

维生素 D3 代谢物衍生物的测定

SGLC-LCMS-029

摘要：本文建立了维生素 D3 代谢物衍生物 25(OH)D₃-PTAD (6R-isomer)、25(OH)D₃-PTAD (6S-isomer) 及 C3-差向异构体-维生素 D3 代谢物衍生物 3-epi-25(OH)D₃-PTAD (6R-isomer)、3-epi-25(OH)D₃-PTAD (6S-isomer) 等 4 个化合物的 LC-MS/MS 测定方法。结果表明，采用色谱柱 Shim-pack Velox Biphenyl(2.1×50 mm, 1.8 μm)分析 25(OH)D₃-PTAD (6R-isomer)、25(OH)D₃-PTAD (6S-isomer)、3-epi-25(OH)D₃-PTAD (6R-isomer)、3-epi-25(OH)D₃-PTAD (6S-isomer)，4 个同分异构体能够实现很好的分离，此方法可为血清中维生素 D3 的检测提供参考。

关键词：维生素 D3 Shim-pack Velox Biphenyl LC-MS/MS

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-30A 与 LCMS-8050 联用系统；

色谱柱：Shim-pack Velox Biphenyl (2.1×50mm, 1.8μm; P/N: 227-32013-02; S/N: 1610319)；

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 混合溶液的制备

取客户提供的 4 个衍生物母液适量，加甲醇稀释至如下浓度：25 (OH) D₃-PTAD (6R-isomer)、25 (OH) D₃-PTAD (6S-isomer) 为 5.3747 nmol/L；3-epi-25 (OH) D₃-PTAD (6R-isomer)、3-epi-25 (OH) D₃-PTAD (6S-isomer) 为 3.8467 nmol/L。

1.3 分析条件

UHPLC 条件

色谱柱：Shim-pack Velox Biphenyl (2.1×50mm, 1.8μm; P/N: 227-32013-02; S/N: 1610319)

流 速：0.3 mL/min

进样量: 5 μ L

柱 温: 30 $^{\circ}$ C

流动相: A: 0.1%甲酸水溶液 B: 0.1%甲酸甲醇溶液

梯度洗脱程序如下:

时间 (Min)	0	6	8	8.1	10
A (%)	30	20	20	30	30
B (%)	70	80	80	70	70

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子扫描

扫描模式: 多反应监测(MRM)

碰撞气: 氦气

加热气: 氮气 10 L/min

雾化气: 氮气 3 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

接口温度: 300 $^{\circ}$ C

DL 温度: 250 $^{\circ}$ C

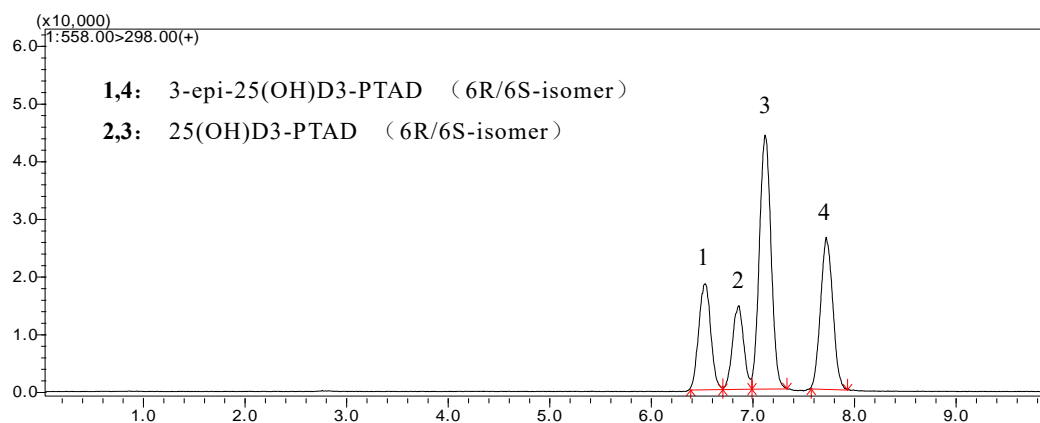
加热模块温度: 400 $^{\circ}$ C

4 个化合物 MRM 参数见下表

目标物名称	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias	CE	Q3 Pre Bias
25(OH)D3-PTAD	558.00	298.00	-20.0	-19.0	-19.0
3-epi-25(OH)D3-PTAD	558.00	298.00	-20.0	-19.0	-19.0

2. 结果及讨论

按照上述色谱条件 (1.3) 进行采集, 4 个化合物混合溶液色谱图如下:



4 个化合物重现性

峰号	保留时间 (min)				面积 (Area)			
	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)
1	6.478	6.530	6.539	0.51	167457	149261	148492	6.92
2	6.808	6.865	6.870	0.50	120561	110244	109481	5.46
3	7.069	7.126	7.127	0.47	375201	350362	348680	4.15
4	7.683	7.725	7.729	0.33	236190	217347	217258	4.88

3. 结论

本文建立了维生素 D3 代谢物衍生物 25(OH)D3-PTAD(6R-isomer)、25(OH)D3-PTAD(6S-isomer) 及 C3-差向异构体-维生素 D3 代谢物衍生物 3-epi-25(OH)D3-PTAD(6R-isomer)、3-epi-25(OH)D3-PTAD(6S-isomer) 等 4 个化合物的 LC-MS/MS 测定方法。结果表明, 采用色谱柱 Shim-pack Velox Biphenyl(2.1×50 mm, 1.8 μm)分析 25(OH)D3-PTAD(6R-isomer)、25(OH)D3-PTAD(6S-isomer)、3-epi-25(OH)D3-PTAD(6R-isomer)、3-epi-25(OH)D3-PTAD(6S-isomer), 4 个同分异构体能够实现很好的分离, 此方法可为血清中维生素 D3 的检测提供参考。