3 倍样品体积的沉淀试剂, 如乙腈或甲醇;
- 将待处理的血浆、血清等样品加入到蛋白沉淀板各孔中;
- 使用移液器吸打或涡旋振荡器充分混匀样品, 静置 3min;
- 使用 Cleanert M96 生物样品前处理仪将沉淀后澄清溶液全部压入 96 孔接收板中 (压力推荐为 0.03-0.04 MPa), 盖上硅胶盖板后进样。

产品快速选择:

乙腈或甲醇体积 < 100 μ L



货号: 96CD1025-Z

乙腈或甲醇体积 > 100 μ L



货号: 96CD2025-Q

Cleanert PPT 产品快速订购:

填料	规格	包装	订货号
Cleanert PPT 蛋白沉淀板	2 mL/well	2/pk	96CD2025-Q
Cleanert PPT 蛋白沉淀板	1 mL/well	2/pk	96CD1025-Z

更多规格产品信息, 请联系当地销售或客服代表。

Cleanert® Bio-scavenger 磷脂去除专用板

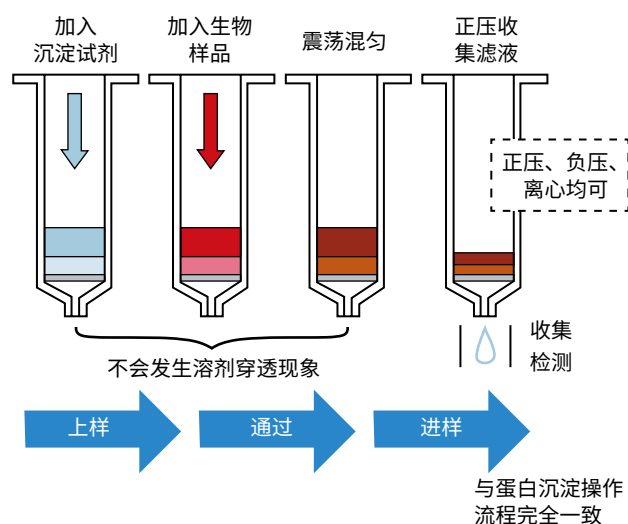
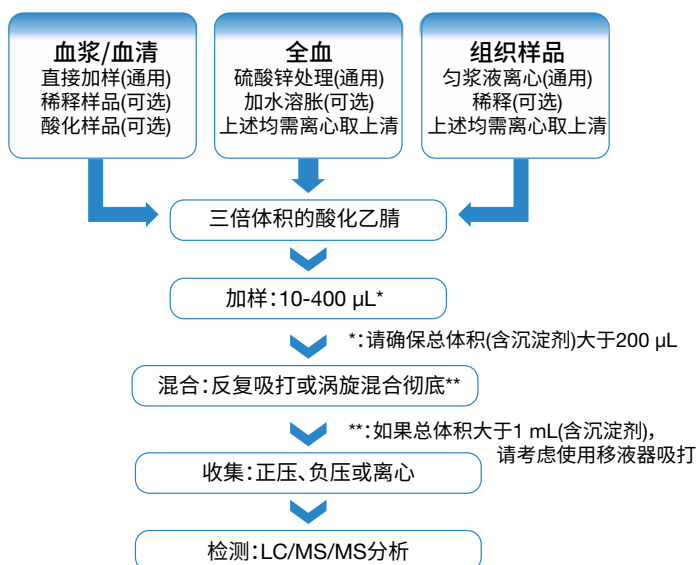
Bio-Scavenger 磷脂去除产品是可以帮助您快捷有效地去除血浆样品中蛋白质和磷脂。溶剂屏蔽技术可维持有机溶剂在筛板上长时间保留，滴加血浆后可直接实现 96 孔板孔中沉淀。沉淀完成后，样品可通过 Bio-Scavenger 吸附过滤，特殊设计的填料能够选择性地去除磷脂，得到无蛋白、无磷脂的样品。



产品特点：

- 操作简单，无需方法开发
- 较短的时间获得基质效应低的样品
- 重现性好，实验室间方法转移容易
- 可靠去除高达 95% 的磷脂
- 提取物直接进样
- 有效延长色谱柱寿命，减少质谱维修时间和频率

操作流程：



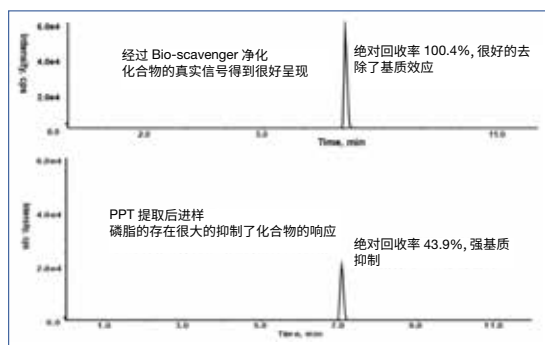
Cleanert® Bio-scavenger 产品快速订购：

名称	规格	包装	订货号
Cleanert Bio-scavenger 磷脂去除 96 孔板	30 mg/2 mL/well	2/pk	Bio-0302W
Cleanert Bio-scavenger 磷脂去除小柱	30 mg/1 mL	100/pk	Bio-0301

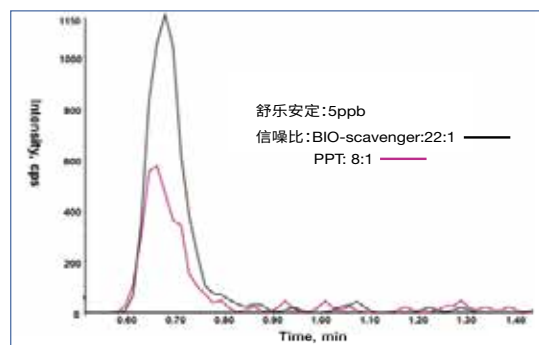
更多产品规格信息，请联系当地销售或客服代表

净化效果展示：

基质效应对比 (以辛伐他汀为例)



信噪比数据 (以舒乐安定为例)





Cleanert® SLE 固相支撑液液萃取产品

Cleanert SLE (Solid-Supported Liquid Extraction) 采用特殊工艺处理的硅藻土，具有较大的比表面积和低表面活性，能够提供理想的液液分配支撑表面，可以代替大部分传统的液液萃取方法。该方法可以应用于制药，药物代谢分析，生化分析，纺织业，食品和环境等多个领域。

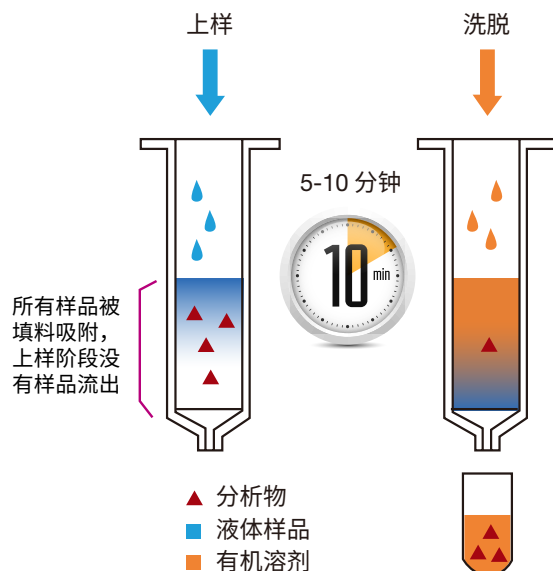


产品特点：

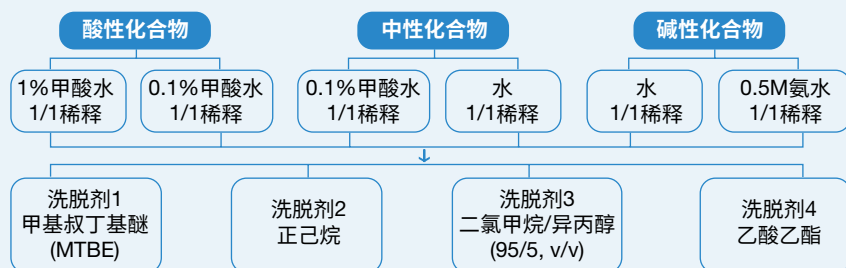
- 操作简便快速，无乳化
- 适合中等极性或非极性化合物
- 产品自动化程度高，有效解放人力和消除人为误差
- 去磷脂效果优越，高效降低基质效应
- 无需离心、无需二次移液，有效避免交叉污染

操作步骤 (推荐)：

- 为保证获取最佳回收率，建议上样前对生物体液样品用等体积 (1/1) 稀释液进行稀释，可考虑的稀释剂有 FA (1%、0.1% 等)、水和氨水 (如 0.5M) 和缓冲盐等，目的是使目标物保持非离子化；
- 将 SLE 板放置于收集板上，将经预处理的样品上样至 SLE 中；
- 待样品完全浸润填料，静置 5-10 min，使样品能均匀吸附至填料中；
- 根据化合物的性质，选择合适的试剂洗脱目标物，洗脱试剂分多次加入效果更好。Cleanert SLE 实验最好在重力作用下自然滴落，也可短暂正压 (0.02 Mpa, 30 秒)。将洗脱液氮吹干后，使用流动相复溶，进样检测。



方法开发选择：



注：SLE 的规格选择请参考上样总体积 (生物基质 + 缓冲剂 / 稀释剂)。如，100 μ L 血浆 + 100 μ L 稀释剂稀释后，因总体积为 200 μ L，建议选择 200 μ L/well 的 SLE 板。

Cleanert® SLE 产品快速订购：

填料	规格	包装	订货号
Cleanert SLE 硅藻土	200 μ L/well	2/PK	HC2002SQ-9W
Cleanert SLE 硅藻土	300 μ L/well	2/PK	HC3002SQ-9W
Cleanert SLE 硅藻土	500 μ L/well	1/PK	HC5003SQ-9DW

更多规格产品信息，请联系当地销售或客服代表。

Cleanert® 96 孔 SPE 板

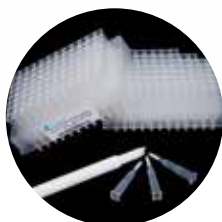
Cleanert 聚合物基质固相萃取产品具有可靠的保留性能和稳定的重现性，即使抽干吸附剂也不影响回收率。多样的固相萃取填料类型（反相吸附剂，离子交换反相吸附剂等）为方法开发提供多种选择，以满足对中性、酸性和碱性化合物不同的选择性。

Cleanert Micro Plate 为可拆卸式微孔板，适合于进行方法开发。低至 2 mg 的填料量更适合处理极小体积的生物样品，洗脱体积可低至 25 μ L，免去浓缩再定容步骤，让您的实验操作更加便捷快速。



产品特点：

- 吸附剂类型、产品规格多样可选
- 使用方式灵活，提供方法开发用 SPE 板
- 微孔板可拆卸，洗脱体积更可低至 25 μ L
- PEP 系列产品对极性和非极性化合物具有均衡保留能力



96 孔微孔板



96 孔 SPE 板

注：还可提供 AQ C18, C18 封端, C18 不封端, C8, SAX, SCX, CN, NH₂, PSA, COOH, PRS, Diol, Silica, Phenyl 和 PC 等填料

Cleanert PWCX
弱阳离子交换 /
反相混合模式吸
附剂

Cleanert PEP
亲水亲脂平衡的
N- 乙烯基吡咯烷酮
和二乙烯基苯共聚
高分子吸附剂

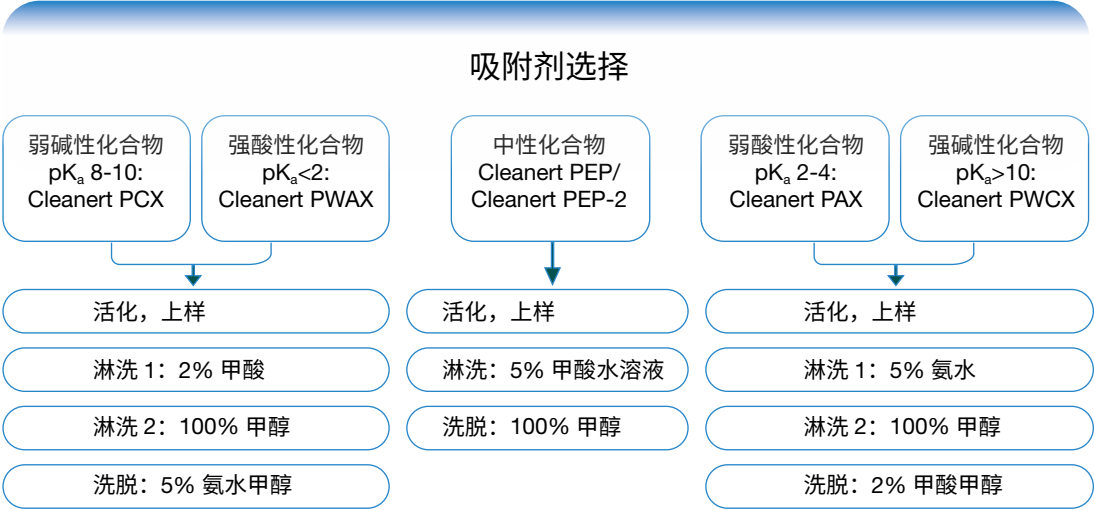
Cleanert PWAX
弱阴离子交换 /
反相混合模式吸
附剂

Cleanert PCX
强阳离子交换 /
反相混合模式吸
附剂

Cleanert PAX
强阴离子交换 /
反相混合模式吸
附剂



方法开发选择：



Cleanert® SPE 产品快速订购：

名称	规格	包装	订货号
Cleanert PEP-2	30 mg/2 mL/well	2/pk	PE0302-2W
Cleanert PEP	30 mg/2 mL/well	2/pk	PE0302-W
	50 mg/2 mL/well	2/pk	PE0502-W
Cleanert PAX	30 mg/2 mL/well	2/pk	AX0302-W
	50 mg/2 mL/well	2/pk	AX0502-W
Cleanert PCX	30 mg/2 mL/well	2/pk	CX0302-W
	50 mg/2 mL/well	2/pk	CX0502-W
Cleanert PWAX	30 mg/2 mL/well	2/pk	WA0302-W
	50 mg/2 mL/well	2/pk	WA0502-W
Cleanert PWCX	30 mg/2 mL/well	2/pk	WC0302-W
	50 mg/2 mL/well	2/pk	WC0502-W
Cleanert C18	50 mg/2 mL/well	2/pk	S180502-W
	100 mg/2 mL/well	2/pk	S181002-W

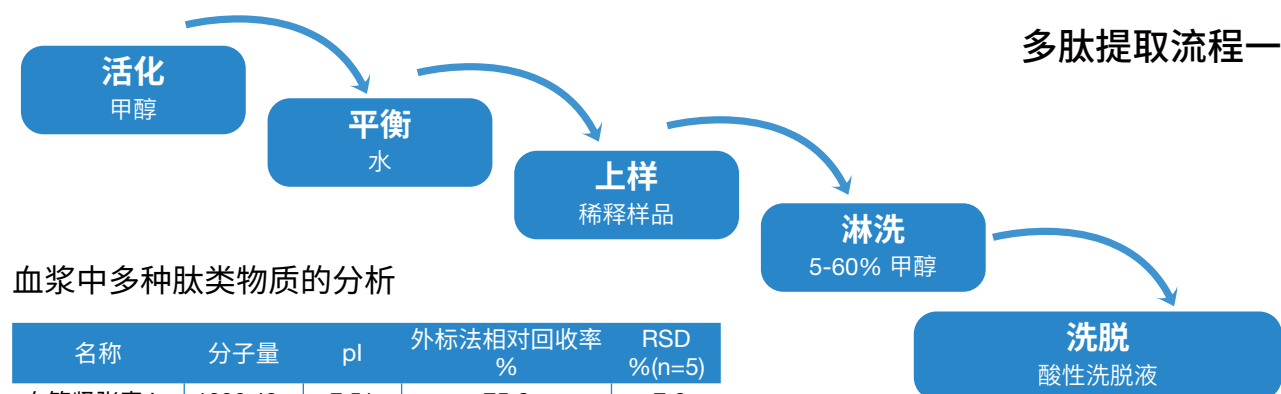
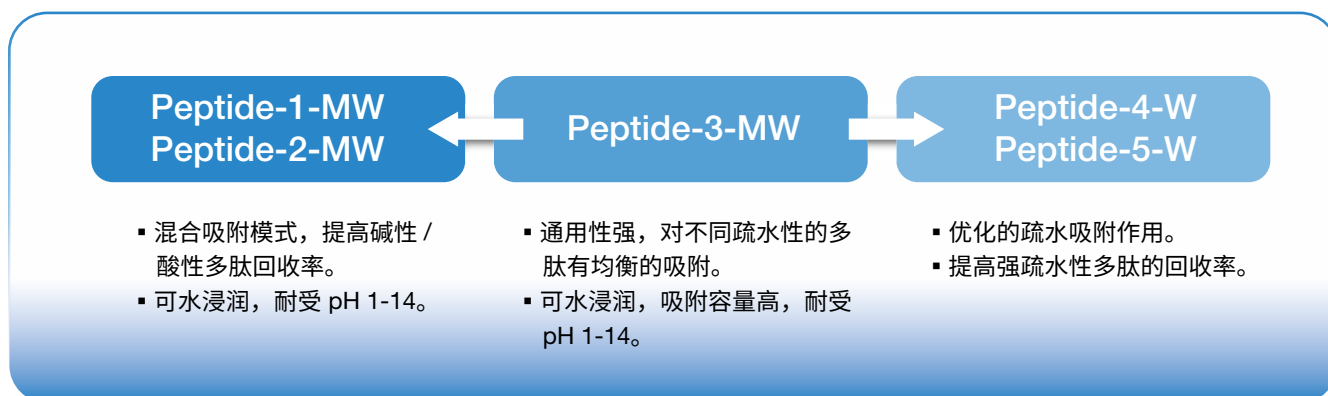
微孔板产品快速订购：

名称	规格	包装	订货号
Cleanert PEP	5 mg, 1 mL/well	2/pk	PE00501-MW
	10 mg, 1 mL/well	2/pk	PE0101-MW
Cleanert PAX	5 mg, 1 mL/well	2/pk	AX00501-MW
	10 mg, 1 mL/well	2/pk	AX0101-MW
Cleanert PCX	5 mg, 1 mL/well	2/pk	CX00501-MW
	10 mg, 1 mL/well	2/pk	CX0101-MW
Cleanert PWAX	5 mg, 1 mL/well	2/pk	WA00501-MW
	10 mg, 1 mL/well	2/pk	WA0101-MW
Cleanert PWCX	5 mg, 1 mL/well	2/pk	WC00501-MW
	10 mg, 1 mL/well	2/pk	WC0101-MW



Cleanert® Peptide 多肽专用固相萃取板

在 Cleanert 聚合物基质基础上，针对血浆等生物样本中多肽药物的净化富集，更为大家带来 Cleanert Peptide 多肽专用固相萃取板，可为多肽提取提供正交性的方法。



血浆中多种肽类物质的分析

名称	分子量	pI	外标法相对回收率 %	RSD % (n=5)
血管紧张素 I	1296.48	7.51	75.6	7.6
奥曲肽	1079.3	9.3	83.5	6.3
血管紧张素 II	1046.18	7.35	93.0	8.6
去氨加压素	1129.28	8.6	92.1	3.7
加压素	1056.22	9.1	84.6	6.4
神经加压素	1732.98	10.9	83.0	5.1
戈舍瑞林	1269.41	9.82	96.3	3.7
门冬胰岛素	5824.60	5.1	96.4	3.3

样本前处理:

Cleanert Peptide-3-MW 96-well plate

预处理: 甲醇

活化: 甲醇, 水

上样: 加载预处理后的血浆

淋洗: 水

洗脱: 酸性洗脱液

色谱质谱条件:

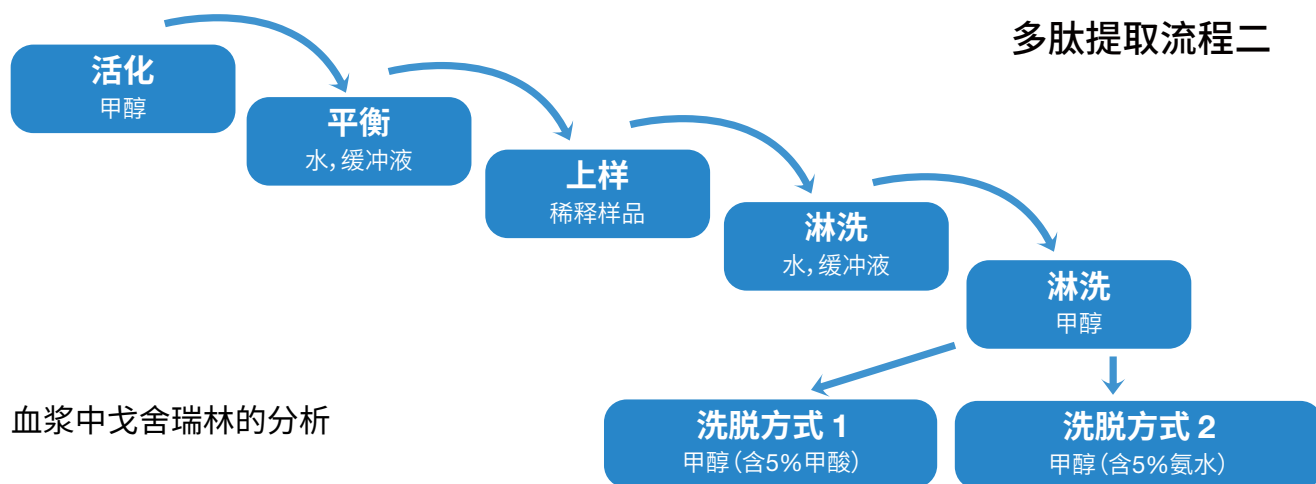
Luna Omega Polar C18
2.1×50 mm, 1.6 μm

货号: 00B-4748-AN

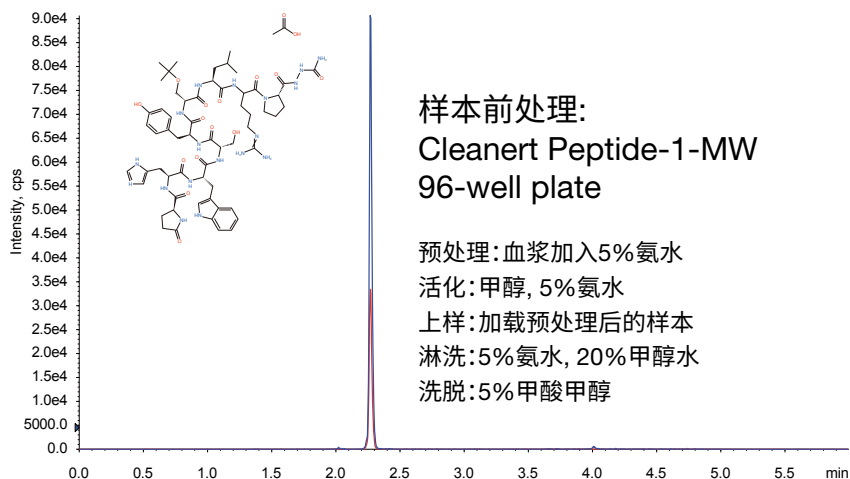
检测: SCIEX 5500, ESI+, MRM



多肽提取流程二



血浆中戈舍瑞林的分析



样本前处理:
Cleanert Peptide-1-MW
96-well plate

预处理: 血浆加入5%氨水
活化: 甲醇, 5%氨水
上样: 加载预处理后的样本
淋洗: 5%氨水, 20%甲醇水
洗脱: 5%甲酸甲醇

色谱质谱条件:
Aeris WIDEPORE 3.6 μ m XB-C18,
50x2.1 mm

货号: 00B-4482-AN
流动相: A: 0.1% Formic acid in Water
B: 0.1% Formic acid in Methanol
流速: 600 μ L/min
温度: 室温
检测: MS/MS, Triple Quad™ 4500
(SCIEX), ESI+

Cleanert® Peptide 产品快速订购:

名称	规格	包装	订货号
多肽检测专用板 1	5 mg/1 mL/Well	2/pk	Peptide-1-MW
多肽检测专用板 2	5 mg/1 mL/Well	2/pk	Peptide-2-MW
多肽检测专用板 3	5 mg/1 mL/Well	2/pk	Peptide-3-MW
多肽检测专用板 4	50 mg/2 mL/Well	2/pk	Peptide-4-W
多肽检测专用板 5	50 mg/2 mL/Well	2/pk	Peptide-5-W

生物样品分析配套装置及附件

Cleanert® M96 生物样品前处理仪

SPE-M96 正压固相萃取装置是专为高通量药物研发及临床药物检测而设计的一款正压型样品前处理装置，适用于 96 孔蛋白沉淀板、固相萃取板、SLE 板、MAS 板及过滤板。该产品设计紧凑、操作简单且使用方便。

产品特点：

- 孔间流速均匀可控，重现性高
- 双压力调节设计，有效应对粘稠样品
- 独有步骤指示器功能，助力精准操作
- 体积小、无需电源、氮气或空气源皆可工作
- 正压设计，有效解决负压装置常出现的流速不均问题



货号：SPE-M96

Cleanert® V96 氮吹浓缩仪

Cleanert V96 氮吹浓缩仪是专为快速高效蒸发溶剂、浓缩样品而设计，采用独特氮气加热方式，保温传热管导入气体，同时作用于每个样品管，受热均匀，浓缩效率高，一致性好。

产品特点：

- 可搭配两个氮吹头，加倍工作效率
- 氮吹头高度可调，适用各种使用场景
- 加热气体设计，温度精确可控，氮吹均一性好
- 体积小，且拥有触控屏设计，氮吹时间可设定，免去人工看管
- 可拆卸供气模块，方便清洗氮吹针；更可搭配 48 位氮吹头，适配 1.5 mL tube 管等



货号：NV96-G-S

接收板、盖垫订购信息

名称	规格	包装	订货号	盖垫匹配备注
96 孔深孔接收板	1 mL, 8×12 孔, 方孔圆底	20/pk	96SP1036-20	96GP2036
	1.5 mL, 8×12 孔, 方孔圆底	1/pk	96SP2036-1	96GP2036
	2.2 mL, 8×12 孔, 方孔圆底	10/pk	96SP2036-2	96GP2036
	1 mL, 8×12 孔, 圆孔圆底	10/pk	96SP1036-Y	96GP2036-M
	2.0 mL, 8×12 孔, 圆孔圆底	10/pk	96SP2036-Y	96GP1036-M
	0.3 mL, 8×12 孔, 圆孔 U 型底	10/pk	96SP0236-U	96GP2036-M
	0.3 mL, 8×12 孔, 圆孔 V 型底	10/pk	96SP0236-V	96GP2036-M
8 孔储液槽	20 mL	10/pk	08SP2036	—
12 孔储液槽	14 mL	10/pk	12SP1436	—
废液槽	—	10/pk	96WSP	—
96 孔硅胶盖板	8×12 孔, 方孔, 不可穿刺	10/pk	96GP2036-1	—
96 孔硅胶盖板	8×12 孔, 方孔, 可穿刺	5/pk	96GP2036	—
96 孔硅胶盖板	8×12 孔, 圆孔, 可穿刺	10/pk	96GP1036-M	—
96 孔硅胶盖板	8×12 孔, 圆孔, 可穿刺	10/pk	96GP2036-M	—



典型应用实例

血清中 20 种类固醇激素 LC-MS 分析

类固醇激素是一类脂溶性小分子激素，是由胆固醇经一系列酶催化而来，可分为肾上腺皮质激素和性激素两类，在维持机体正常内分泌，调节性功能、机体发展、免疫调节及生育控制方面有明确的作用。人体内类固醇激素的升高或者降低与一些临床疾病，如，先天肾上腺增生、多囊卵巢综合症、内分泌紊乱、肾上腺皮质功能及 (3,17 和 21) 羟化酶缺乏症等息息相关。各个类固醇激素作为代谢网络中的节点相互影响，如能详尽表征代谢网络上下游中各激素的含量变化情况，对临床疾病的确诊、机体内分泌状态的监控等具有种重要意义。

样品制备

预处理：

准确量取 200 μ L 样品于 1.5 mL 塑料离心管中，加入 20 μ L 同位素内标混合工作液，200 μ L 甲醇，涡旋 1 min，加入 200 μ L 水，涡旋 1 min，10000 rpm 离心 5 min，取上层溶液待用。

固相萃取 (SPE)：

前处理耗材：Cleanert PEP 96 Well Microplates (2 mg/mL)

货号：PE00201-MW

活化：依次加入 200 μ L 甲醇，200 μ L 水进行活化

上样：350 μ L 预处理后的上清液

淋洗：依次用 200 μ L 10 % 乙醇水溶液和 200 μ L 正己烷进行淋洗

洗脱：加入30 μ L洗脱溶剂进行洗脱，收集洗脱液，用10 %乙醇水溶液稀释至200 μ L，混匀待测。

液相条件

色谱柱：Kinetex C18
规格：3.0 $\times$ 100 mm，2.6 μ m
货号：00D-4462-Y0
流动相：A：0.5 mM 氟化铵水溶液
B：甲醇，洗脱流程如表 1
流速：0.6 mL/min
柱温：40 $^{\circ}$ C
进样量：20 μ L
梯度程序：

时间 (min)	A(%)	B(%)
0	50	50
4	40	60
6.5	25	75
7.2	10	90
10	10	90
10.2	50	50
12	50	50

质谱条件

电离方式：电喷雾离子源，正负离子同时采集
检测方式：分时间窗口 (schedule)，多反应监测 (MRM)
离子源温度 (TEM)：600 $^{\circ}$ C
雾化气 (Gas1)：60 psi
辅助气 (Gas2)：60 psi
气帘气 (Gurtain Gas)：5 psi
电喷雾电压：5500V(+)/ -4500V(-)

表 1 待测组分和内标物质的质谱参数 (正离子模式)

中文名	英文名	Q1	Q3	DP	CE
17 α - 羟孕酮	17 α -Hydroxyprogesterone	331.4	109.2*	100	40
		331.4	97.1	100	35
皮质酮	Corticosterone	347.2	91.3	80	80
		347.2	121.2*	80	33
双氢睾酮	Stanolone; DHT	291.3	159.1	110	32
		291.3	255.2*	110	24
孕烯醇酮	Pregnenolone	299	159.3*	140	34
		299	133.1	140	35
孕酮	Progesterone	315.2	97.1*	160	27
		315.2	109.2	160	15
11- 脱氧皮质醇	11-Doxycortisol	347.2	97.1*	100	33
		347.2	109.1	100	45
		347.2	311.1	100	25
21- 脱氧皮质醇	21-Doxycortisol	347.2	311.2*	70	25
		347.2	121.1	70	40
		347.2	269.2	70	28
21- 羟基孕酮	21-Hydroxyproges-terone	331.2	97.1*	100	30
		331.2	109.1	100	33
雄烯二酮	Androstenedione	287.1	97.1*	80	30
		287.1	109.1	80	30
可的松	Cortisone	361.2	163.1*	140	15
		361.2	121.2	140	40
褪黑素	Melatonin	233.1	174.1*	80	20
		233.1	159.1	80	40

中文名	英文名	Q1	Q3	DP	CE
睾酮	Testosterone	289.2	97.3*	100	31
		289.2	109.3	100	36
皮质醇； 氢化可的松	Cortisol	363.1	121	280	15
		363.1	115.1*	200	80
脱氢表雄酮	DHEA	271.2	253.3*	60	18
		271.2	196.9	60	25
IS-17 α -Hydroxyprogesterone		334.3	112.2	100	40
IS- Corticosterone		351.3	121	120	35
IS-DHT		294.3	258	100	24
IS-Pregnenolone		303.3	163.2	140	47
IS-Progesterone		324	100	160	30
IS-11-Doxycortisol		352.2	100	100	35
IS-21-Doxycortisol		355.3	319.3	70	30
IS-21-Hydroxyprogesterone		338	100	100	30
IS-Androstenedione		290	100	80	30
IS-Cortisone		369	169	100	40
IS- Melatonin		237	178	80	20
IS-Testosterone		292	100	100	30
IS- Cortisol		367	121	140	40
IS- DHEA		277.2	259.3	140	22

* 定量离子

* 定量离子

表 2 待测组分和内标物质的质谱参数 (负离子模式)

中文名	英文名	Q1	Q3	DP/V	CE/V
醛固酮	Aldosterone	359.1	189.1*	-100	-24
		359.1	331.3	-100	-24
		359.1	297.3	-100	-20
雌三醇	Estriol	287.2	171*	-160	-51
		287.2	145.2	-160	-54
雌酮	Estrone	269.1	145.2*	-150	-50
		269.1	159.1	-150	-50
17 α - 羟基孕烯醇酮	17 α -hydroxypregnenolone	331.1	287.3	-70	-30
		331.1	303.3*	-70	-30
		331.1	313.2	-70	-30
硫酸脱氢表雄酮	DHEAS	367.1	97	-280	-30
		367.1	80*	-280	-80

中文名	英文名	Q1	Q3	DP/V	CE/V
雌二醇	Estradiol	271.2	183.1	-120	-50
		271.2	145*	-120	-50
IS- Aldosterone		363.2	301.2	-120	-22
IS- Estriol		290.2	173	-160	-54
IS-Estrone		273	147	-150	-50
IS-17-hydroxypregnenolone		335.1	316.4	-80	-27
IS-DHEAS		373	98	-50	-50
IS-Estradiol		274	145	-180	-55

* 定量离子

* 定量离子

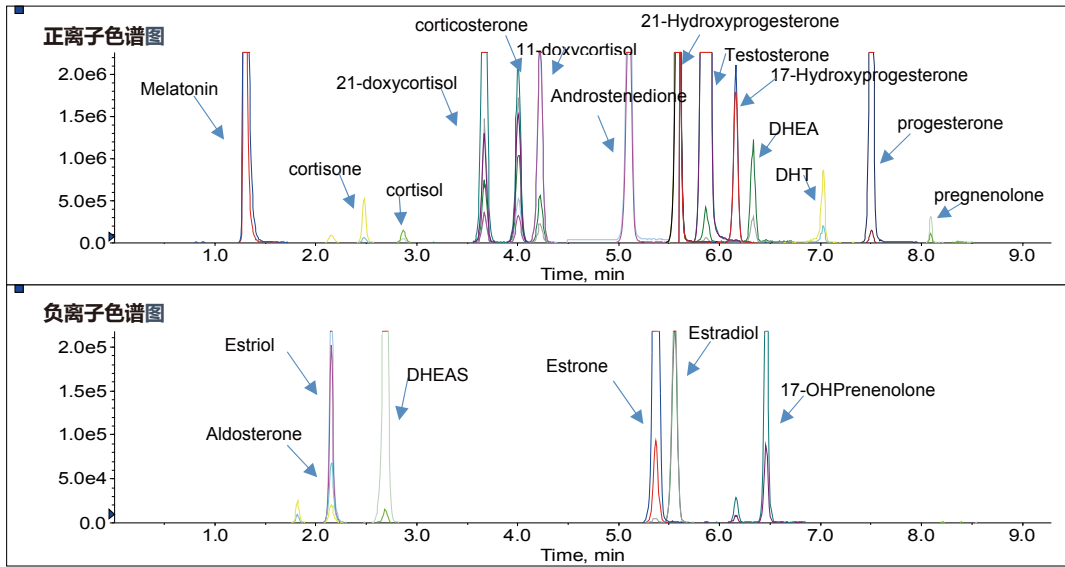


图 1. 20 种激素典型色谱图

表 3. 20 种激素典型标准曲线

中文名	英文名	线性方程	相关系数	标曲范围 *
17α- 羟孕酮	17α-Hydroxyprogesterone	$Y=1.65094x+0.01073$	0.9979	0.05-50
皮质酮	Corticosterone	$Y=1.23450x+0.01042359.1$	0.9991	0.1-50
双氢睾酮	Stanolone; DHT	$Y=1.68540x+0.00372$	0.9976	0.01-20
孕烯醇酮	Pregnenolone	$Y=0.47991x+0.00383$	0.9971	0.05-20
孕酮	Progesterone	$Y=0.09829x+0.00444$	0.9974	0.5-100
11- 脱氧皮质醇	11-Doxycortisol	$Y=1.69897x+0.00158$	0.9981	0.01-20
21- 脱氧皮质醇	21-Doxycortisol	$Y=4.67089x+0.00262$	0.9967	0.01-10
21- 羟基孕酮	21-Hydroxyprogesterone	$Y=2.44405x+0.00441$	0.9984	0.01-10
雄烯二酮	Androstenedione	$Y=1.39500x+0.00776$	0.9967	0.05-20
可的松	Cortisone	$Y=0.04064x+0.00142$	0.9993	0.5-100
褪黑素	Melatonin	$Y=0.97131x+4.73878e-4$	0.9991	0.01-10
睾酮	Testosterone	$Y=0.99457x+0.01098$	0.9997	0.1-20
皮质醇; 氢化可的松	Cortisol	$Y=0.04354x+0.00365$	0.9988	1 - 500
脱氢表雄酮	DHEA	$Y=0.78036x+0.00384$	0.9982	0.1 - 50
醛固酮	Aldosterone	$Y=0.11711x+0.00207$	0.9994	0.05 - 20
雌三醇	Estriol	$Y=1.74570x+0.00495$	0.9988	0.05 - 20
雌酮	Estrone	$Y=1.40195x+0.00163$	0.9995	0.05 - 20
17α- 羟基孕烯醇酮	17α-hydroxypregnenolone	$Y=4.33931x+0.08583$	0.9974	0.1 - 20
硫酸脱氢表雄酮	DHEAS	$Y=0.01471x+0.00690$	0.9992	1 - 1000
雌二醇	Estradiol	$Y=1.96585x+0.01268$	0.9989	0.05 - 50

* 根据各激素在实际样本中参考范围，不同激素选择不同浓度范围建立标准曲线。

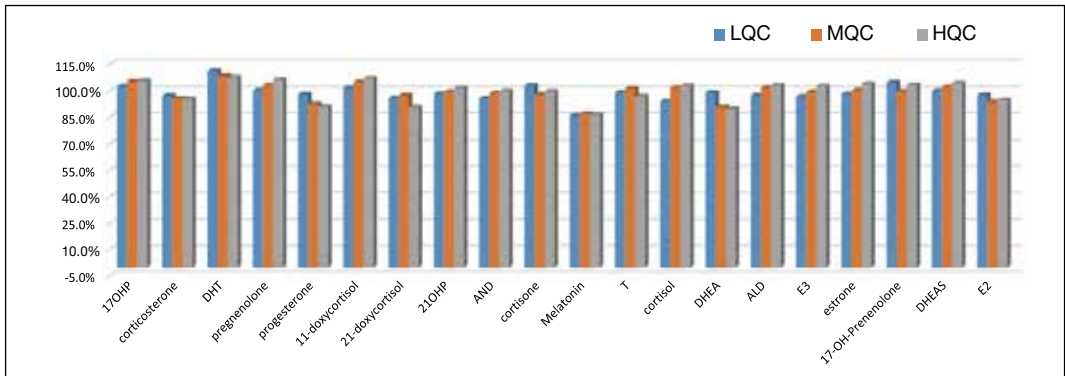


图 2. 20 种激素低、中、高浓度水平加标回收率



血浆中 6 种儿茶酚胺类物质的 LC-MS 分析

嗜铬细胞瘤及副神经节瘤 (PPGL) 是一种能够引起内分泌性高血压的少见神经内分泌肿瘤，在普通高血压门诊中患病率为 0.2% - 0.6%，在儿童高血压患者中为 1.7%。PPGL 患者的主要临床表现为儿茶酚胺 (catecholamine, CA) 类物质分泌增多，进一步导致高血压及心、脑、肾血管并发症和代谢性改变，在经准确诊断后，可通过手术治疗，属于一种可治愈的继发性高血压。

CA 是一类含有儿茶酚和胺基的神经类物质，是人体内重要的神经递质和激素，包括肾上腺素 (E)、去甲肾上腺素 (NE) 和多巴胺 (DA)。CA 在儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT) 的作用下生成变肾上腺素类物质 (metanephrines, MNs)，主要包括甲氧基肾上腺素 (MN)、甲氧基去甲肾上腺素 (NMN) 和 3-甲氧酪胺 (3-MT)。在《嗜铬细胞瘤和副神经节瘤诊断治疗的专家共识 (2020)》中，推荐：诊断 PPGL 的实验室检查首选血浆游离或尿液甲氧基肾上腺素 (MN)、甲氧基去甲肾上腺素 (NMN) 浓度测定；建议：可同时检测血或尿 NE、E、DA 及其他代谢产物 3-MT 等浓度以帮助诊断。

样品制备

预处理：

取 350 μ L 血浆，加入 10 μ L 标准品溶液及 10 μ L 内标溶液，涡旋震荡 1 min，加入 350 μ L 50 mM 乙酸铵溶液，涡旋震荡 1 min，待净化。

固相萃取 (SPE)：

前处理耗材：Cleanert PWCX 96 Well Microplates (5 mg/mL)

货号：WC00501-MW

活化：依次使用 200 μ L 甲醇，200 μ L 25 mM 乙酸铵溶液进行活化。

上样：将预处理的样品全部上样。

淋洗：依次使用 400 μ L 25 mM 乙酸铵溶液，400 μ L 乙腈进行淋洗。

洗脱：使用 100 μ L 5% 甲酸乙腈溶液对孔板两次洗脱。

氮吹复溶：将 2 次洗脱溶液涡旋并在 37°C 下氮吹，然后使用 100 μ L 初始比例流动相复溶，并涡旋 1min 后进样检测。

液相条件

色谱柱：Kinetex F5

规格：3.0 $\times$ 100 mm, 2.6 μ m

货号：00D-4723-Y0

流动相：A：含甲酸的水溶液

B：含甲酸的甲醇，梯度洗脱

流速：0.4 mL/min

柱温：40°C

质谱条件

电离方式：电喷雾离子源，正离子

检测方式：多反应监测 (MRM)

离子源温度 (TEM)：500°C

雾化气 (Gas1)：60 psi

辅助气 (Gas2)：40 psi

气帘气 (Gurtain Gas)：30 psi

电喷雾电压：1500V



表 1 质谱参数

Q1	Q3	DWELL	ID	DP	CE	Q1	Q3	DWELL	ID	DP	CE
154.1	137.1	15	DA -1	50	15	168	119.1	15	3-MT 168-1	55	24
154.1	119	15	DA -2	55	25	168	91	15	3-MT 168-2	55	33
154.1	91	15	DA -3	55	31	158	141.1	15	DA-D4 158-1	50	16
166	107	15	E -1	95	26	158.1	139.1	15	NE-D6 158-1	90	19
166	135.1	15	E -2	95	20	190.1	172.2	15	E-D6 190-1	40	15
184.1	166.1	15	E-3	50	15	172	112.1	15	E-D6 172-2	90	28
152	135	15	NE -1	60	18	183.1	151.1	15	MN-D3-1	80	25
152.1	107	15	NE -2	80	24	183.1	123.1	15	MN-D3-2	80	25
166	134.1	15	NMN 166-1	85	22	169.1	137.1	15	NMN-D3-1	80	25
166	121.1	15	NMN 166-2	85	23	169.1	109.1	15	NMN-D3-2	45	19
180	148.1	15	MN 180-1	90	24	172.1	123.1	15	3-MT-D4-1	55	26
180	120.1	15	MN 180-2	90	26	172.1	95.1	15	3-MT-D4-1	55	35

表 2. 6 种儿茶酚胺类化合物典型标准曲线

中文名	英文名	线性方程	相关系数	标曲范围 *
肾上腺素	Epinephrine (E)	$Y=2.10E-4 x + 1.28E-3$	0.9965	0.02-10
去甲肾上腺素	Norepinephrine (NE)	$Y=3.54E-4 x + 1.94E-3$	0.9987	0.02-10
多巴胺	Dopamine (DA)	$Y=1.75E-4 x + 1.45E-3$	0.9977	0.02-10
变肾上腺素	Metanephrine (MN)	$Y=8.12E-5 x + 2.34E-4$	0.9970	0.02-10
去甲变肾上腺素	Normetanephrine(NMN)	$Y=1.45E-4 x + 1.57E-4$	0.9966	0.02-10
3- 甲氧酪胺	3-Methoxytyramine(3-MT)	$Y=2.62E-4 x + 1.57E-3$	0.9979	0.02-10

* 单位: ng/ml; 本实验条件下, 统一配置标准曲线范围如表所示, 具体曲线范围可根据真实需求调整。

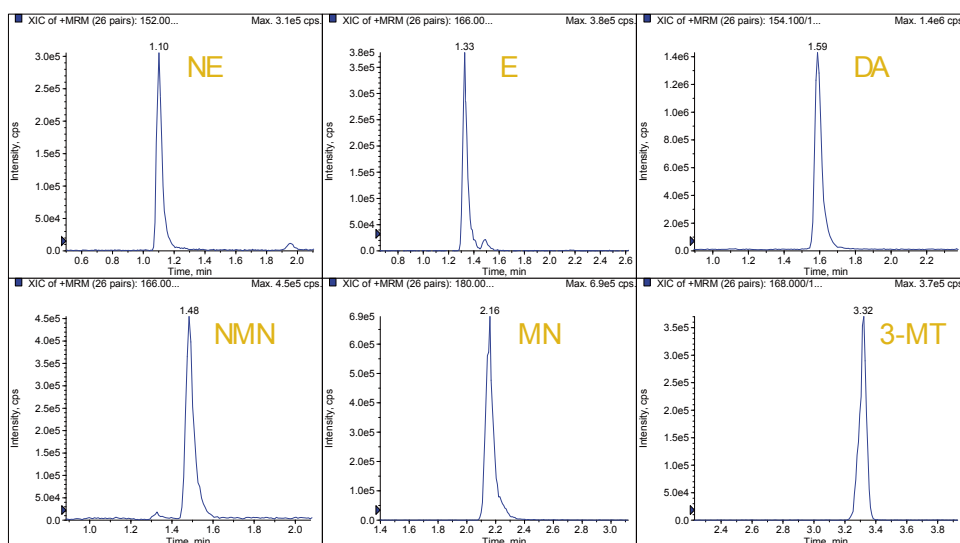


图 1. 6 种儿茶酚胺类化合物典型色谱图

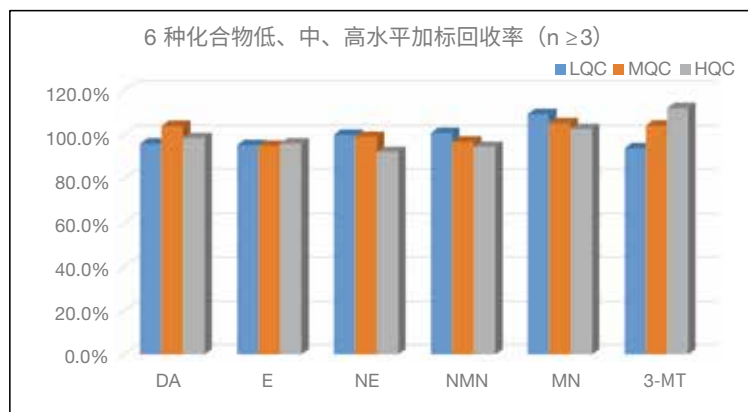


图 2. 6 种儿茶酚胺类化合物低、中、高浓度水平加标回收率

血浆中司美格鲁肽与替尔泊肽药物的测定

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 激动剂被认为是未来几年最具市场增长潜力的一类糖尿病药物。司美格鲁 (Semaglutide, 又称索马鲁肽) 和替尔泊肽 (Tirzepatide, 又称替西帕肽), 作为新一代的 GLP-1 药物, 不仅可以刺激体内胰岛素的释放, 有效地控制血糖水平, 同时可以抑制胃肠蠕动, 增加饱腹感, 抑制食欲。它们在降糖、减重、心血管收益、安全性等方面均展现出良好的临床优势。本文建立了一种血浆中索马鲁肽和替尔泊肽药物的测定方法, 为药物安全性和治疗效果的进一步研究提供科学依据。

样品制备

预处理:

200 μ L 血浆, 加入 400 μ L 甲醇蛋白沉淀, 15000 g/5min 离心取 500 μ L 上清, 再加入 400 μ L 水稀释, 涡旋混匀, 待净化。

固相萃取 (SPE):

前处理耗材: Cleanert 多肽检测专用板 3 (5 mg/1 mL/Well)

货号: Peptide-3-MW

前处理仪器: Cleanert M96 生物样品前处理仪

货号: SPE-M96

活化: 6孔板依次使用200 μ L 甲醇、200 μ L 水活化

上样: 加载预处理后的血浆至活化后微孔板

淋洗: 使用 500 μ L 水淋洗微孔板

洗脱: 用50 μ L 洗脱液(5%甲酸乙醇: 水=4:1)洗脱2次, 涡旋混合, 待检测。

液相条件

色谱柱: Aeris peptide XB-C18

规格: 2.1 $\times$ 100 mm, 2.6 μ m

货号: 00D-4505-AN

流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液

B: 0.1% 甲酸乙腈溶液

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 $^{\circ}$ C

进样量: 5 μ L

梯度程序见表2

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	70	30
0.5	70	30
3.0	35	65
3.5	35	65
4.0	2	98
5.5	2	98
5.6	70	30
7.0	70	30

质谱条件

离子源类型: 电喷雾离子源 (ESI+)

扫描方式: 多反应监测正负离子模式 (MRM)

喷雾针电压: 喷雾针电压: 5500 V

离子源温度: 离子源温度: 450 $^{\circ}$ C

加热器(GS1): 加热器 (GS1) : 60 psi

辅助加热气(GS2): 辅助加热气 (GS2) : 60 psi

气帘气(CUR): 气帘气 (CUR) : 30 psi

碰撞气(CAD): 碰撞气 (CAD) : High

表 1 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
Semaglutide	1029.3	1238.5	40	41
		1110.3	40	39
		690.2	40	39
		960.5	40	52
Tirzepatide	1204.2	396.3	67	36
		910.0	67	33
		795.8	67	35

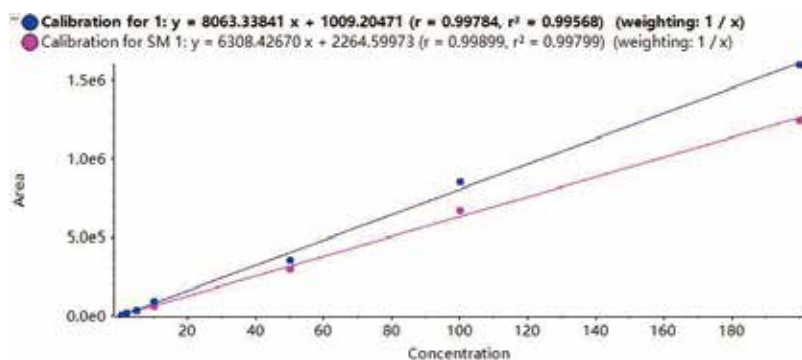


图 1. 标准曲线

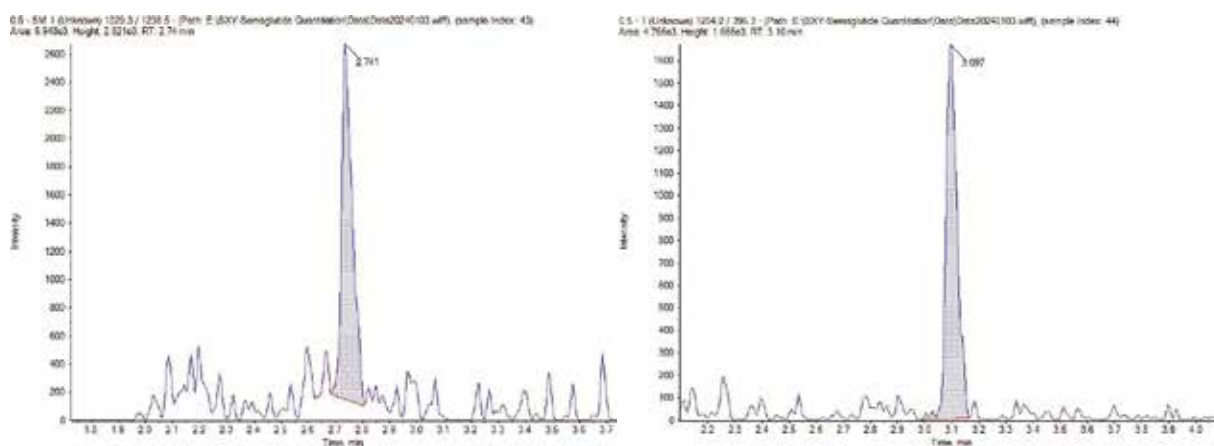


图 2. LQD-0.5 ng/mL 基质标定量离子色谱图

表 2 加标回收和基质效应结果

化合物	加标浓度	绝对回收率 %	基质效应
Semaglutide	10 ng/mL	82.4%	76.6%
	100 ng/mL	95.8%	87.0%
Tirzepatide	10 ng/mL	81.3%	60.6%
	100 ng/mL	93.5%	58.8%

结论

本实验建立了血浆中索马鲁肽 (Semaglutide) 和替尔泊肽 (Tirzepatide) 的定量方法, LQD 可以做到 0.5 ng/mL, 线性范围 0.5 ng/mL~200 ng/mL, 外标法回收率均在 80% 以上。

我们知道
选择适配的前处理产品及色谱柱
是比较困难的任务
让我们“柱”您一臂之力

Did you know?

Xccelerator 会根据您公司的要求, 提供不同阶段的支持, 从分析方法开发到制备纯化, 加速您公司药物研发的进程。我们也非常乐意让我们的科学家到您的实验室帮助解决问题, 或者提供现场培训、专项研讨会或技术咨询。

扫描二维码
提交您的加速需求



中国总部

地址：天津市开发区西区南大街179号

电话：022-25321032

传真：022-25321033

邮箱：cninfo@phenomenex.com

客服热线：400-606-8099

全球总部

地址：411 Madrid Avenue

Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

北京

地址：北京市朝阳区酒仙桥中路878东区5层

电话：010-58081368

传真：010-58081358

上海

地址：上海市长宁区福泉北路518号1号楼5层

电话：021-24197358

传真：021-24197333



商标

Cleanert 是 Agela 的注册商标。Kinetex 和 Aeris 是 Phenomenex 的注册商标。

免责声明

比较分离可能无法代表所有应用。

仅用于研究，不用于诊断程序。

本手册中的实验图表及所得出的数据均为本公司在自有实验室中依据所列明的实验条件完成所得。

© 2024 天津博纳艾杰尔科技有限公司版权所有。

