

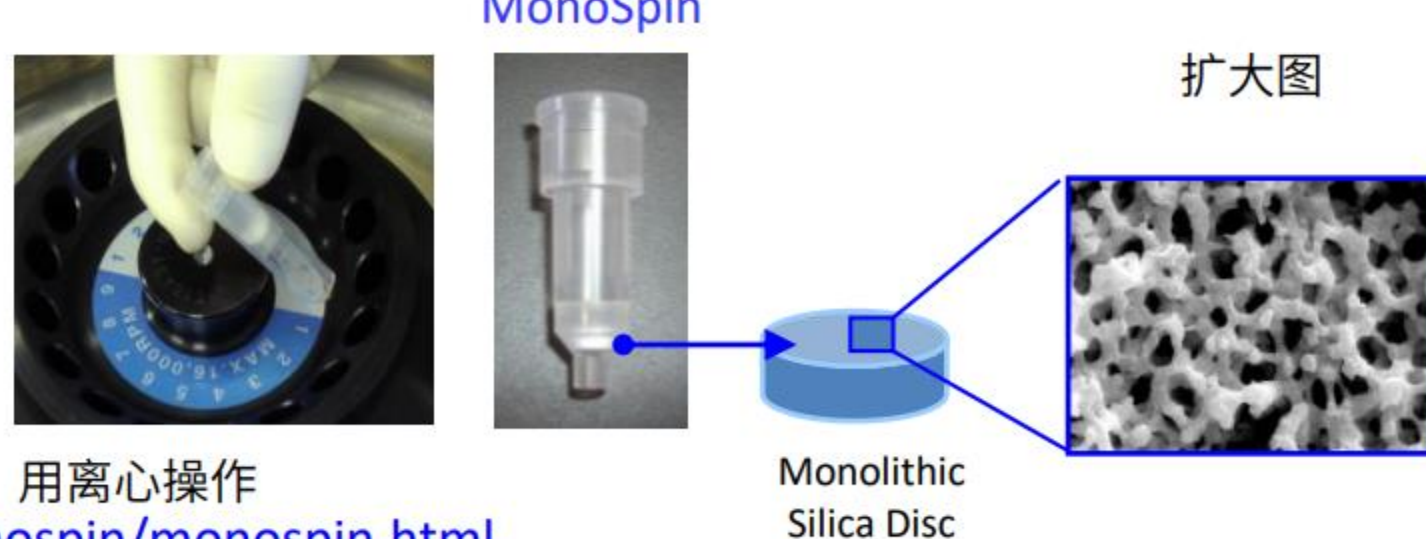
使用MonoSpin PBA纯化血清中的利巴韦林

利巴韦林是一种抗病毒药物，通过与干扰素联合使用，可用作丙型肝炎的治疗药物。它具有在体内积蓄的特性，可以通过解析体内动态，看出与治疗效果和副作用的关联。由于利巴韦林是亲水性的药物，所以C18等疏水性相互作用很难适用。因此，可以用具有利巴韦林选择性地吸附顺式二醇的MonoSpin PBA用于纯化。

利巴韦林以0.25至25 μ g/mL的浓度加入入血清中，用MonoSpin PBA纯化，然后通过HPLC分析。们使用了InertSustain AQ-C18，即使在含有大量水的流动相条件下也能稳定地进行分析。结果，可以方便和选择性地检测人血清中的利巴韦林。在本分析中，我们还描述了净化的注意事项，请在构建方法时参考。

◆什么是MonoSpin？

MonoSpin系列是使用具有均匀连续孔的二氧化硅整体型材料的小柱。由于使用具有高孔隙率的二氧化硅整体材料作为载体，它可以仅通过离心通完成过液。因此，可以在简单的操作中在短时间内纯化和浓缩样品。而且，由于床体积小，因此也适用于样品量少的分析。



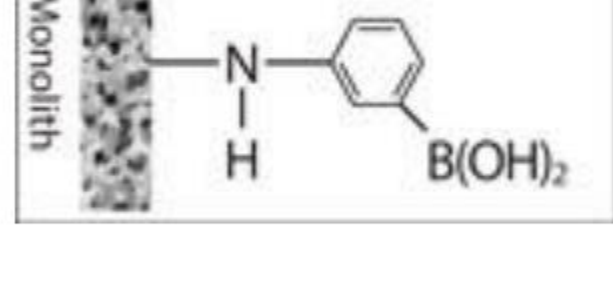
用离心操作

扩大图

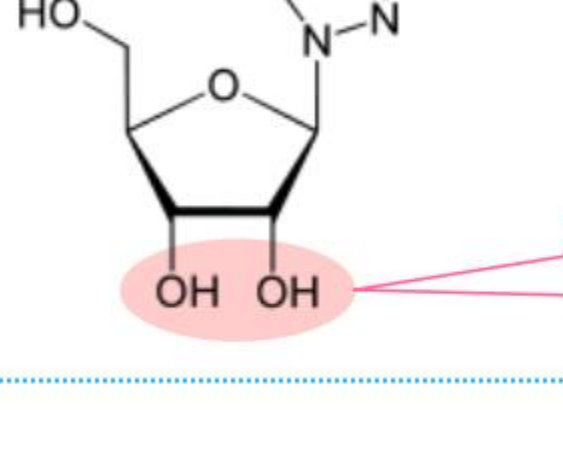
使用方法动画的连接: <http://www.gls.co.jp/flv/monospin/monospin.html>

◆使用MonoSpin PBA的纯化方法

MonoSpin PBA



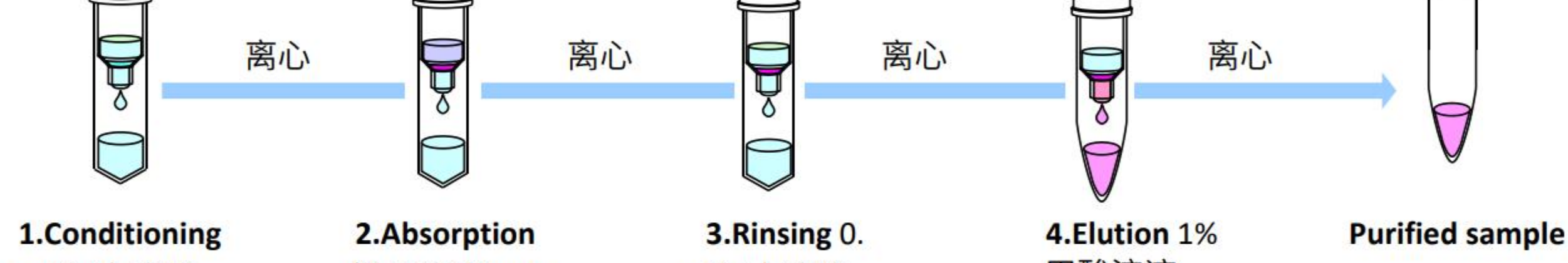
结构式



Ribavirin
MW: 244
pKa: 12.25

MonoSpin PBAが⁸显示选择性的部位

纯化步骤



离心: 2,300 $\times$ g, 2min

1. Conditioning

0.6%氨水溶液
400 μ L

2. Absorption

样品溶液400 μ L

3. Rinsing

0.6%氨水溶液
400 μ L

4. Elution

1%甲酸溶液
200 μ L

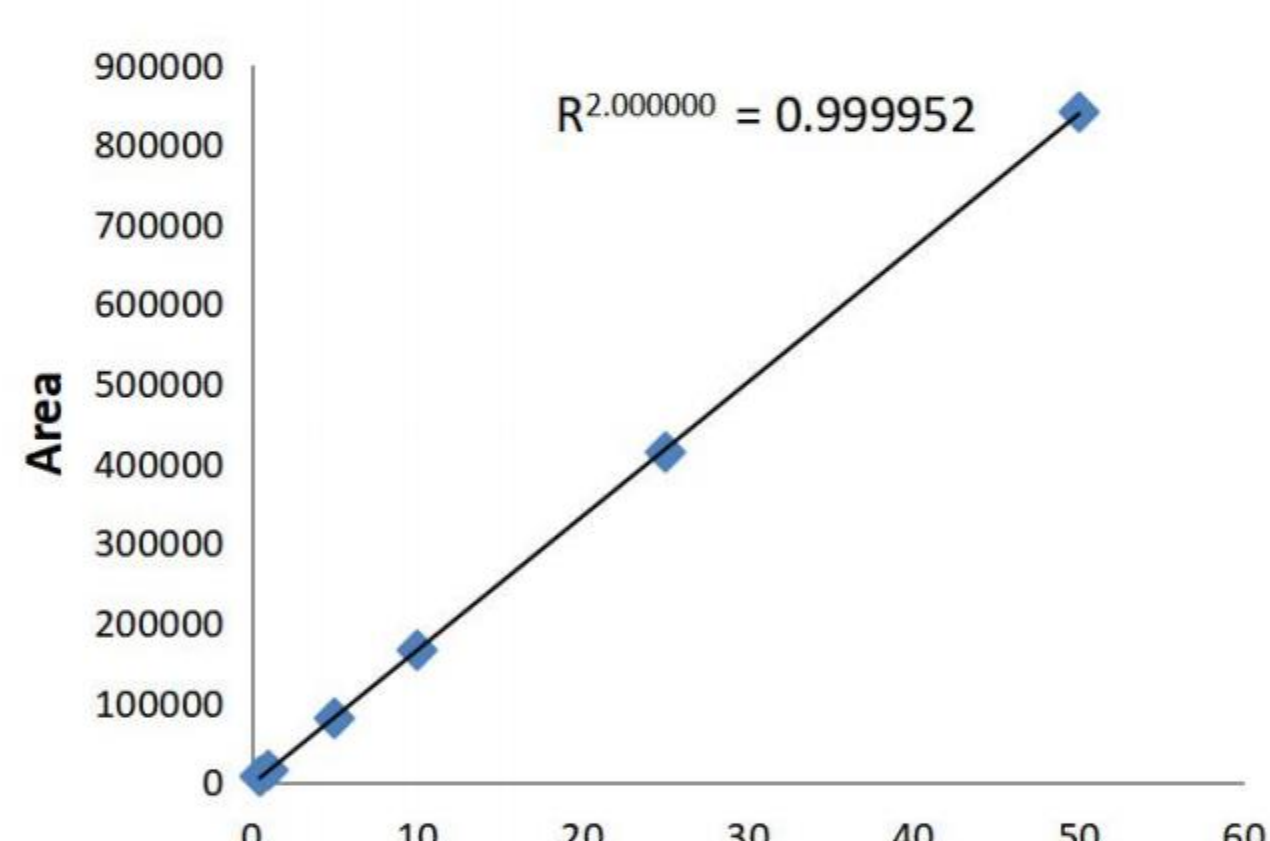
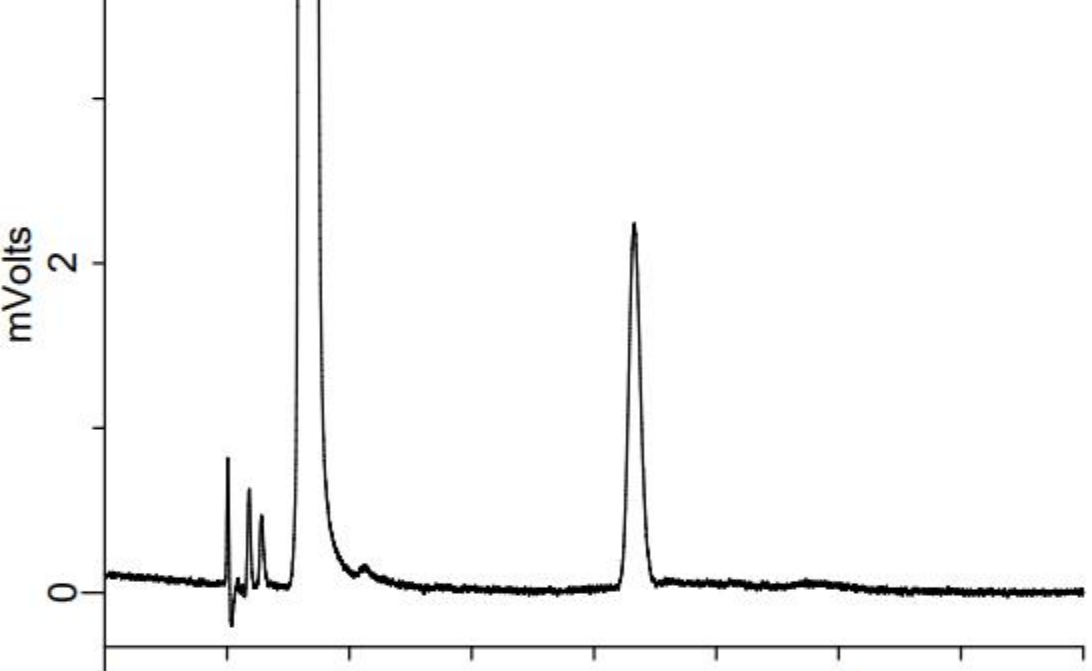
Purified sample

样品溶液

0.6%氨水溶液: 人血清: 利巴韦林 (用水稀释各浓度) = 以50:49:1混合、5,000 $\times$ g、3min离心后的上清液作为样品溶液。※ ※收集并使用上清液作为样品溶液以防止MonoSpinPBA堵塞是很重要的。

GL Sciences LC Technical Note

◆标准溶液的测定例



HPLC条件

色谱柱: InertSustain AQ-C18 HP (3 μ m, 150 $\times$ 2.1 mm I.D.)

流动相:

A) Phosphate buffer*
B) Eluent A/CH₃CN=19/1, (v/v)

gradient (v/v)

流速:

0.3 mL/min

色谱柱温度:

25 $^{\circ}$ C

检测器:

UV 220 nm

注入量:

5 μ L

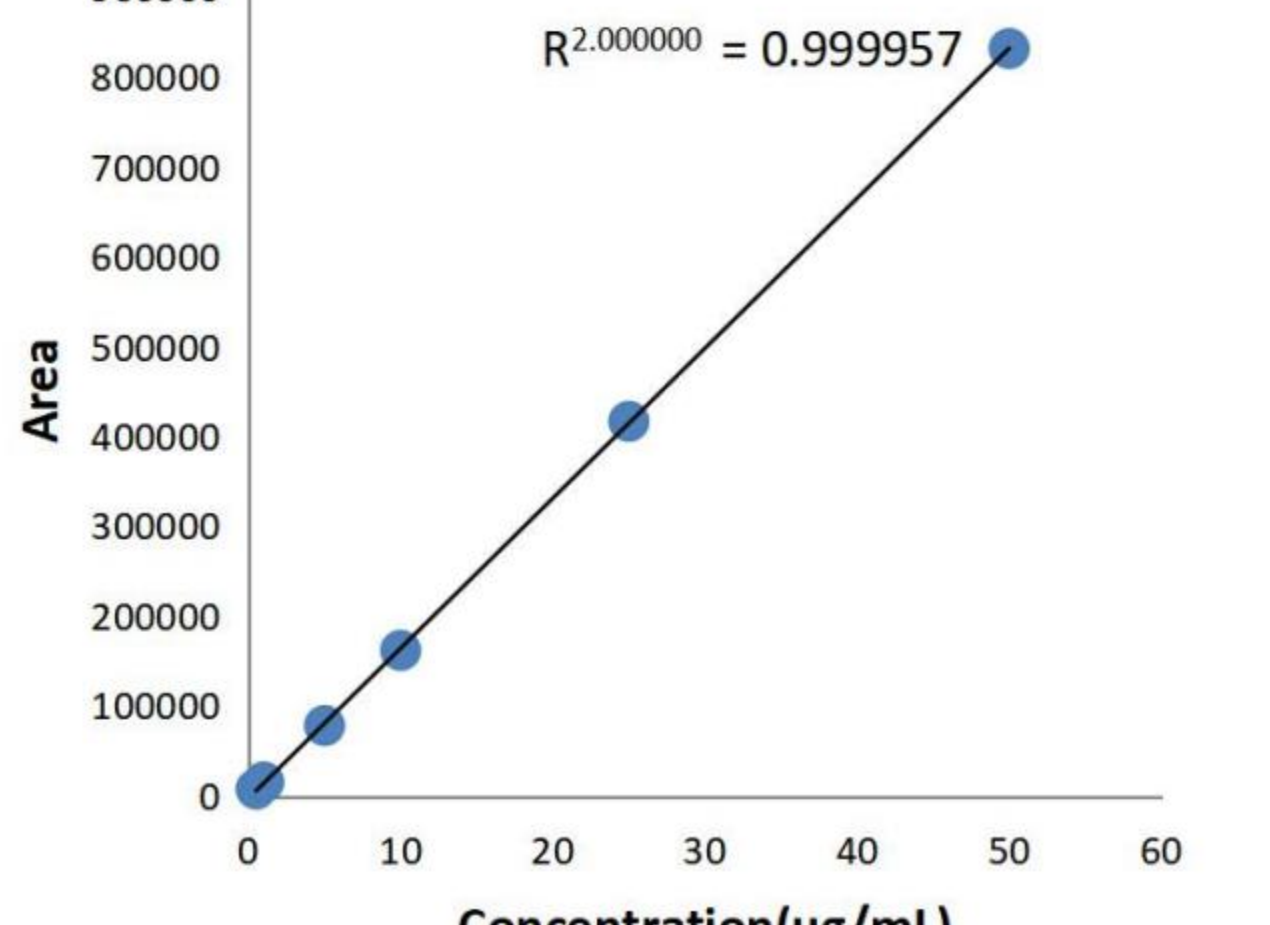
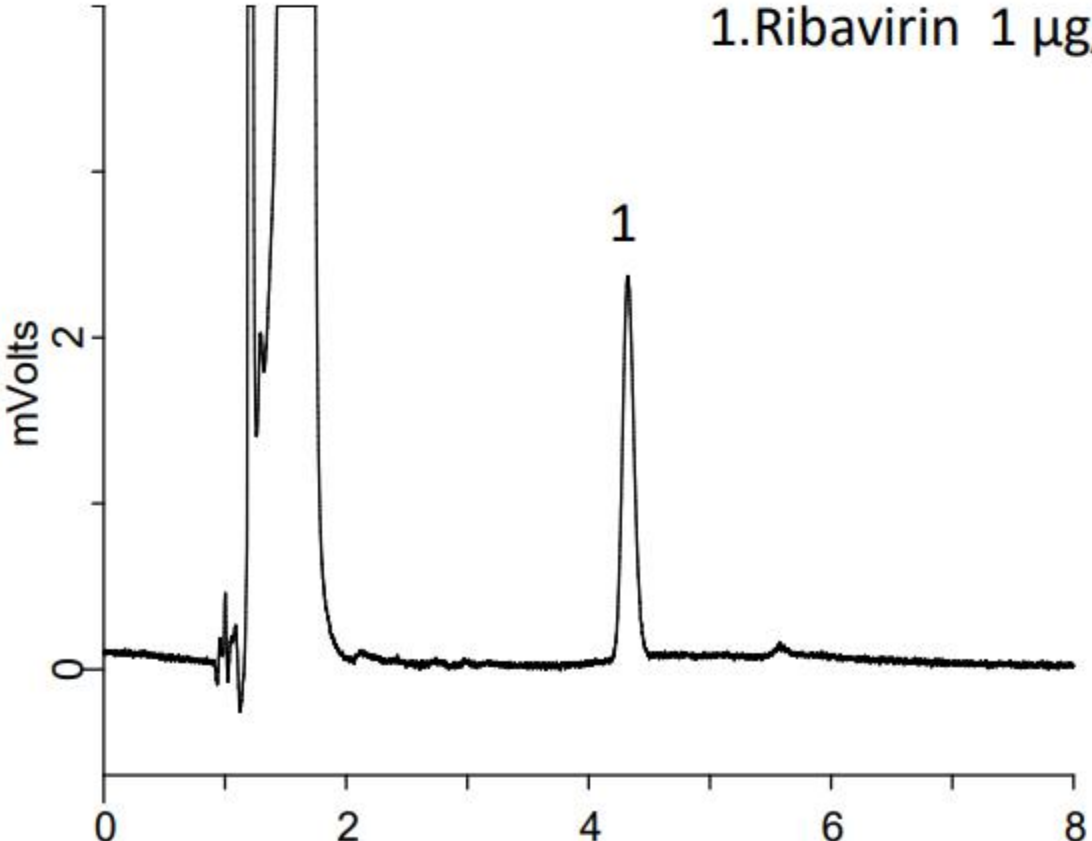
	A(%)	B(%)
0	100	0
6	100	0
6.1	0	100
11	0	100
11.1	100	0
20	100	0

* 磷酸缓冲液的调制方法:

将2g无水硫酸钠溶于300mL水中, 加入8mL磷酸并称重至2L

◆添加回收实验结果①(日间重现性)

回收液色谱 (1 μ g/mL)



各浓度的回收率以及日间重现性 (n=6)

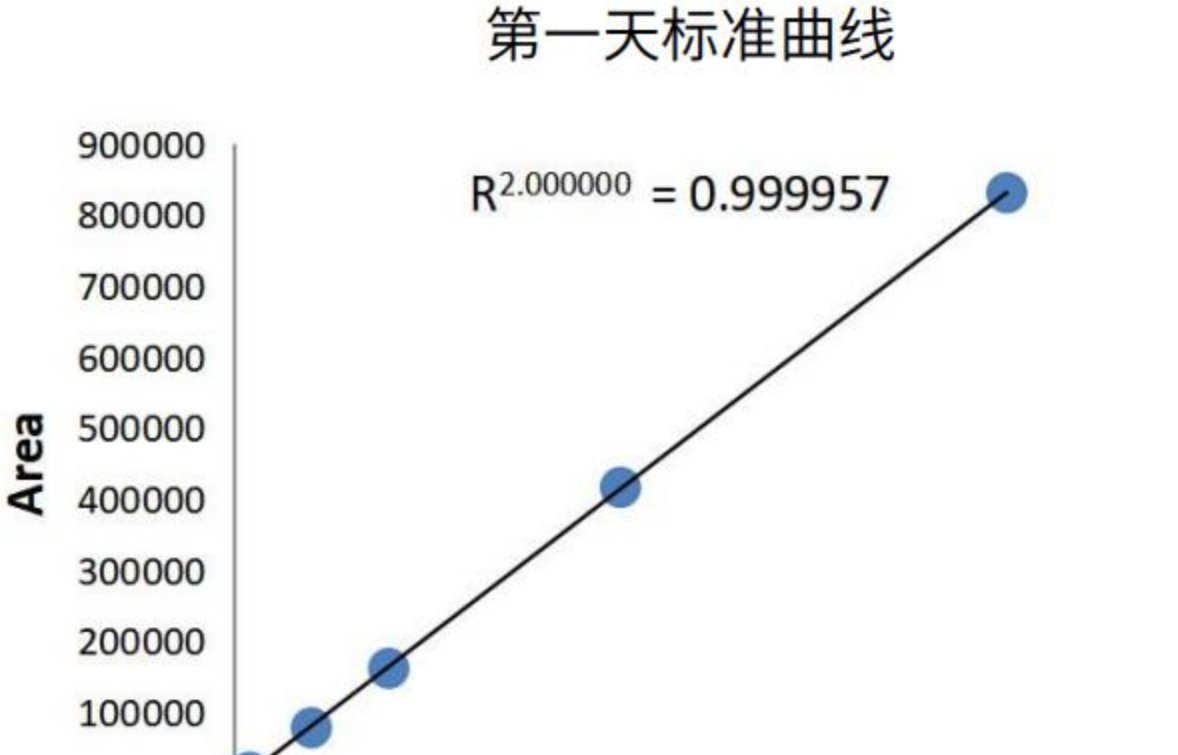
Spiked concentration, μ g/mL	Recovery, %	RSD, %
0.25	100.7	2.4
0.5	102	3.5
2.5	97.5	1.7
5	97.7	2.5
12.5	100.7	0.9
25	98.9	1.2

以为各浓度n=6分析时的回收率以及日间变动系数为 **回收率: 97.5~100.7%, RSD: 0.9~3.5%**, 可得到良好的结果。

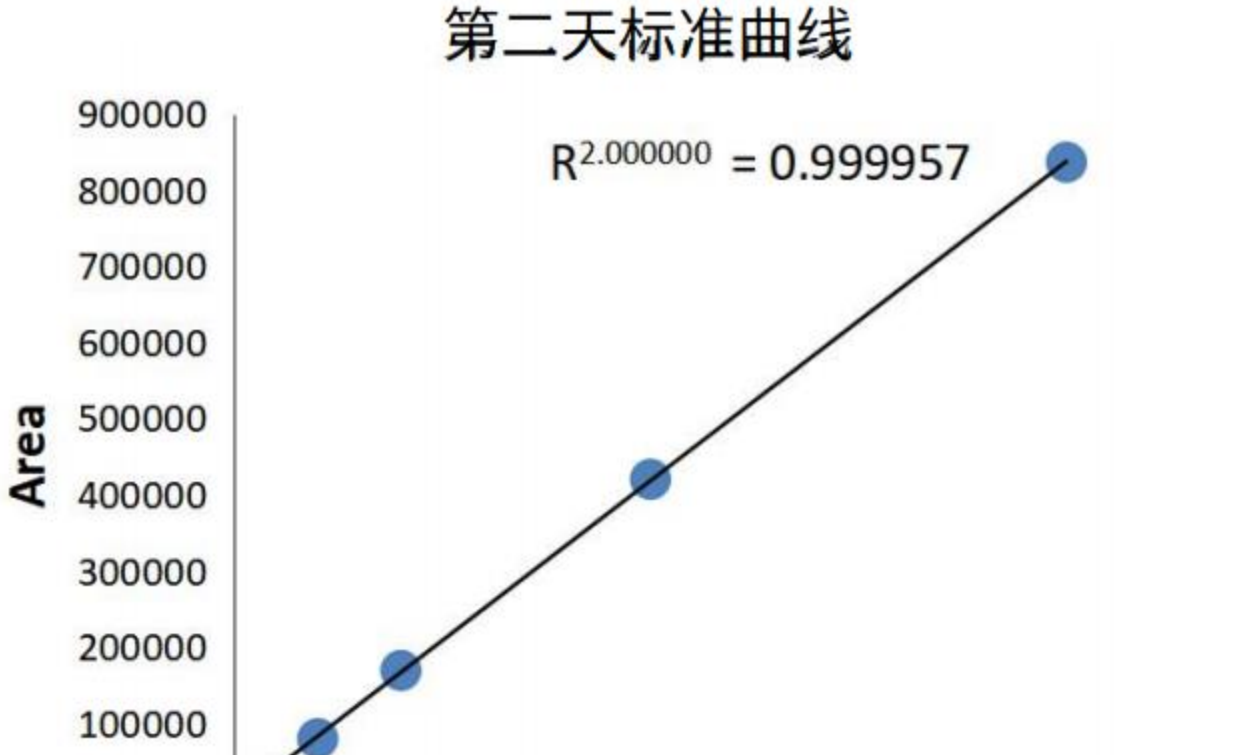
GL Sciences LC Technical Note

◆添加回收实验结果②(日间重现性-连续3天)

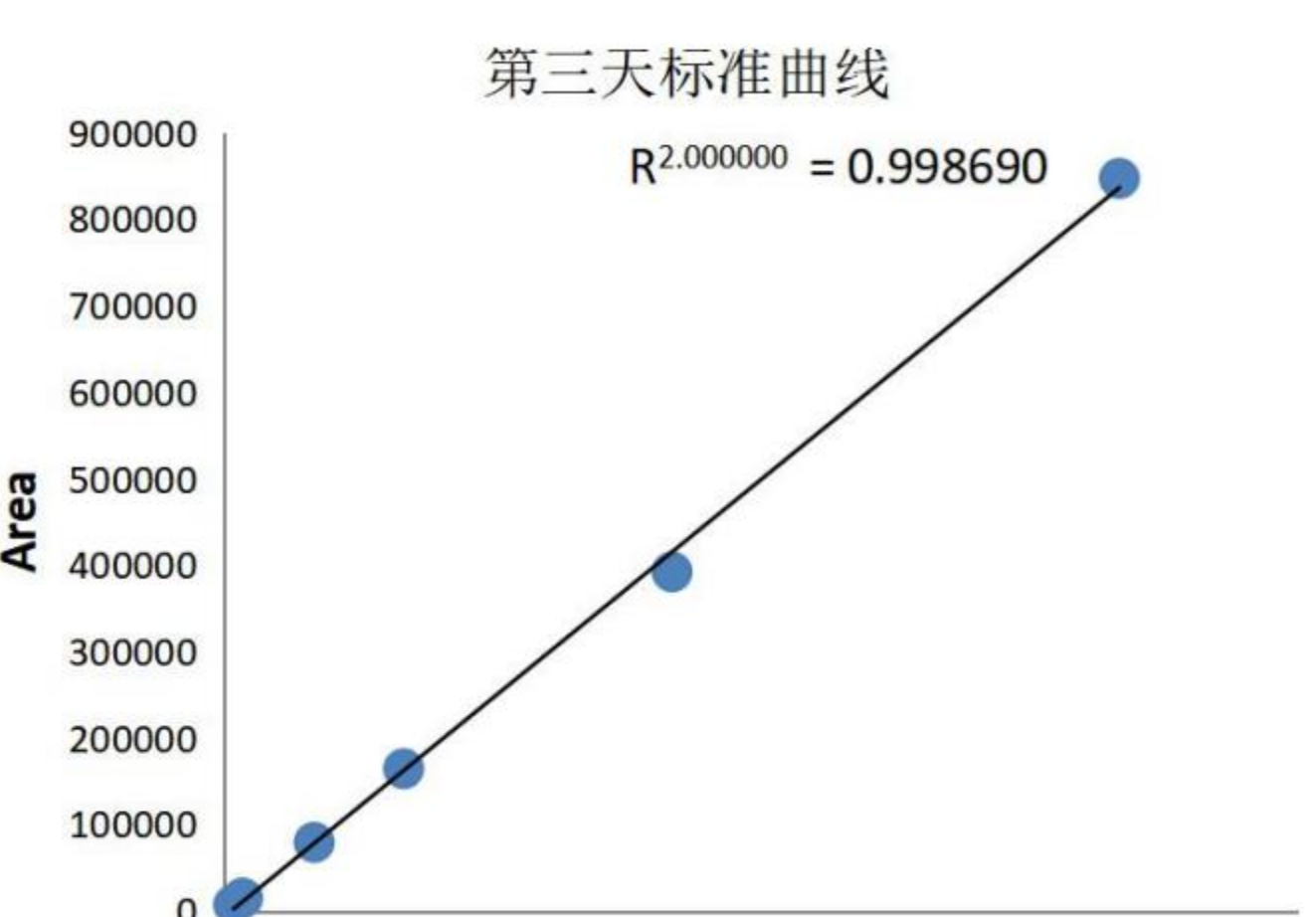
第一天标准曲线



第二天标准曲线



第三天标准曲线



以各浓度n=6分析3天的分析时, 显示了校准曲线和相关系数。

相关系数为0.998690~0.999957, 可得到良好的结果。

各浓度连续3天的回收率和日间重现性

Spiked concentration, μ g/mL	1st day	2nd day	3rd day	RSD(%)
0.25	100.7	99.4	95.7	3.1
0.5	102	99.3	98.9	3.0
2.5	97.5	98.5	98.9	1.6
5	97.7	101.9	99.3	2.5
12.5	100.7	101.4	94.7	3.4
25	98.9	99.5	100.8	1.9

以各浓度n=6分析时的回收率和日间变动系数为

回收率: 94.7~101.9%, RSD: 1.6~3.4%, 可得到良好的结果。

GL Sciences LC Technical Note

MonoSpin PBA的物理性质和规格

产品名称	官能团	S型		表面积 (m ² /g)
		通孔 (μm)	细孔 (nm)	
MonoSpin PBA	苯基硼酸盐基团	5	10	350

使用产品

MonoSpin®

MonoSpin S型

回收管 (1.7 mL)

废液管 (2 mL)

MonoSpin S型和回收用管 (1.7 mL)、废液管 (1.7 mL) 是一套。

产品名称	数量	Cat.No.
MonoSpin PBA	50个	5010-21715
	100个	5010-21716

MonoSpin® (S型) 试用套件、定制套件

可适用于初期方法调整。

产品名称	构成内容	Cat.No.
MonoSpin 试用套件 1	C18, TiO, SCX, SAX 各10各	5010-21740
MonoSpin 试用套件 2	C18, Amide, CBA, NH2各10各	5010-21741
MonoSpin 试用套件 3	SCX, SAX, CBA, NH2各10各	5010-21742
MonoSpin 定制套件 20	自选2种 * 组合各10个	5010-01001

* MonoSpin Trypsin, MonoSpin ProA, MonoSpin ProG 除外。