

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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度加入人血清中，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。

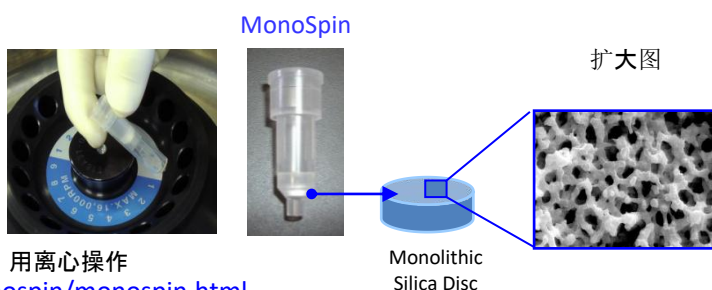
结果，可以方便和选择性地检测人血清中的利巴韦林。

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？

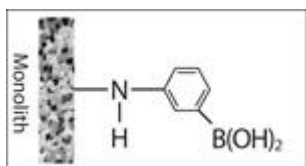
MonoSpin系列是使用具有均匀连续孔的二氧化硅整体型材料的小柱。由于使用具有高孔隙率的二氧化硅整体材料作为载体，它可以仅通过离心完成过液。因此，可以在简单的操作中在短时间内纯化和浓缩样品。而且，由于床体积小，因此也适用于样品量少的分析。

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

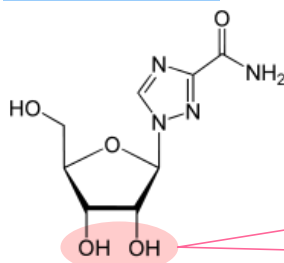


◆使用MonoSpin PBA的纯化方法

MonoSpin PBA



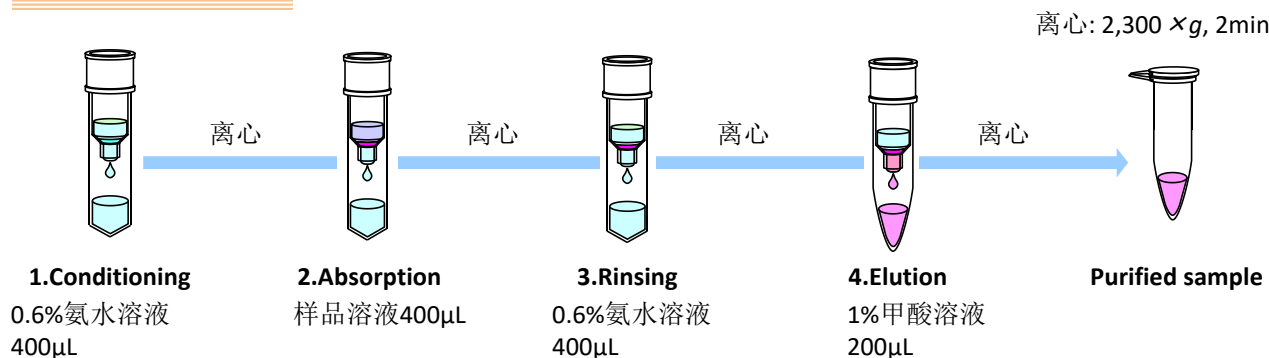
结构式



Ribavirin
MW: 244
pKa: 12.25

MonoSpin PBAが
显示选择性的部位

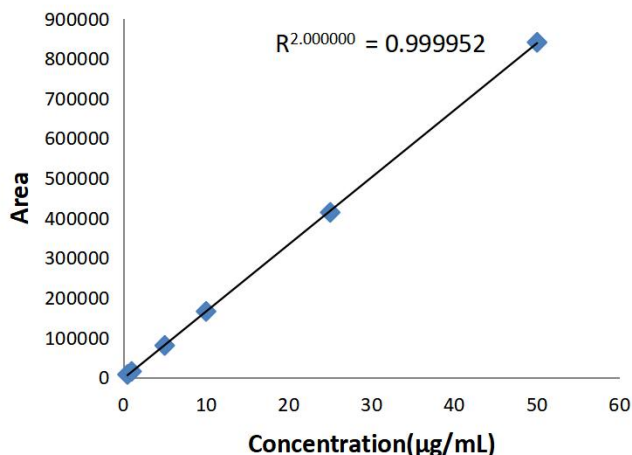
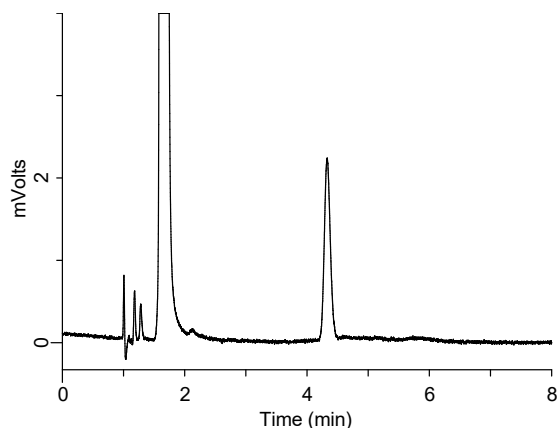
纯化步骤



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。

◆标准溶液的测定例



HPLC条件

色谱柱: InertSustain AQ-C18 HP (3 µm, 150 × 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 °C

检测器: UV 220 nm

注入量: 5 µL

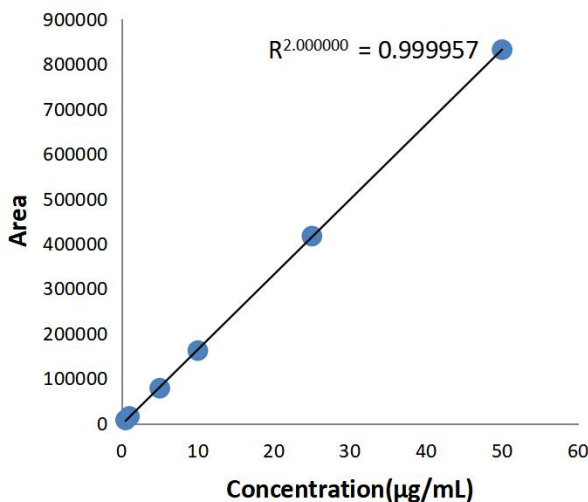
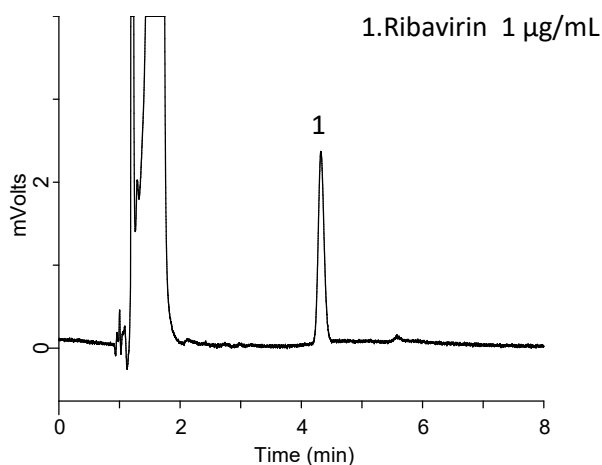
	A(%)	B(%)
0	100	0
6	100	0
6.1	0	100
11	0	100
11.1	100	0
20	100	0

* 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 µg/mL)



各浓度的回收率以及日间重现性 (n=6)

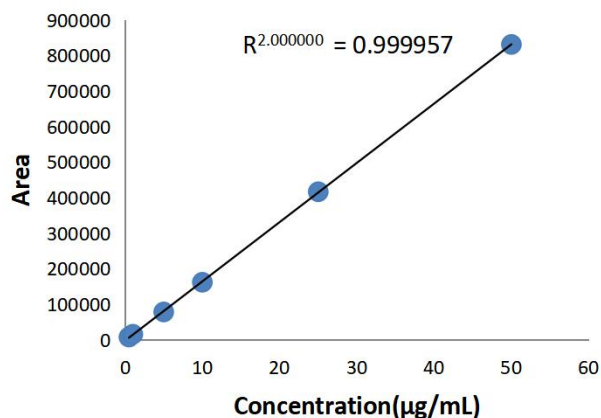
Spiked concentration, µg/mL	Recovery, %	RSD, %
0.25	100.7	2.4
0.5	102	3.5
2.5	97.5	1.7
5	97.7	2.5
12.5	100.7	0.9
25	98.9	1.2

以为各浓度n=6分析时的回收率以及日间变动系数为

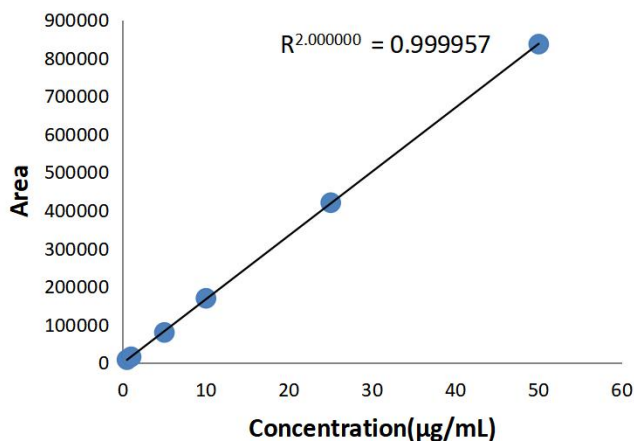
回收率: 97.5~100.7%、RSD: 0.9~3.5%, 可得到良好的结果。

◆添加回收实验结果②(日间重现性-连续3天)

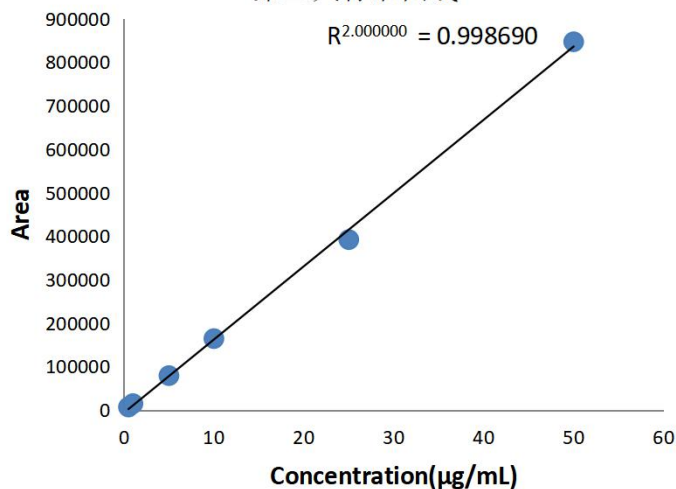
第一天标准曲线



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であり，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, µg/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。

MonoSpin PBAの物理性质和规格

产品名称	官能团	S型		表面积 (m ² /g)
		通孔 (μ m)	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, NH ₂ 各10各	5010-21741
MonoSpin 试用套件 3	SCX, SAX, CBA, NH ₂ 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。



ジールサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿6丁目22番1号 新宿スクエアタワー30F

TEL.03(5323)6611 FAX.03(5323)6622

東京営業部	TEL.03(5323)6611	FAX.03(5323)6622
大阪支店	TEL.06(6357)5060	FAX.06(6357)4580
東北営業所	TEL.045(985)7900	FAX.045(985)7901
筑波営業所	TEL.024(534)2191	FAX.024(536)1518
千葉営業所	TEL.029(858)3700	FAX.029(858)3780
北関東営業所	TEL.043(248)2441	FAX.043(248)2485
横浜営業所	TEL.048(667)1611	FAX.048(667)1656
名古屋営業所	TEL.052(931)1761	FAX.052(931)1814
広島営業所	TEL.082(233)1101	FAX.082(233)1110
九州営業所	TEL.092(738)6633	FAX.092(738)6636

カスタマーサポートセンター TEL.04(2934)1100 FAX.04(2934)3361

ホームページはこちらから・・・

<http://www.gls.co.jp/hplc.html>