

LC-MS 检测血浆中抗癌药紫杉醇的浓度

LCMS-032

摘要：使用岛津小型单四极杆质谱仪建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108% 之间，RSD 在 1.0%~1.7% 之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

关键词：小型单四极杆质谱仪 抗癌药 紫杉醇 治疗药物监测

技术特点：

- ❖ 使用小型单四极杆质谱仪结合检测试剂盒，建立紫杉醇血药浓度测定方法。
- ❖ 方法快速高效，分析时间仅需 4 min。

紫杉醇是从短叶紫杉树皮中提取的一种天然生物碱，其抗肿瘤活性发现于 20 世纪 70 年代，于 1992 年首次通过了美国 FDA 认证。在化学结构上紫杉醇是紫杉烷环的二萜类化合物，通过促进微管蛋白装配和抑制微管解聚来发挥抗肿瘤作用。紫杉醇是发现的第一个能与微管蛋白聚合物相互作用的药物，即通过与微管紧密地结合，使它们稳定而起作用，同时发现紫杉醇对多种实体瘤细胞显示出良好的作用。紫杉醇在临床上已经广泛用于乳腺癌、卵巢癌和部分头颈癌和肺癌的治疗。但研究表明，紫杉醇有骨髓抑制不良反应，监测紫杉醇血

药浓度可预测化疗毒性及疗效，对提高患者用药的安全性和有效性具有重要意义。目前常用的血药浓度监测方法包括高效液相色谱法 (HPLC)、免疫试剂盒测试法、高效液相色谱 - 质谱联用分析法 (LC-MS/MS) 等，而使用 LC-MS 法测定紫杉醇的报道较少。

本文使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用单四极杆质谱 LCMS-2050 系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	在线脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XS×2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XS	质谱仪：	LCMS-2050
色谱工作站：	Labsolutions Ver.5.114		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack GIST C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 2 μm); P/N: 227-30001-02; 岛津 (上海) 实验器材有限公司		
流动相：	A 相为 0.1% 甲酸水溶液 (含 2 mmol/L 乙酸铵); B 相为 0.1% 甲酸甲醇溶液		
进样体积：	2 μL	柱温：	40℃
流速：	0.4 mL/min	洗针液：	甲醇 / 水 = 1:1(v:v)
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相起始浓度为 70%，时间程序如表 1 所示。		

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	70
2.00	泵	B.Conc	95
2.50	泵	B.Conc	95
2.60	泵	B.Conc	70
4.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式：	ESI+	雾化气流速：	2.0 L/min
接口电压：	3 kV	干燥气流速：	5.0 L/min
脱溶剂温度：	450°C	加热气流速：	7.0 L/min
D L 温度：	150°C	扫描模式：	选择离子监测 (SIM)
MRM 参数	见表 2		

表 2 SIM 参数

编号	中文名	英文名	CAS 号	SIM 离子
1	紫杉醇	Paclitaxel	33069-62-4	854.2
2	紫杉醇内标	Paclitaxel-IS	-	859.2

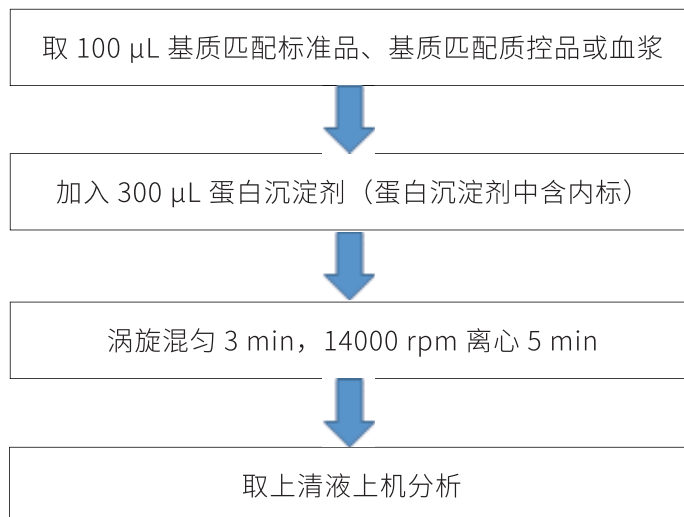
1.3 标准品及样品制备

使用紫杉醇测定试剂盒（液相色谱 - 串联质谱法，江苏豪思生物科技有限公司）按照试剂盒说明书进行实验。试剂盒包含紫杉醇标准品 L1~L7，低中高浓度质控品 LQC, MQC, HQC 及蛋白沉淀剂（蛋白沉淀剂中含内标）。

基质匹配校准曲线制备：取试剂盒中紫杉醇校准样品 L1~L7 各 10 μ L，加入 90 μ L 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质校准溶液，浓度分别为 20 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL、2000 ng/mL、4000 ng/mL、8000 ng/mL。

基质匹配质控品溶液制备：取低中高浓度质控品 LQC, MQC, HQC 各 10 μ L，加入 90 μ L 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质匹配质控品溶液，浓度分别为 38.90 ng/mL, 407.67 ng/mL, 3886.67 ng/mL。

标准品、质控品及样品前处理：



■ 结果讨论

2.1 SIM 色谱图

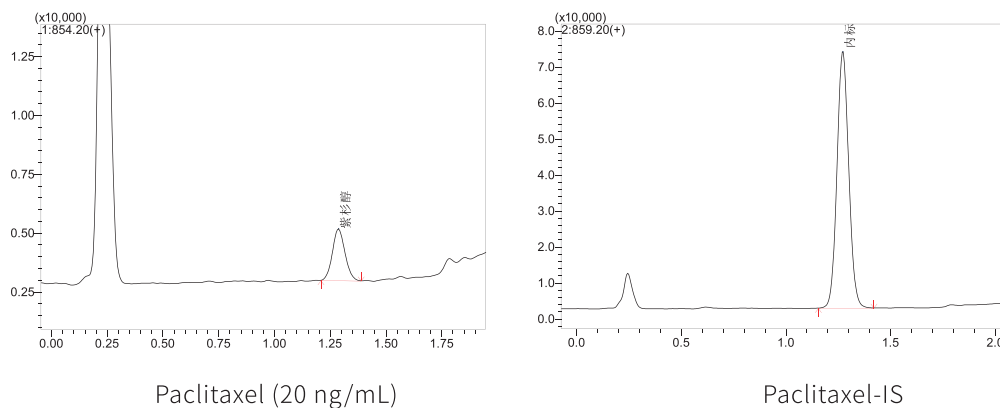


图1 校准曲线最低点谱图

2.2 线性测定结果

对标准品按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作校准曲线。紫杉醇在 20 ng/mL~8000 ng/mL 校准曲线浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度在 98.0%~104.7% 之间，满足测定需求。

2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对低中高浓度质控品进行前处理，每个浓度质控品重复制备 6 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度结果如表 3 所示，结果显示质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108% 之间，RSD 在 1.0%~1.7% 之间，满足临床测定需求。

表3 质控准确度考察结果 (n=6, 浓度单位 ng/mL)

质控	项目	数值
LQC	理论浓度	38.90
	测定浓度	41.98
	质控范围	31.12~46.68
	质控准确度 %	108
	RSD%	1.7
MQC	理论浓度	407.67
	测定浓度	413.85
	质控范围	346.52~468.82
	质控准确度 %	102
	RSD%	1.5
HQC	理论浓度	3886.67
	测定浓度	3999.58
	质控范围	3303.67~4469.67
	质控准确度 %	103
	RSD%	1.0

■ 结论

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108% 之间，RSD 在 1.0%~1.7% 之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

岛津应用云

