

# 在线变相聚焦 -SFE-SFC-MS 联用系统分析大鼠血浆中 22 种手性药物

## SFE-SFC-013

**摘要：**手性分离在生物分析中具有重要作用，但由于生物样品中含有高浓度的蛋白质和各种内源性化合物，复杂的生物基质会干扰手性拆分效果。本文建立了一种在线变相聚焦 - 超临界流体萃取 - 超临界色谱联用系统（在线变相聚焦 - SFE-SFC 系统）用于分析大鼠血浆中手性药物的方法。该法的变相聚焦策略可改善手性药物的色谱峰形和分离度，实现 19 个药物的分离度 (R)  $\geq 1.5$ ，3 个药物分离度 (R) 在 0~1.5 之间；超临界流体选择性萃取策略可以同时去除血浆样品中的水和干扰组分，有效地减轻基质效应；低、中、高三水平浓度加标实验，其手性药物回收率在 75.8~117.2% 之间。基于在线变相聚焦 - SFE-SFC-MS 联用系统可同时实现萃取、纯化、脱水和分离，为手性药物对映体的研究提供了高通量、自动化的手性拆分方法。

**关键词：**在线 SFE-SFC-MS 三重四极杆质谱 手性药物 大鼠血浆

### 技术特点：

- ❖ 应用变相聚焦策略，改善了手性药物的色谱峰形和分离度，实现 22 种手性药物有效分离。
- ❖ 采用超临界流体选择性萃取策略，实现在线纯化和脱水，可降低基质效应，直接分析含水样品。

在线超临界流体萃取 - 超临界流体色谱 (SFE-SFC) 方法是一种非常有前景的分析方法，但目前仍然存在峰展宽、基质效应以及不适用于含水样本的分析等问题。此外，为了保证色谱峰形，在线 SFE-SFC 系统通常采取分流策略减小进入 SFC 中的萃取液体积。分流策略可以避免色谱峰变形但同时也降低了方法的灵敏度，不利于痕量化合物的分析。为了解决这一问题，我们利用 Nexera UC 和 LCMS-8060NX 质谱联用系统，采用变相聚焦策略，解决了传统在线 SFE-SFC 系统大体积进样引起的色谱峰展宽问题，改善了手性药物的色谱峰形和分离度，实

现了 22 种手性药物的同时分析。此外，该策略可转移所有萃取液至色谱柱上分析，避免了分流策略中的样品损失问题，提高了方法的灵敏度，有利于痕量化合物的分析。采用超临界流体选择性萃取策略，实现在线纯化和脱水，改善了手性药物和干扰组分共萃取问题，降低基质效应的同时可直接分析含水样品。采用在线样品前处理技术和色谱 - 质谱技术联用可实现目标分析物的在线萃取和分析，简化分析流程，提高分析通量，为生物样品中手性药物分离提供参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 Nexera UC+LCMS-8060NX，配置信息如下：

二氧化碳泵：LC-30AD SF

补充液泵：LC-20AD XR

自动进样器：SIL-30AC

系统控制器：CBM-20A

质谱仪：LCMS-8060NX

改性剂泵：LC-20AD XR

萃取单元：SFE-30A

柱温箱：CTO-20AC

背压调节器：SFC-30A×2

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.118

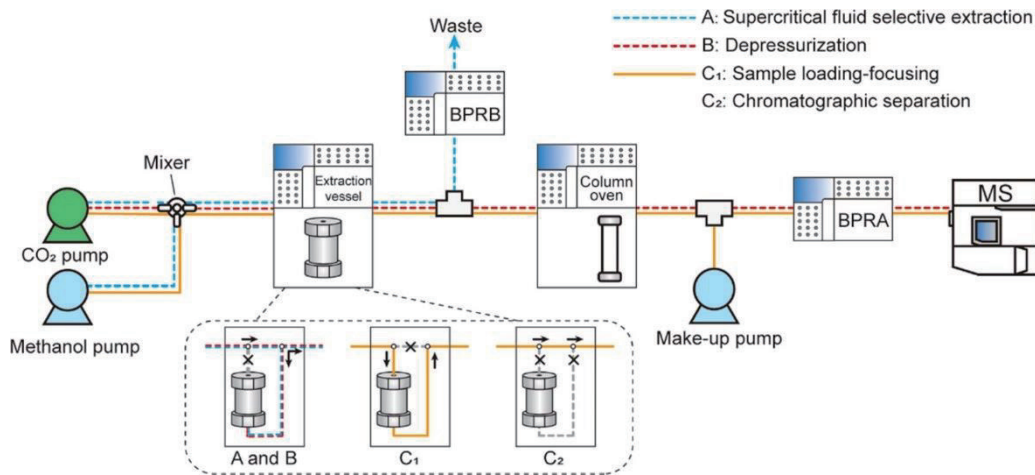


图 1 在线变相聚焦 - SFE-SFC-MS 联用系统流程图

如图 1 所示，在线变相聚焦 - SFE-SFC-MS 包括四个步骤：

第一步是超临界流体萃取（黑色虚线）：萃取罐中加入血浆样品，当萃取溶剂充满容器时，多余的溶剂通过 BPR-B 排出。

第二步是相变（红色虚线）：改性泵停止输送改性剂，BPR-A 关闭。此时，CO<sub>2</sub> 从超临界状态转变为气态，并充满色谱柱。

第三步是载样和色谱分离（蓝色实线）：BPR-A 的压力恢复，萃取溶剂将所有提取物从萃取罐转移到色谱柱。由于系统压力需要 1.5 min 才能恢复到设定值，色谱柱中的气态 CO<sub>2</sub> 并没有立即过渡到超临界状态。因此，目标物可以堆积在色谱柱头。之后进行色谱分离（蓝色实线）。流动相没有流经萃取单元，而是直接进入色谱柱，对目标物进行梯度洗脱。

第四步是串联质谱对所有分析物进行检测。

## 1.2 分析条件

### 液相条件

色谱柱：ACQUITY UPC2 Trefoil CEL2 (2.5 μm, 3.0 × 150 mm)

流动相：A- sc-CO<sub>2</sub>; B- 甲醇 (含 0.1% 氢氧化铵)

补充泵溶液：甲醇 (含 0.1% 氢氧化铵)                      补充泵流速：0.2 mL/min

萃取温度：40℃    柱温箱温度：40℃

样品体积：5 μL

洗脱模式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 10%，时间程序如表 1 所示。

表 1 在线变相聚焦 - SFE-SFC 的时间程序

时间 (min)	BPRA (MPa)	BPAB (MPa)	流速 (mL/min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	40	20	1.2	90	10
2	40	20	1.2	90	10
2.01	off	20	0.4	100	0



11	班布特罗	Bambuterol	+	368.10	294.20*	-27	-21	-30
					72.25	-14	-34	-12
12	奥美拉唑	Omeprazole	+	346.00	198.05*	-21	-14	-30
					136.15	-11	-30	-14
13	特布他林	Terbutaline	+	225.95	152.05*	-27	-16	-30
					107.05	-13	-30	-23
14	吡喹酮	Praziquantel	+	312.90	203.10*	-30	-18	-30
					83.10	-18	-28	-22
15	利托君	Ritodrine	+	287.90	121.10*	-20	-22	-22
					270.20	-21	-13	-19
16	吲哚洛尔	Pindolol	+	249.00	116.15*	-17	-18	-20
					172.15	-18	-17	-17
17	福莫特罗	Formoterol	+	345.10	149.30*	-26	-21	-29
					121.25	-26	-32	-25
18	氯噻酮	Chlorthalidone	-	337.00	146.00*	16	18	27
					189.90	12	16	12
19	沙美特罗	Salmeterol	+	415.95	398.25*	-24	-16	-29
					91.10	-23	-52	-10
20	雷利度胺	Lenalidomide	+	259.90	149.10*	-30	-15	-30
					187.10	-13	-24	-13
21	阿替洛尔	Atenolol	+	266.95	145.15*	-10	-26	-26
					190.10	-10	-20	-20
22	酮康唑	Ketoconazole	+	530.90	82.20*	-20	-46	-14
					489.30	-20	-31	-24

\* 表示定量离子

## ■ 样品处理

为了避免吸附剂泄露堵塞色谱管路，萃取罐两端的滤片处各放置一张亲水性聚四氟乙烯滤膜。在 200  $\mu\text{L}$  的不锈钢萃取罐中加入 0.02g  $\text{Al}_2\text{O}_3$ （吸附剂）。用移液枪移取 5  $\mu\text{L}$  的标准溶液或加标大鼠血浆滴加于吸附剂表面，随后旋紧萃取罐备用。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 变相聚焦策略

变相聚焦策略的实施，在超临界流体萃取过程中，通过调节压力和温度， $\text{CO}_2$  发生相变，使化合物即使在高比例改性剂萃取时也能实现良好的柱头聚焦。如图 2 所示，变相聚焦过程中，BPRA 关闭后压力降至 5 MPa，系统内的  $\text{CO}_2$  析出，萃取罐内溶液浓缩，使得进样过程的溶剂效应减弱。而无变相聚焦的系统中，压力维持在 20 MPa，系统内的流动相为超临界状态。因此，分析过程中手性化合物可以聚集在色谱柱柱头，实现柱头聚焦。与常规没有变相聚焦策略的在线 SFE-SFC 系统相比，本方法中色谱峰形更加尖锐对称（图 4）。此外，和基于分流策略的方法相比，本方法可将所有萃取液转移至色谱柱中进行分析，无样品损失，保证检测的灵敏度。

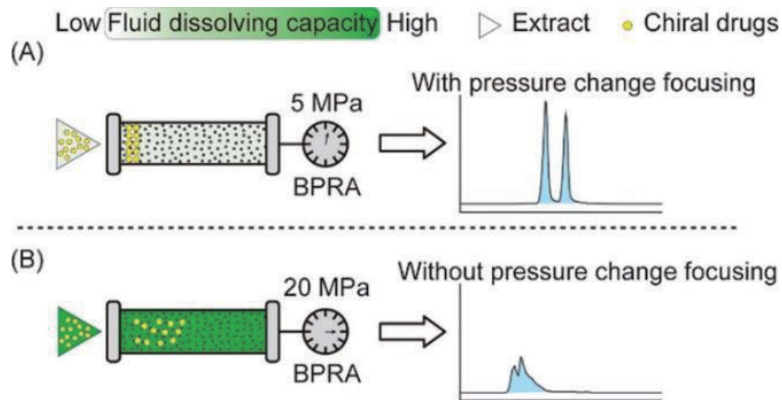


图2 变相聚焦原理示意图：a. 有变相聚焦；b. 无变相聚焦

### 3.2 超临界流体选择性萃取策略

使用常规在线 SFE 方法处理生物样品时常见问题：1) 较为明显的基质效应；2) 无法直接分析含水样品。为了解决上述问题，通过在 SFE 萃取罐中添加选择性吸附剂来除去样品中的杂质和水。由于吸附剂与干扰组分和水的相互作用比吸附剂与手性药物间的相互作用强，在萃取过程中干扰组分和水保留在萃取罐中而目标组分则随着萃取溶剂转移至色谱柱柱头（图 3）。加入的  $Al_2O_3$  吸附剂具有以下几个优点。第一，减轻基质中干扰组分的萃取数量，因此可以改善目标分析物的色谱峰形。第二， $Al_2O_3$  吸附剂可实现除杂和脱水，有效改善基质效应，提供准确的分析结果。

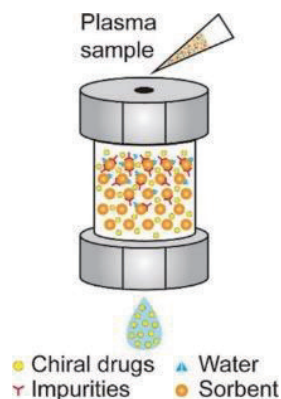


图3 选择性吸附剂吸附原理示意图

### 3.3 在线变相聚焦 - SFE-SFC 联用系统的优势

#### 3.3.1 峰形和分离度

色谱峰形及分离度结果如图 5 显示。和常规的 SFE-SFC 方法相比，有 11 个手性药物（No.1-10、17，图 5 的 A-B 图）在本研究开发的方法中观察到更加尖锐对称的色谱峰形，表明分析过程中变相聚焦策略可使手性药物有效聚焦于色谱柱柱头。22 个手性药物的分离度结果（图 4 的 C 图和 D 图）所示，在变相聚焦条件下 19 个药物获得了基线分离 ( $R \geq 1.5$ )，3 个药物实现基本分离 ( $0 < R < 1.5$ )，而在没有变相聚焦的常规方法中仅有 14 个化合物实现基线分离，8 个药物实现基本分离，且有 11 个手性药物的相对分离度提高了 30% 以上。因此，在线变相聚焦 - SFE-SFC 系统的手性拆分能力优于常规的 SFE-SFC 系统，可以提供更好的色谱峰形和分离度。

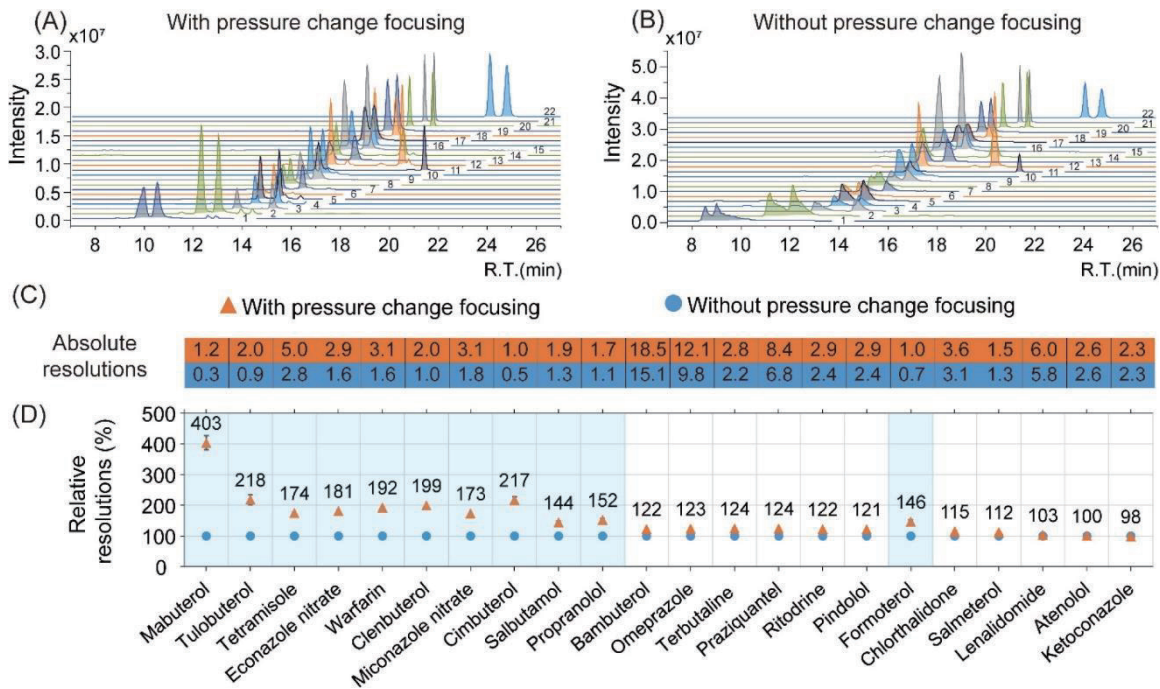


图 4 色谱峰形和分离度的对比结果：a. 有变相聚焦；b. 无变相聚焦；c. 绝对分离度；d. 相对分离度（无变相聚焦为 100%）

### 3.3.2 样品消耗量和灵敏度

采用变相聚焦策略，本方法在保证色谱峰形的条件下可将所有萃取液转移至色谱柱进行分析；样品消耗量仅为 5  $\mu$ L，与已发表的方法相比，样品体积更少，检出限在 0.0600~32.1  $\mu$ g/L 之间，与已发表的方法相当。

在线变相聚焦 -SFE-SFC 系统和常规 SFE-SFC（采用分流策略）灵敏度进行对比，采用在三种浓度水平下第一个洗脱对映体的信噪比（S/N）的比值差异来展示，如图 5 所示。结果显示：对于所有手性药物，在线变相聚焦 -SFE-SFC 系统的灵敏度均更高，其中有 7 种手性药物灵敏度高出常规 10 倍以上。故在线变相聚焦 -SFE-SFC 系统灵敏度更高，样品消耗量更少。

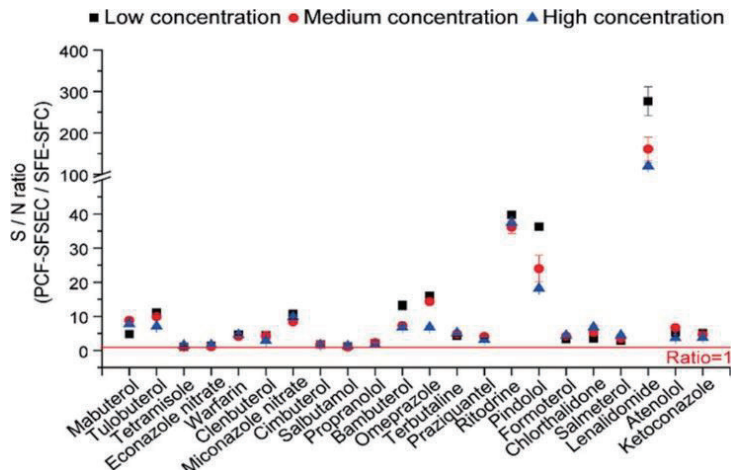


图 5 在线变相聚焦 -SFE-SFC 系统和在线 SFE-SFC 的灵敏度比较图（S/N 比值是采用在线变相聚焦 -SFE-SFC 的 S/N 与在线 SFE-SFC 的 S/N 计算。红线代表 S/N 比值为 1，表示两种方法获得的 S/N 相等，即灵敏度持平。）

### 3.3.3 基质效应

对比在线变相聚焦 -SFE-SFC 系统（添加 0.02 g  $Al_2O_3$  吸附剂）和常规的 SFE-SFC 系统（无吸附剂）中的基质效应。结果如图 6 显示，以第一个洗脱的对映体计算基质效应，18 个药物观察到轻微基质效应（-30% ~ 30%），3 个药物观察到中等基质效应（-60% ~ -30% 和 30% ~ 60%），只有 1 个药物观察到严重基质效应（< -60% 和 > 60%）。而在常规的 SFE-SFC 方法中，观察到轻微、中等和严重基质效应的化合物分别有 9 个、5 个和 8 个。

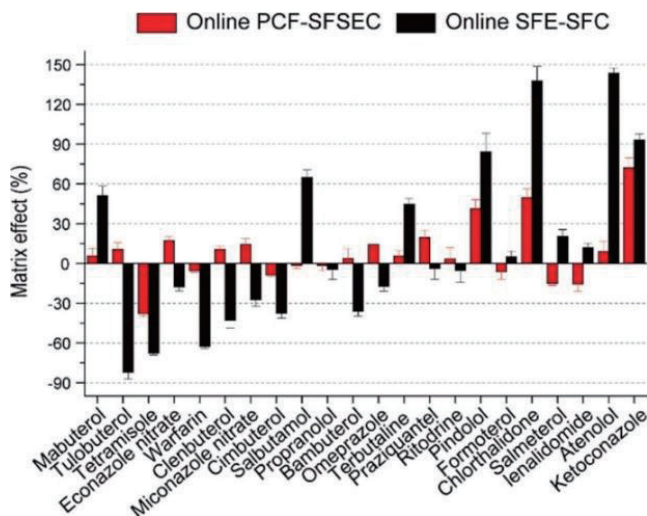


图 6 在线变相聚焦 -SFE-SFC (0.02 g  $Al_2O_3$ ) 和在线 SFE-SFC (不含吸附剂) 洗脱的第一种对映体的基质效应

### 3.3.4 重复性

在线变相聚焦 - SFE-SFC 和传统在线 SFE-SFC (采用分流策略) 分析的日内精密性, 如图 7 所示, 在线变相聚焦 - SFE-SFC 联用分析下, 三种浓度下所有对映体的 RSDs 均小于 6%。而在线 SFE-SFC 分析的 RSDs 达到 17.4%。

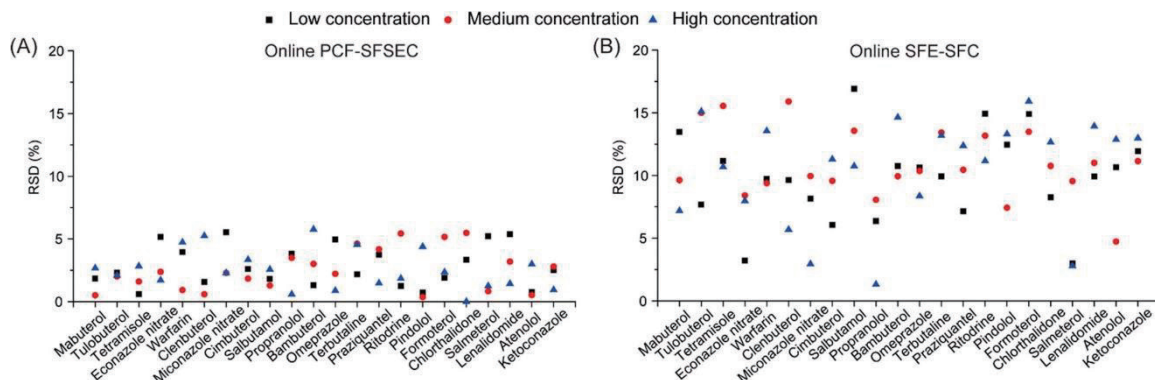


图 7 第一个洗脱的对映体的日内重复性: a. 在线变相聚焦 - SFE-SFC; b. 在线 SFE-SFC

### 3.4 线性考察

对在线变相聚焦 - SFE-SFC 联用系统分析大鼠血浆样品中的 22 种手性药物的方法进行验证。表 3 展示了所有手性药物每个对映体的线性。线性结果显示, 所有校准曲线的相关系数 ( $R^2$ ) 均大于 0.9910。LODs 和 LOQs 的范围分别为 0.0200 至 10.6  $\mu\text{g/L}$  和 0.0600 至 32.1  $\mu\text{g/L}$ 。

表3 22种手性药物的校准曲线参数

No.	化合物	峰号	保留时间 (min)	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	相关系数 ( $R^2$ )	LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	内标
1	马步特罗	E1	10.1	5.00-80.0	0.9941	0.680	2.07	Metoprolol
		E2	10.7	5.00-80.0	0.9978	0.710	2.16	Rivastigmine
2	妥布特罗	E1	12.4	10.0-160	0.9927	0.730	2.22	Voriconazole
		E2	13.0	10.0-200	0.9914	1.31	3.97	Atomoxetine
3	四咪唑	E1	13.9	16.0-256	0.9925	0.460	1.40	Cetirizine
		E2	15.3	16.0-320	0.9978	0.0700	0.210	Metoprolol
4	硝酸益康唑	E1	14.4	9.00-144	0.9940	0.240	0.710	Atomoxetine
		E2	15.3	9.00-180	0.9973	0.110	0.320	Metoprolol
5	华法林	E1	14.4	25.0-400	0.9953	0.920	2.80	Metoprolol
		E2	15.2	25.0-500	0.9968	0.460	1.40	Metoprolol
6	克伦特罗	E1	14.6	10.0-160	0.9942	0.150	0.460	Atomoxetine
		E2	15.1	10.0-200	0.9976	0.110	0.320	Metoprolol
7	硝酸咪康唑	E1	15.4	9.00-144	0.9983	0.260	0.770	Metoprolol
		E2	16.3	9.00-180	0.9960	0.220	0.680	Metoprolol
8	西布特罗	E1	15.4	35.0-560	0.9957	0.220	0.660	Metoprolol
		E2	15.7	35.0-700	0.9997	0.540	1.63	Metoprolol
9	沙丁胺醇	E1	16.3	10.0-160	0.9915	0.260	0.780	Voriconazole
		E2	16.8	10.0-300	0.9921	0.170	0.510	Metoprolol
10	普萘洛尔	E1	16.5	40.0-640	0.9985	0.810	2.45	Voriconazole
		E2	17.1	40.0-640	0.9967	0.380	1.16	Metoprolol
11	班布特罗	E1	16.8	2.00-32.0	0.9946	0.0200	0.0600	Voriconazole
		E2	21.3	2.00-40.0	0.9936	0.0300	0.0800	Cetirizine
12	奥美拉唑	E1	17.3	20.0-320	0.9935	0.0600	0.180	Metoprolol
		E2	20.3	20.0-320	0.9919	0.0200	0.0600	Luliconazole
13	特布他林	E1	17.4	30.0-480	0.9935	0.610	1.84	Atomoxetine
		E2	18.3	30.0-900	0.9934	0.110	0.330	Voriconazole
14	吡喹酮	E1	17.6	6.00-96.0	0.9944	0.140	0.430	Luliconazole
		E2	20.4	6.0-120	0.9955	0.0600	0.180	Luliconazole
15	利托君	E1	17.7	50.0-1.00 $\times 10^3$	0.9952	9.67	29.3	Luliconazole
		E2	18.6	50.0-800	0.9954	10.6	32.1	Voriconazole
16	吲哚洛尔	E1	18.2	7.00-140	0.9941	0.190	0.590	Metoprolol
		E2	19.0	14.0-210	0.9931	0.0400	0.130	Voriconazole
17	福莫特罗	E1	18.6	10.0-160	0.9939	0.480	1.44	Atomoxetine
		E2	19.0	20.0-200	0.9971	0.430	1.30	Voriconazole

18	氯噻酮	E1	19.0	600-1.20×10 <sup>4</sup>	0.9941	0.820	2.49	Voriconazole
		E2	19.9	1.20×10 <sup>4</sup> -1.80×10 <sup>4</sup>	0.9910	0.590	1.79	Luliconazole
19	沙美特罗	E1	19.6	20.0-400	0.9946	2.82	8.54	Rivastigmine
		E2	20.0	40.0-600	0.9974	3.28	9.93	Luliconazole
20	雷利度胺	E1	20.6	70.0-1.12×10 <sup>3</sup>	0.9943	2.15	6.53	Metoprolol
		E2	21.7	140-1.40×10 <sup>3</sup>	0.9913	1.69	5.11	Cetirizine
21	阿替洛尔	E1	21.3	20.0-320	0.9957	0.120	0.360	Rivastigmine
		E2	21.7	20.0-400	0.9931	0.210	0.640	Cetirizine
22	酮康唑	E1	24.0	50.0-800	0.9927	0.220	0.700	Rivastigmine
		E2	24.7	50.0-800	0.9977	0.270	0.820	Cetirizine

\* 峰编号: E1 和 E2 代表每个手性药物第一个和第二个洗脱的对映体

### 3.5 重复性与回收率考察

如表 4 所示, 回收率和精密度的结果。低、中、高线性浓度点样品测得的日内和日间的 RSD 分别小于 6.0% 和 13.9%。回收率结果显示, 低、中、高线性浓度点样品测得的所有手性药物回收率在 75.8 至 117.2% 之间, 表明所有手性药物均得到有效萃取且吸附剂对手性药物没有严重的吸附。

表 4 22 种手性药物三个浓度点下的回收率和精密度

No.	化合物	峰编号	低浓度 (µg/L)	回收率 (%)	日内精	日间精	中浓度 (µg/L)	回收率 (%)	日内精	日间精	高浓度 (µg/L)	回收率 (%)	日内精	日间精
					密度 RSD (%)	密度 RSD (%)			密度 RSD (%)	密度 RSD (%)			密度 RSD (%)	密度 RSD (%)
1	马步特罗	E1	160	102.7±20.4	1.8	1.8	320	111.8±2.7	0.5	2.2	640	105.2±2.6	2.7	3.9
		E2	20.0	115.3±0.2	1.7	1.3	40.0	106.2±0.2	4.1	3.2	80.0	99.3±1.1	0.7	4.9
2	妥布特罗	E1	28.0	113.1±8.1	2.3	13.9	56.0	115.7±13.5	2.0	6.2	112	114.8±16.1	2.1	3.6
		E2	40.0	107.9±4.3	0.7	2.4	80.0	105.1±4.3	5.5	5.4	160	103.8±2.3	1.8	1.5
3	四咪唑	E1	80.0	98.4±0.0	0.6	4.1	160	99.6±0.0	1.6	4.2	320	113.7±3.9	2.8	6.2
		E2	64.0	84.9±3.7	4.6	4.2	128	86.2±3.7	5.4	3.9	256	86.6±2.7	5.2	4.8
4	硝酸益康唑	E1	120	102.8±0.0	5.2	3.7	240	107.0±9.5	2.4	4.9	480	100.1±2.3	1.7	3.4
		E2	36.0	88.3±2.3	5.5	7.5	72.0	97.4±2.3	1.3	5.1	144	81.5±9.8	0.0	3.8
5	华法林	E1	140	75.8±4.2	4.0	3.0	280	81.1±5.6	0.9	1.1	560	81.4±4.4	4.7	4.6
		E2	100	81.5±2.3	5.4	4.4	200	87.5±2.3	2.4	2.8	400	100.7±0.1	5.5	7.7
6	克伦特罗	E1	40.0	79.8±2.2	1.6	1.2	80.0	81.8±11.8	0.6	5.3	160	84.9±1.5	5.2	6.0
		E2	40.0	84.4±3.8	0.4	9.8	80.0	89.6±3.8	2.2	1.6	160	97.4±4.6	4.0	2.9
7	硝酸咪康唑	E1	120	93.4±3.4	5.5	4.4	240	105.0±5.5	2.3	6.4	480	90.3±0.2	2.3	6.2
		E2	36.0	102.4±0.8	1.2	7.1	72.0	110.1±0.8	3.2	6.0	144	93.6±7.0	3.4	3.7
8	西布特罗	E1	40.0	85.1±6.2	2.6	2.1	80.0	85.0±0.6	1.8	2.3	160	99.7±3.1	3.3	7.2
		E2	140	115.5±7.7	1.9	2.1	280	97.7±7.7	0.3	0.6	560	100.4±1.1	0.9	9.9
9	沙丁胺醇	E1	80.0	90.0±10.2	1.8	1.9	160	87.8±5.2	1.3	2.6	320	95.7±13.4	2.6	9.2
		E2	40.0	81.0±0.2	2.2	6.4	80.0	98.6±0.2	3.6	10.2	160	96.5±4.8	1.9	8.8

10	普萘洛尔	E1	200	104.3±5.4	3.8	4.7	400	102.5±6.5	3.5	6.8	800	103.7±3.5	0.6	4.4
		E2	160	94.7±4.1	4.5	3.3	320	92.6±4.1	1.2	6.9	640	96.1±1.3	2.8	6.8
11	班布特罗	E1	2.40×10 <sup>3</sup>	91.8±6.6	1.3	2.8	4.80×10 <sup>3</sup>	109.0±6.5	3.0	6.1	9.60×10 <sup>3</sup>	99.0±3.2	5.8	4.2
		E2	8.00	92.7±2.0	4.9	9.2	16.0	101.9±2.0	0.5	5.2	32.0	87.5±11.4	2.1	7.4
12	奥美拉唑	E1	800	81.9±8.0	5.0	4.4	1.60×10 <sup>3</sup>	86.5±0.3	2.2	2.8	3.20×10 <sup>3</sup>	107.4±2.1	0.9	2.2
		E2	80.0	84.8±4.7	3.0	3.5	160	87.2±4.7	0.6	7.6	320	99.3±18.3	3.7	3.8
13	特布他林	E1	100	76.5±5.8	2.2	3.6	200	86.4±3.3	4.6	3.7	400	96.2±4.8	4.5	6.0
		E2	120	85.9±4.5	0.5	6.1	240	95.9±4.5	1.3	5.7	480	99.2±10.9	1.2	1.1
14	吡嗪酮	E1	280	92.2±10.9	3.7	6.5	560	98.7±3.2	4.2	3.0	1.12×10 <sup>3</sup>	97.9±0.9	1.5	4.7
		E2	24.0	114.2±7.5	3.2	6.4	48.0	96.8±7.5	3.1	4.1	96.0	96.8±9.1	2.6	4.8
15	利托君	E1	800	80.6±3.5	1.2	13.2	1.60×10 <sup>3</sup>	99.8±5.2	5.4	9.7	3.20×10 <sup>3</sup>	88.8±2.3	1.8	5.1
		E2	200	83.8±1.9	2.1	3.0	400	97.9±1.9	3.3	3.4	800	86.7±2.4	2.3	4.8
16	呋咪洛尔	E1	80.0	85.0±10.4	0.7	1.6	160	84.2±0.8	0.4	2.3	320	90.3±3.5	4.4	5.9
		E2	28.0	82.5±2.8	0.9	3.1	56.0	88.5±2.8	3.8	6.4	112	94.1±1.3	3.3	3.4
17	福莫特罗	E1	64.0	91.0±9.1	1.9	6.4	128	89.6±11.8	5.2	4.5	256	106.6±3.1	2.3	2.3
		E2	40.0	99.1±1.5	3.7	7.7	80.0	101.0±1.5	4.5	6.9	160	96.6±0.6	2.2	1.6
18	氯噻酮	E1	24.0	88.7±2.9	3.3	9.7	48.0	83.1±0.0	5.5	8.7	96.0	83.2±0.5	0.0	9.3
		E2	2.40×10 <sup>3</sup>	95.1±5.9	6.0	4.4	4.80×10 <sup>3</sup>	90.5±5.9	0.8	3.6	9.60×10 <sup>3</sup>	86.0±6.4	3.6	3.9
19	沙美特罗	E1	120	77.8±10.3	5.2	3.8	240	100.2±3.0	0.8	1.1	480	110.5±0.8	1.2	3.1
		E2	80.0	90.1±3.7	2.9	2.1	160	90.6±3.7	4.6	3.5	320	102.7±2.0	0.9	2.7
20	雷利度胺	E1	8.00	81.0±1.8	5.4	5.5	16.0	100.4±4.5	3.2	9.4	32.0	99.4±4.2	1.4	1.0
		E2	280	81.8±0.6	5.7	4.5	560	100.3±0.6	3.6	4.5	1.12×10 <sup>3</sup>	104.4±1.6	0.3	5.0
21	阿替洛尔	E1	40.0	81.3±0.0	0.8	1.3	80.0	90.3±2.6	0.5	0.4	160	116.0±2.1	3.0	3.5
		E2	80.0	86.1±9.2	2.5	7.6	160	83.4±9.2	2.4	7.5	320	91.4±9.1	0.5	7.3
22	酮康唑	E1	20.0	92.9±6.2	2.5	2.0	40.0	101.2±3.6	2.8	6.9	80.0	117.2±0.5	0.9	3.8
		E2	200	108.4±1.0	4.2	5.8	400	104.9±1.0	3.5	7.0	800	95.1±4.9	1.4	6.1

\*Peak No: E1 和 E2 代表每个手性药物第一个和第二个洗脱的对映体

## 结论

本文成功建立在线变相聚焦 - SFE-SFC-MS 联用系统分析方法。该系统采用变相聚焦策略, 实现柱头聚焦, 改善了手性药物的色谱峰形和分离度。本方法仅使用 5  $\mu$ L 血浆, 检测限即可达到  $\mu$ g/L 水平。通过超临界流体选择性萃取策略, 有效减轻手性药物与干扰组分共萃取, 实现在线净化, 改善了手性药物的基质效应。变相聚焦策略允许在线系统同时进行萃取、纯化、脱水和分离, 可直接分析含水样品, 实现了血浆 22 种手性药物的自动化立体选择性分离。

岛津应用云

