

人血浆中瑞德西韦及代谢产物的同时分析

前言

瑞德西韦 (商品名称: Veklury) 是 Gilead Sciences 公司 (U.S.) 开发的一种治疗埃博拉出血热的前体药物, 该药物对单链 RNA 病毒具有抗病毒活性, 部分药物会在体办代谢为活性型的 GS-441524¹⁾。在本文中, 本公司建立了使用具有出色的可选择性的分析方法 LC/MS/MS (图 1), 对瑞德西韦及其代谢产物进行同时检测的分析系统, 在本文中介绍相关研究成果。

E. Imoto, D. Kawakami



图 1 LCMS-8060 的外观图

分析条件及样品的预处理

检测目标化合物瑞德西韦 (PN: C8799*)、GS-441524 (PN: C8847*) 及其稳定同位素 [U-Ring-¹³C₆]-瑞德西韦 (PN: C8845*)、[⁵C₅]-GS-441524 (PN: C8855*) 均从岛津制作所的集团下属企业 Alsachim 公司购买, [U-Ring-⁶C₆]-瑞德西韦、[⁵C₅]-GS-441524 作为内标物质使用。瑞德西韦、GS-441524 的结构式如图 2 所示。在市售的经过 EDTA 2K 处理的人血浆中添加瑞德西韦和 GS-441524, 配制了标准曲线。使用表 1 所示的 LC 及 MS 的分析条件、表 2 所示的 MRM 参数进行了检测。分析柱使用了 Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm、P/N: 227-31012-03)。MS 色谱图如图 3 所示。

瑞德西韦将 100, 500, 1000, 2500, 5000 ng/mL 作为校准点, GS-441524 将 5, 25, 50, 250, 500 ng/mL 作为校准点, 每个校准点重复测定 5 次。使用甲醇制备 [U-Ring-¹³C₆]-瑞德西韦 (2.5 μg/mL)、[¹³C₅]-GS-441524 (0.25 μg/mL) 的混合溶液, 作为 ISTD 使用。

预处理方法的流程如下所示。添加 75%IPA 20 μL、血浆 50 μL、ISTD 10 μL、乙腈 100 μL, 进行充分搅拌后, 将离心分离得到的上清液移至 LC 试剂瓶中, 进行检测。

* 岛津 GLC 及 Alsachim 产品编号

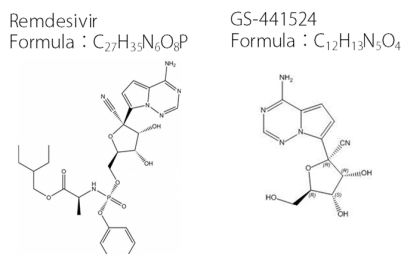


图 2 瑞德西韦及 GS-441524 的结构式

表 1 LC 及 MS 的分析条件

< LC 分析条件 >		< MS 分析条件 >	
UHPLC	Nexera™ X2 Shim-pack Scepter C18-120	LC-MS/MS 系统	LCMS-8060
分析柱	(50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm)	接口	加热 ESI
流动相	A: 0.05% 甲酸-水 B: 0.05% 甲酸-乙腈	MS 检测模式	MRM (+)
梯度程序 (%B)	5 % (0 - 0.30 min) → 30 % (0.35 min) → 70 % (1.50 min) → 90 % (1.80 - 2.80 min) → 5 % (2.90 - 4.50 min)	加热块温度	400 °C
流速	0.4 mL/min	DL 温度	200 °C
柱温箱温度	40 °C	接口温度	300 °C
进样量	2.0 μL (同时注入水 20 μL)	雾化器气体流量	3 L/min
清洗溶液 (仅外部清洗)	MeOH: IPA = 1: 1 (v/v)	干燥气体流量	10 L/min
		加热气体流量	10 L/min

表 2 瑞德西韦及 GS-441524 的 MRM

化合物名称	离子	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)
瑞德西韦	定量离子	603.05	272.10
	定性离子	603.05	229.00
[¹³ C ₆]-瑞德西韦	定量离子	609.05	278.20
	定性离子	609.05	229.15
GS-441524	定量离子	291.90	163.05
	定性离子	291.90	173.05
[¹³ C ₅]-GS-441524	定量离子	296.90	164.10
	定性离子	296.90	174.10

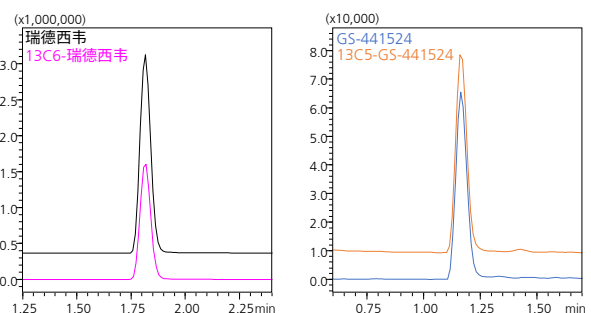


图 3 瑞德西韦、[U-Ring-¹³C₆]-瑞德西韦 (左) 及 GS-441524、[¹³C₅]-GS-441524 (右) 的 MS 色谱图

■ 标准曲线的绘制

通过添加血浆的样品绘制标准曲线的结果如表 3 所示。瑞德西韦及 GS-441524 在配置的浓度范围内得到了良好的线性。通过评估准确度（准确性）及精度（重复性）发现，在含定量下限的全浓度范围中，瑞德西韦的精度为 %RSD 0.8%-1.8%，GS-441524 的精度为 %RSD 2.2%-5.0%。另外，瑞德西韦的准确性为 92.0%-107%、GS-441524 的准确性为 94.8%-106%，均在 100±15% 以内。

表 3 使用 LC/MS/MS 分析血浆中瑞德西韦、GS-441524 时的线性、准确度及精度

化合物	瑞德西韦				GS-441524				
	ID	加标浓度 (ng/mL)	测定浓度 (ng/mL)	精密度的 % RSD	准确度 %	加标浓度 (ng/mL)	测定浓度 (ng/mL)	精密度的 % RSD	准确度 %
空白样品	---	---	---	---	---	---	---	---	---
1 级	100	92.0	1.2	92	5	4.74	3.8	95	
2 级	500	535	0.8	107	25	26.6	2.8	106	
3 级	1000	1036	0.9	104	50	50.7	5.0	101	
4 级	2500	2433	1.8	97	125	121	2.2	97	
5 级	5000	5004	1.8	100	250	252	2.3	101	

校准曲线

■ 分析系统的稳定性试验

为了评估本次建立的分析系统的稳定性及重现性，使用在人血浆中添加瑞德西韦 1000 ng/mL 及 GS-441524 50 ng/mL 的样品，分成两天检测了 100 次。每次进样得到的面积值用第一次进样得到的面积值归一化和统计的结果如图 4 所示。在人血浆的检测中，各化合物的 %RSD 为 2.2% - 3.9%，得到了良好的进样重现性。上述结果表明，本分析系统可以长时间维持高灵敏度分析，具有良好的稳定性。

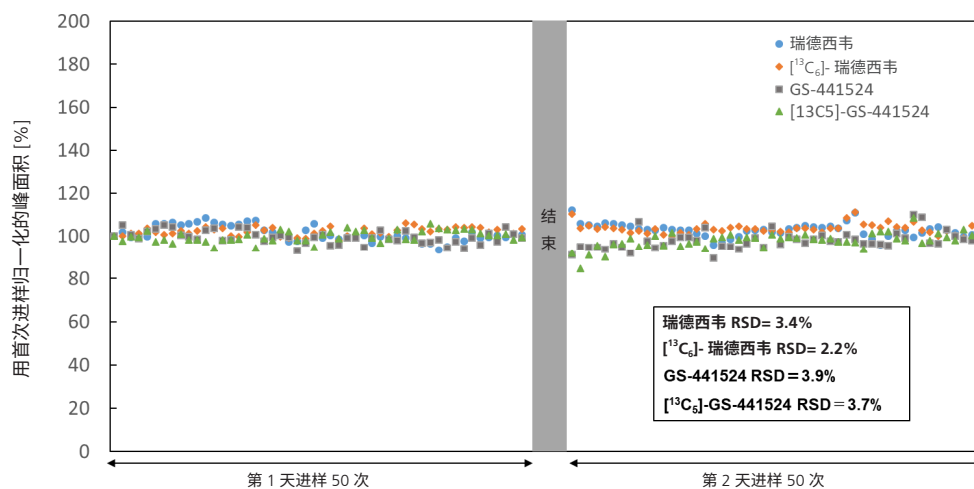


图 4 瑞德西韦、[U-Ring-¹³C₆]-瑞德西韦、GS-441524、[¹³C₅]-GS-441524 的 100 次检测结果用第一次进样得到的面积值归一化，统计各进样结果

■ 总结

建立了血浆中瑞德西韦及其代谢产物 GS-441524 检测的 LC-MS/MS 的分析系统。绘制标准曲线后发现，可以得到良好的线性。另外，为评估分析系统的稳定性而进行 100 次检测，结果显示可长时间维持高灵敏度的分析，具有良好的稳定性。

< 参考文献 >

- Richard T 等，“Remdesivir：回顾紧急使用授权治疗新冠病毒的发现和开发”，ACS Cent.Sci.

本文中记载的产品尚未作为医疗器械得到医药品医疗器械法的批准和认证。无法用于治疗诊断目的，无法通过正常程序使用。

岛津应用云



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话：800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2020 年 6 月