使用 SCX-XTR 柱子结合 LC-MS/MS 定量法检测尿液中的芬太尼、诺芬太尼、丁丙诺啡和降丁丙诺啡

优势： 15 分钟内检测 96 个样品

SCX- XTR

简介

芬太尼和丁丙诺啡是强效镇痛剂，有医学使用价值，但容易被滥用。因此，它们是临床和法医实验室中最常被监测的两种分析物。由于其高效力和低剂量，尿液浓度比其他常见的麻醉剂/阿片类药物低得多。这使得大多数实验室都在努力提高其方法的灵敏度和检测速度。该方法采用含有强阳离子交换（SCX）树脂的 DPX INTip 技术，建立了一种简单、快速和灵敏的方法，帮助实验室提高检测这些化合物及其代谢物的效率。

材料与方法

将含有尿液（200 µL）、100 µL 乙酸盐缓冲液和10 µL 内标物的微孔板装入 Hamilton Microlab NIMBUS 96。另外的微孔板装入 900 µL 0.1 N 盐酸（洗涤液 1）、600 µL 甲醇（洗涤液 2）和 300 µL 78:20:2 二氯甲烷/异丙醇/氢氧化铵（DCM/IPA/NH4OH）洗脱溶剂。

样品纯化过程：

1. 将含有 5 mg SCX 的 XTR 柱子加载到 Hamilton 仪器上。
2. 平衡柱子： XTR 柱子在 30 % 的甲醇溶液中吸打多次。
3. 样品结合：XTR 柱子在样品溶液中吸打五次，结合化合物。
4. 洗涤1：分 3 次分别吸取 300 µL 洗涤液 1，然后释放丢弃溶液，以去除盐分和其他常见的干扰基质。
5. 洗涤2： 分 2 次分别吸取 300 µL 洗涤液 2，然后释放丢弃溶液，以去除常见的基质干扰。
6. 洗脱：XTR 柱子在 300 µL DCM/IPA/NH4OH 溶液中吸打三次，洗脱目标化合物。

样品检测：

1. 蒸发与复溶：将洗脱液蒸发，然后用 100 µL 20 % 甲醇水溶液复溶。
2. 检测仪器： Sciex 6500+三重四极杆质谱仪与 Agilent 1260 高效液相色谱仪。
3. 色谱柱： Phenomenex biphenyl （2.6 µm; 50 x 3.0 mm）。
4. 进样量：5 µL。

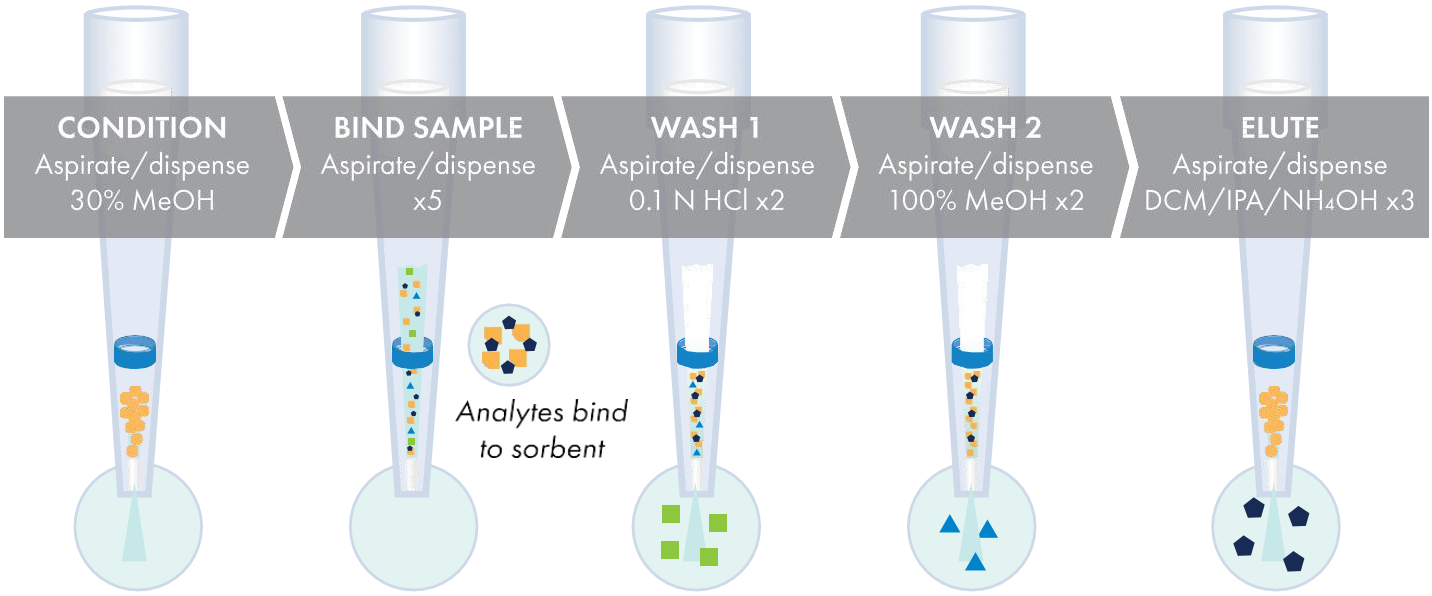
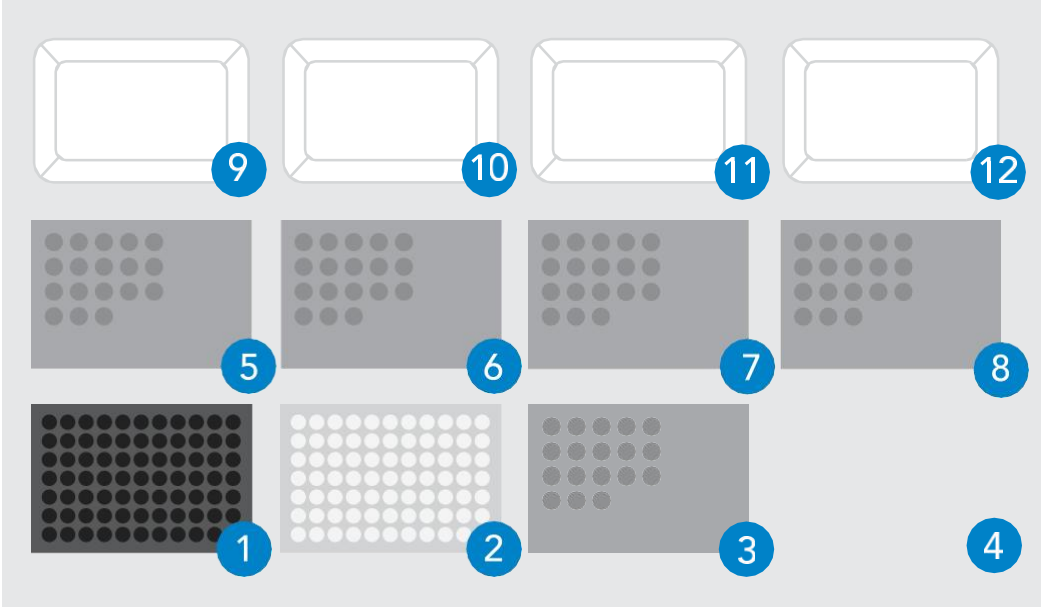


图1. INTip 固相萃取（SPE）方法示意图



1 XTR TIPS

2 Hamilton CO-RE 1 ml Tips

3 Condition

4 Empty Space

5 Sample
200 µL urine,100 µL acetate buffer,10 µL ISTD

6 Wash 1 0.1N HCl

7 Wash 2 MeOH

8 Elution DCM / IPA / NH_4OH

9 30 % MeOH

10 100 % MeOH

11 0.1N HCl

12 78:20:2
DCM / IPA / NH_4OH

图 2. NIMBUS96 工作台面布局，包括储液槽、孔板和移液枪头

结果

分析结果是线性的、准确可靠的。在 0.2 - 50 ng/ml 浓度范围内，诺芬太尼和芬太尼的相关系数（R^2）大于 0.99，在 0.8-50 ng / ml 浓度范围内，降丁丙诺啡和丁丙诺啡的相关系数（R^2）大于 0.99，所有分析物在一定的浓度范围内均表现出良好的线性关系。以 1.5 ng / ml 为提取浓度，5 次重复提取计算，四个化合物的相对标准偏差均低于 4 %。检测限（LODs）按 3 倍最低非零标准品的标准偏差计算，诺芬太尼和芬太尼的定量限（LOQs）为 0.2 ng / ml，降丁丙诺啡和丁丙诺啡为 0.8 ng / ml。

表1：诺芬太尼、降丁丙诺啡、芬太尼和丁丙诺啡的回收率、基质效应和检测限(LOD)。

化合物	回收率	基质效应	检测限 ng / mL
诺芬太尼	79%	-22%	0.022
降丁丙诺啡	89%	-38%	0.028
芬太尼	88%	-57%	0.017
丁丙诺啡	83%	-31%	0.28

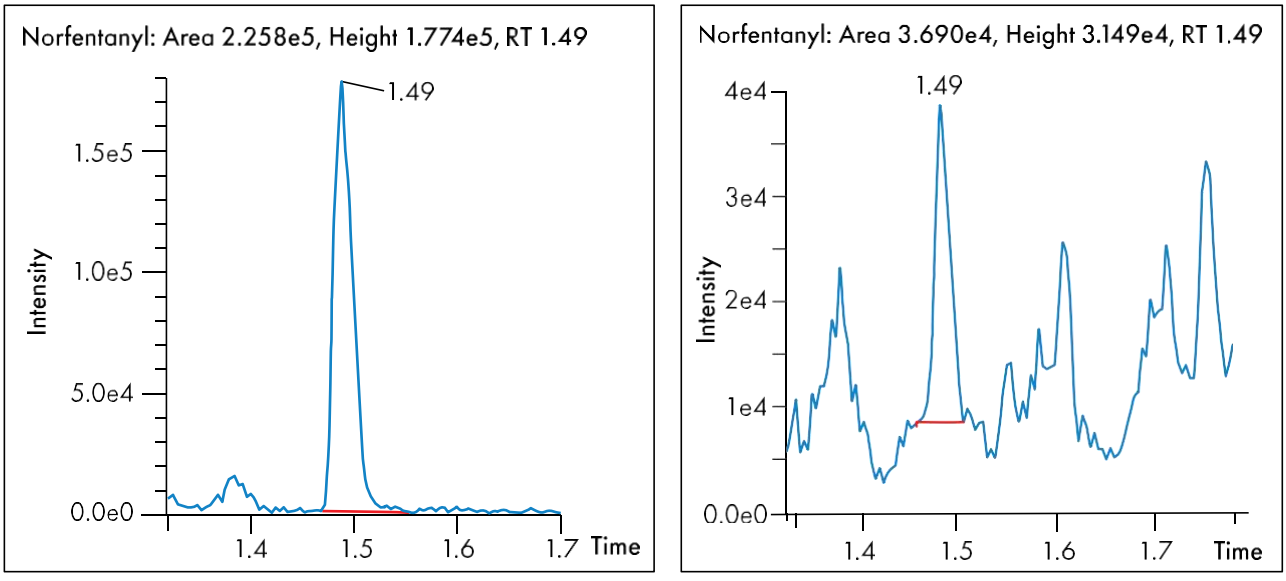


图 3：诺芬太尼在 LOQ 为 0.2 ng / mL 时的定量和定性色谱图(233.2 / 84.1 左；233.2 / 55.1 右)

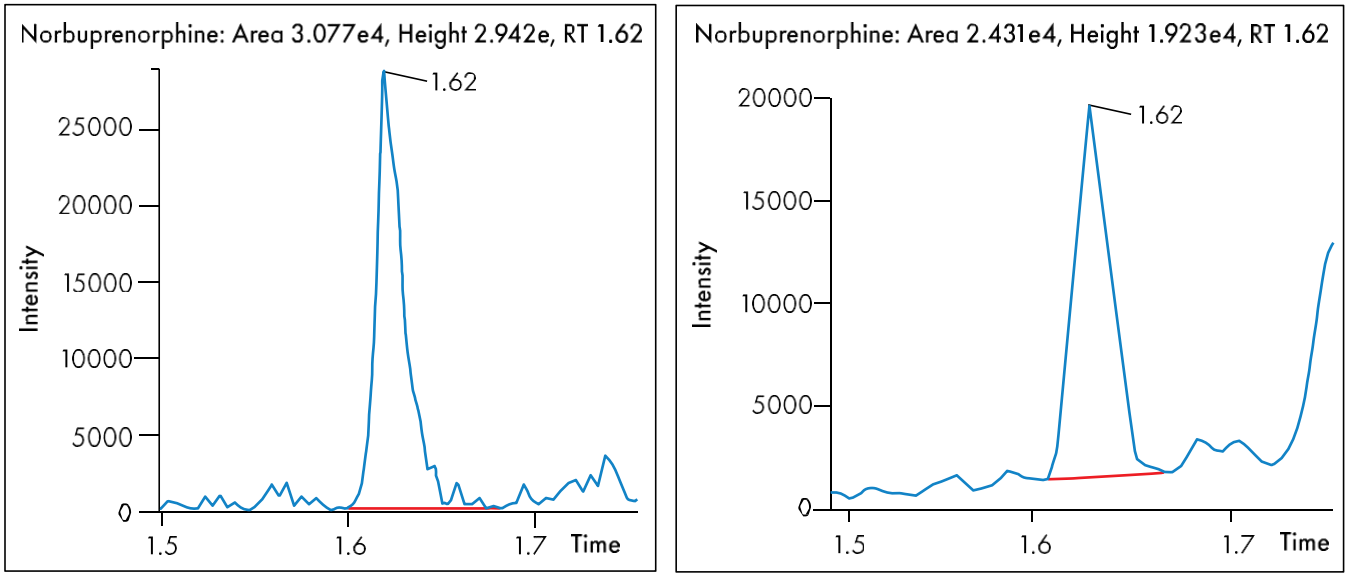


图 4：降丁丙诺啡在 LOQ 为 0.8 ng / mL 时的定量和定性色谱图(414.2 / 152.1 左；414.2 / 115.1 右)

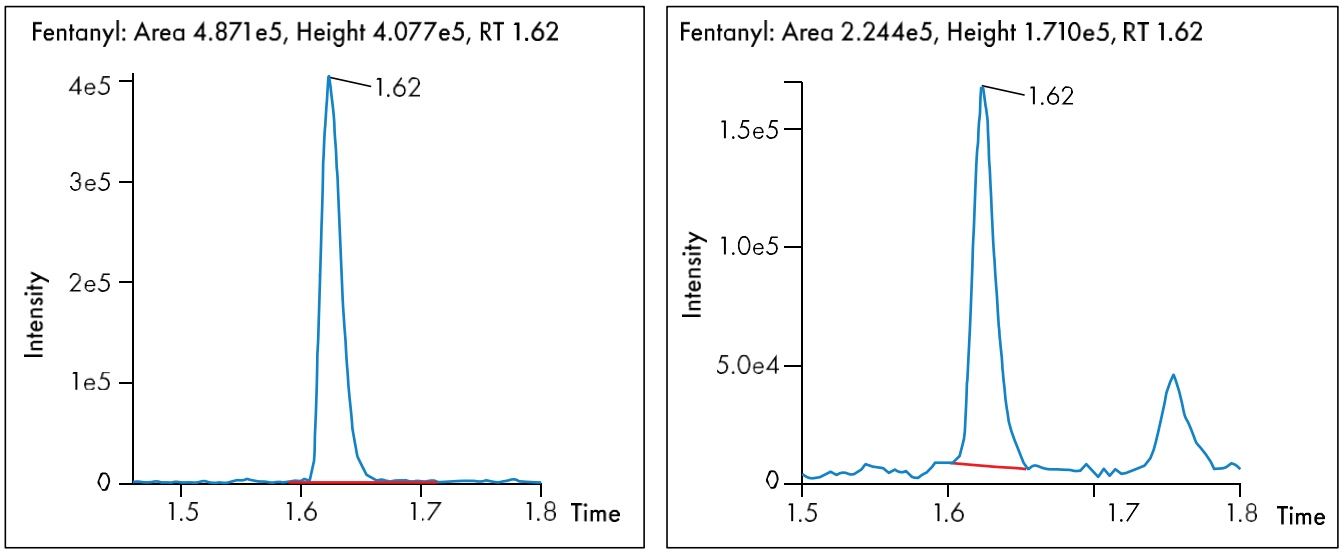


图 5：芬太尼在 LOQ 为 0.2 ng / mL 时的定量和定性色谱图 (337.1 / 188.2 左 ；337.1 / 105.1 右)

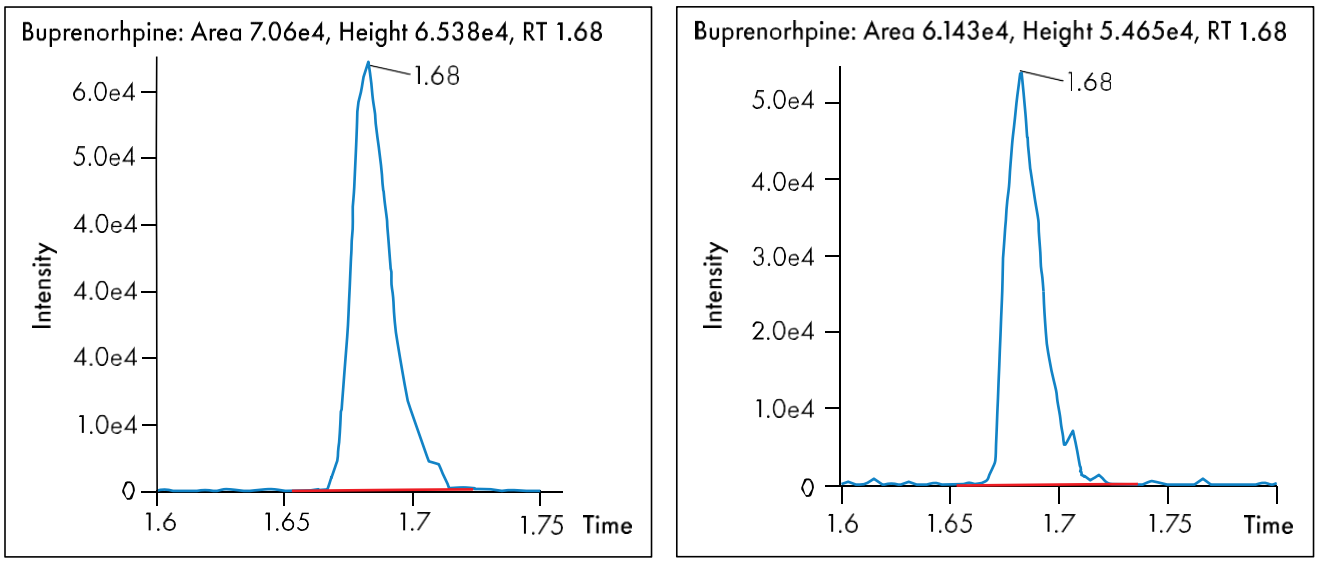


图6.：丁丙诺菲在 LOQ 为 0.8 ng / mL 时的定量和定性色谱图 (468.3 / 396.2 左；468.3 / 414.3 右)

结论

本文所述的 SCX XTR 方法比 WAX 方法需要更复杂的的溶剂制备过程，但它能更大程度地减少基质效应。当需要非常高的浓度因子时，最小的基质效应对满足必要的临界值至关重要。当实验室没有最先进的仪器设备时，往往会出现这种情况。SCX XTR 方法可在 15 分钟内处理多达 96 个样品，实现了快速、自动化和高通量的工作流程。该方法是稳定的、线性的，并提供了必要的灵敏度，以满足大多数实验室的需要。

产品

订购此应用程序中的产品，请使用该货号。

货号:	产品描述:
DPX170178	XIRtips: 5 mg SCX(60 µm) in 1 mL Hamilton

要定制该产品，请从我们网站上列出的可用选项中选择树脂数量和 Tips 规格。

CUSTOM METHOD DEVELOPMENT

We'll help you validate with an INTip method.

info@dpxlabs.com dpxtechnologies.com



无锡微色谱生物科技有限公司

地 址：江苏省江阴市月城镇北环路 19 号

电 话：17715681752

邮 箱：custserv@micro-sep.com

MicroSep Biotechnology LLC

ADD: 2411 Monroe ST, Columbia, SC, USA

Phone : 001-803-767-8196

Web: www.micro-sep.com