

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定大鼠血浆中阿可拉定

LCMSMS-135

**摘要：** 本文建立并验证了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8080 联用测定大鼠血浆中阿可拉定的方法。方法定量限 0.02 ng/mL，线性范围为 0.02~8.00 ng/mL，相关系数在 0.9999。选择性考察结果表明空白血浆中没有对分析造成明显干扰的物质；考察 0.02 ng/mL 和 0.10 ng/mL 浓度水平质控样品的分析结果重复性，结果表明方法的重复性在 1.53~2.32% 范围内；基质效应因子在 1.00 左右。方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，适合大鼠血浆中阿可拉定含量的快速检测，可用于阿可拉定的药代动力学研究。

**关键词：** 超快速液相色谱 三重四极杆质谱 血浆 阿可拉定

阿可拉定 (IC162) 为中药提取的黄酮类单体经酶转化得到的新的有效单体——黄酮类苷元，选择性雌激素受体调节剂，由坤奥基医药公司研发，系从药材淫羊藿中提取得到的单一有效成分，化学名为 3,5,7-三羟基-2-(4-羟甲基苯基)-8-(3-甲基丁烯基)-1,2-苯并吡喃酮-4，可特异性结合 ER- $\alpha$ 36 受体。阿可拉定是迄今发现的首个 ER $\alpha$ -36 受体高特异性调节剂，

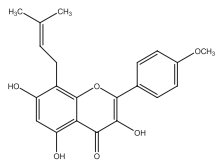
临床适应证为乳腺癌、子宫内膜癌以及雌激素受体亚型 ER- $\alpha$ 36 阳性的相关肿瘤。关于其药代动力学的研究引起人们的关注。LC-MS/MS 作为一种选择性好、灵敏度高的分析手段在药代动力学领域得到广泛应用，是评价阿可拉定药效、安全性等参数的重要手段。本文使用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8080 完成大鼠血浆中阿可拉定灵敏度测定、线性关系及重复性考察。

## 实验部分

### 1.1 化合物信息

目标化合物及内标化合物信息见表 1

表1 化合物信息

化合物名称	英文名	CAS No.	分子式	结构式
阿可拉定	Icaritin	118525-40-9 C	$_{21}H_{20}O_6$	

### 1.2 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8080 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8080 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 SP2 色谱工作站。

### 1.3 分析条件

#### 液相条件

色谱柱：Inertsil WP300 C8 Column (2.1 mm I.D.  $\times$  100 mm L., 5  $\mu$ m)  
流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液  
B 相 - 乙腈  
流速：0.6 mL/min  
柱温：40 $^{\circ}$ C

进样量：2  $\mu$ L

洗脱方式：等度洗脱，B 相浓度为 70%

#### 质谱条件

分析仪器：LCMS-8080

离子源：ESI，负离子模式分析

Probe 温度：450 $^{\circ}$ C

HSID 温度：300 $^{\circ}$ C

雾化气流速：5.0 L/min

加热气流速：12.0 L/min

雾帘气：1.8 L/min

离子源电压：4.5 kV

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：100 ms

MRM 参数：见表 2

表2 MRM参数

名称	前体离子	产物离子	EV (V)	CE(V)	CCL4(V)
阿可拉定	367.00	309.00*	100.0	-30.0	34.0
		297.00	100.0	-20.0	35.0

注：\*表示定量离子

#### 1.4 样品配制过程

用甲醇配制 1.0 mg/mL 阿可拉定储备液，将储备液用甲醇溶液逐级稀释成浓度为 0.04 ng/mL、0.08 ng/mL、0.20 ng/mL、0.40 ng/mL、1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、4.00 ng/mL、16.00 ng/mL。

取空白大鼠血浆 100  $\mu$ L，加 300  $\mu$ L 乙腈沉淀蛋白后上清液，按 1:1 加标准溶液，2  $\mu$ L 进样分析，实际进样浓度分别为 0.02 ng/mL、0.04 ng/mL、0.10 ng/mL、0.20 ng/mL、0.50 ng/mL、1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、8.00 ng/mL。

## 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

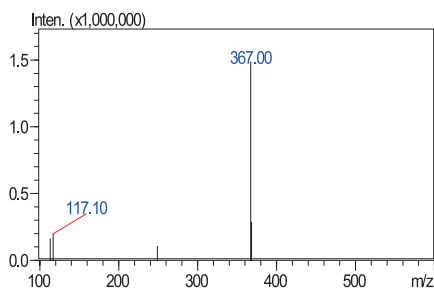


图1 阿可拉定的一级质谱图

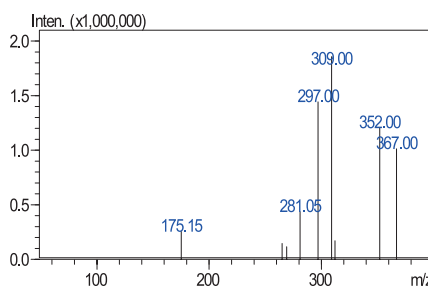


图2 阿可拉定的产物离子扫描图(CE值35V)

### 2.2 方法选择性

考察 0.02 ng/mL 血浆基质加标样品和空白基质，结果如图 3、4 所示，空白基质中没有对阿可拉定测定造成明显干扰的物质。

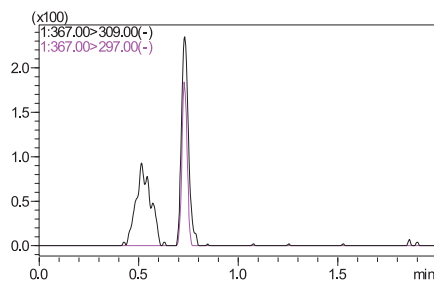


图3 0.02 ng/mL样品的MRM色谱图

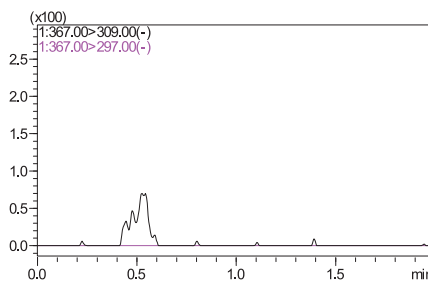


图4 空白基质的MRM色谱图

### 2.3 线性范围和最低定量限

按照 1.4 中的条件制备 0.02 ng/mL、0.04 ng/mL、0.10 ng/mL、0.20 ng/mL、0.50 ng/mL、1.00 ng/mL 的空白血浆加标样品。所得校准曲线如图 5 所示，线性方程及相关系数见表 3，其中 y 值代表阿可拉定的峰面积，x 值代表血浆中阿可拉定的浓度。方法检出限确定为 0.02 ng/mL，在此浓度水平，精密度和准确度均在接受标准内，6 次重复分析 RSD 为 2.32%，准确度为 86.3~89.7%，S/N 平均值为 207。

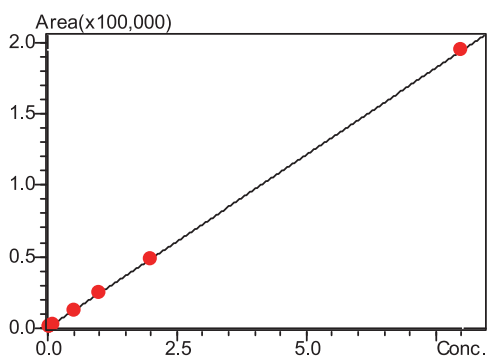


图5 阿可拉定标准曲线

表4 校准曲线参数 (线性回归)

化合物	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	相关系数 r
阿可拉定	$Y = (24201.7)X + (204.560)$	0.02~8.00	92.5~100.2%	0.9999

#### 2.4 分析方法重复性考察

考察 0.02 ng/mL 和 0.10 ng/mL 浓度水平质控样品的分析结果重复性, 结果如表 5 所示。方法的重复性 1.53~2.32%。

表5 方法精密度结果(n=6)

0.02 ng/mL		0.10 ng/mL	
No.	面积	No.	面积
1	681	1	2690
2	646	2	2707
3	664	3	2682
4	651	4	2742
5	638	5	2754
6	652	6	2790
RSD%	2.32	RSD%	1.53

#### 2.5 基质效应考察

基质效应的考察 0.02 ng/mL 和 0.10 ng/mL 浓度水平样品, 分别计算各浓度水平的基质效应因子, 结果见表 6, 各浓度水平基质效应因子均在 1.00 左右。

表6 基质效应考察结果(n=6)

	基质加标样品 面积平均值	溶液面积平均 值		基质加标样品 面积平均值	溶液面积平均 值
0.02 ng/mL	655	598	0.10 ng/mL	2728	2570
基质效应因子	1.09		基质效应因子	1.06	

## ■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8080 联用测定大鼠血浆中阿可拉定的方法。该方法在 2 min 内完成大鼠血浆中阿可拉定的快速检测，方法定量限 0.02 ng/mL，线性范围为 0.02~1.00 ng/mL，相关系数在 0.9999。选择性考察结果表明空白血浆中没有对分析造成明显干扰的物质；考察 0.02 ng/mL 和 0.10 ng/mL 浓度水平质控样品的分析结果重复性，结果表明方法的重复性在 1.53~2.32% 范围内；基质效应因子在 1.00 左右。本方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，适合大鼠血浆中阿可拉定的快速准确检测。