DPX枪头式分散固相微萃取柱（DPX tips™）及HAMLTON® 自动移液系统在唾液药物代谢产物全自动分析中的应用

优点: 溶剂体积小,纯化时间小于 10 min

DPX - RP/WAX Tips

简介

唾液作为人体药物检测的另一种采样方式，越来越受到欢迎。唾液的采集操作简单，无创，并且容易监测。与其它基质一样，在进行 LC-MS/MS 检测前需要纯化以去除基质干扰。然而，这个过程比较耗时，一直是药物检测的瓶颈。

DPX 萃取是一种改良的 SPE 技术，分散的树脂使得所需溶液更少，更节省纯化步骤。DPX-CO-RE 技术与全自动移液系统 NIMBUS96 联合使用使得样品纯化更加快速并且高通量。本文阐述的方法可重复性强，可满足临床及毒理实验室检测分析的要求。



Hamilton Nimbus96 with DPX - RP/WAX Tips

材料与方法

1. 将加有溶液的储液槽、空 96 孔板及加有 250 µL 唾液样品的板载入 NIMBUS 96 系统。
2. 利用 NIMBUS 96 系统一 96 孔板加入200 µL水，一96 孔板加入500 µL含有1%甲酸的乙腈，一 96 孔板加入含有 1% 甲酸的乙腈。
3. 安装 DPX-RP/WAX（300 µL） 枪头，并在 30% 甲醇中平衡柱子。
4. 上样：DPX Tips 在唾液样品中反复吸打五次。
5. 洗涤：DPX Tips 在水中反复吸打，以洗去游离的盐。
6. 洗脱：

（1）DPX Tips 在 500 µL 含有 1% 甲酸的乙腈中吸打三次；

（2）DPX Tips 吸取另一 96 孔板中的 250 µL 含有 1% 甲酸的乙腈，再释放到 500 µL 含有 1% 甲酸的乙腈的孔板中。此洗脱步骤对于提高THC的回收率是必需的。

7. 750 µL 洗脱液蒸发干燥，复溶于 125 µL 含有 10% 甲醇的水中。

1 平衡	30% 甲醇
2 上样	唾液
3 洗涤	水
4 洗脱	0.1% 甲酸乙腈溶液
5. 蒸发溶剂	750 µL 洗脱液干燥
6 复溶	125 µL 10% 甲醇水溶液复溶

9. 分析仪器：Thermo TSQ Vantage triple quadrupole instrument，Agilent 1260 HPLC + Agilent Poroshell EC-C18 column (3.0 x 50 mm, 2.7 µm)。
10. 进样量：10 µL。

结果与讨论

检测结果为线性的，准确可靠。在 2.5-500 ng/mL 浓度范围，相关系数大于 0.99，大部分化合物在 0.625–500 ng/mL 浓度范围内呈线性。以 100 ng/ml 浓度，6 孔重复提取计算，相对标准偏差(%RSD）在 1.6-8% 之间。以 3.3(σ/m) 计算值为检测线，其中 σ 为的标准差最低非零校准器，m 为校正曲线的斜率。10(σ/m) 计算值为定量限。检测限（LODs）为 0.023 - 4.3 ng/mL，定量限（LOQs）为 0.069-13 ng/mL（表1）。

检测限（LODs）和定量限（LOQs）的结果是由实验分析方法和 LC-MS/MS 灵敏度决定。为了提高灵敏度，干燥的样品可复溶于62.5 µL 10% 的甲醇中。唾液样品量的增加也可提高灵敏度。

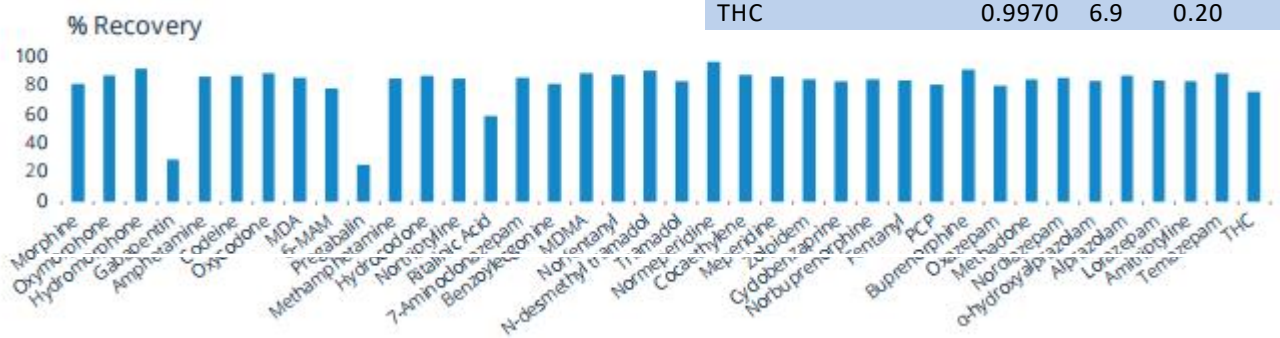
需要注意的是纯化步骤中的两步洗脱对于提高 THC 的回收率是必需的。

结论

DPX tips 联合 Hamilton NIMBUS96 自动化系统可简便，快速，高通量的完成样品制备。该方法灵敏度高，准确性好，是临床和法医实验室的理想选择。

表1. 化合物相关系数、相对标准偏差、检测限和定量限

Compound	R^2	% RSD (n=6)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Morphine	0.9996	3.3	0.18	0.54
Oxymorphone	0.9962	2.1	0.37	1.1
Hydromorphone	0.9994	1.9	0.24	0.72
Gabapentin	0.9991	2.4	0.34	1.0
Amphetamine	0.9967	2.9	3.0	9.0
Codeine	0.9995	2.3	4.3	13.0
Oxycodone	0.9993	3.0	0.8	2.4
MDA	0.9965	5.1	1.7	5.1
6-MAM	0.9943	7.7	1.1	3.3
Pregabalin	0.9988	3.3	0.76	2.3
Methamphetamine	0.9994	2.6	0.28	0.84
Hydrocodone	0.9992	1.5	0.29	0.87
Nortriptyline	0.9984	2.3	0.37	1.1
Ritalinic Acid	0.9982	3.7	0.12	0.36
7-Aminoclonazepam	0.9960	2.6	0.42	1.3
Benzoylecgonine	0.9978	1.8	0.16	0.48
MDMA	0.9995	1.9	0.14	0.42
Norfentanyl	0.9972	3.6	3.0	8.9
N-desmethyl tramadol	0.9936	2.8	1.8	5.5
Tramadol	0.9939	2.5	0.46	1.4
Normeperidine	0.9979	3.1	0.17	0.51
Cocaethylene	0.9978	3.1	0.023	0.069
Meperidine	0.9979	1.9	0.061	0.18
Zolpidem	0.9903	11.0	0.43	1.3
Cyclobenzaprine	0.9987	3.7	0.01	0.03
Norbuprenorphine	0.9933	7.4	0.59	1.8
Fentanyl	0.9988	1.7	0.17	0.51
PCP	0.9975	6.9	0.65	2.0
Buprenorphine	0.9956	8.0	1.1	3.3
Oxazepam	0.9990	2.2	0.53	1.6
Methadone	0.9988	6.0	0.18	0.53
Nordiazepam	0.9993	1.4	0.42	1.3
α-hydroxyalprazolam	0.9984	2.7	3.0	8.9
Alprazolam	0.9989	4.2	0.11	0.33
Lorazepam	0.9989	5.4	0.46	1.4
Amitriptyline	0.9991	1.6	0.35	1.1
Temazepam	0.9991	3.1	0.18	0.54
THC	0.9970	6.9	0.20	0.59



如图所示：DPX RP/WAX Tips 单次提取分析物的回收率。相关化合物包括阿片类药物、阿片类药物、苯二氮卓类药物、常见滥用药物、非阿片类镇痛药、抗惊厥药、镇静催眠药、兴奋剂、抗抑郁药和代谢物。