

串联质谱用于血浆中抗癌药紫杉醇治疗药物监测应用

LCMSMS-678

摘要：使用串联质谱 LCMS-8045 CL，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、校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 96%~101% 之间，RSD 在 1.6%~3.6% 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：串联质谱 抗癌药 紫杉醇 治疗药物监测

紫杉醇 (Paclitaxel) 是一种天然抗癌药物，1979 年，美国爱因斯坦医学院的分子药理学家 Horwitz 博士阐明了紫杉醇独特的抗肿瘤作用机制：紫杉醇可使微管蛋白和组成微管的微管蛋白二聚体失去动态平衡，诱导与促进微管蛋白聚合、微管装配、防止解聚，从而使微管稳定并抑制癌细胞的有丝分裂和触发细胞凋亡，进而有效阻止癌细胞的增殖，起到抗癌作用。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。紫杉醇作为一个具有抗癌活性的二萜生物碱类化合物，其新颖复杂的化学结构、广泛

而显著的生物活性、全新独特的作用机制、奇缺的自然资源使其受到了植物学家、化学家、药理学家、分子生物学家的极大青睐，使其成为举世瞩目的抗癌明星药和研究重点。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。

本文使用串联质谱 LCMS-8045 CL，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

本实验使用临床质谱 LCMS-8045 CL 联用系统。具体配置为：

输液泵：LC-40D XR CL×2	在线脱气机：DGU-405 CL
自动进样器：SIL-40C XR CL	柱温箱：CTO-40C CL
系统控制器：CBM-40 CL	软件版本：Labsolutions Ver.1.30

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST 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

流速：0.4 mL/min

柱温：40°C

进样量：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 60%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.50	泵	B.Conc	95
2.50	泵	B.Conc	95
2.60	泵	B.Conc	60
4.00	控制器	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8045 CL	DL 温度: 150°C
离子源: ESI (+)	加热模块温度: 500°C
雾化气流速: 3.0 L/min	离子源温度: 300°C
干燥气流速: 12.0 L/min	扫描模式: 多反应监测 (MRM)
加热气流速: 8.0 L/min	MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
Paclitaxel	854.4	286.3*	-20	-19	-20
		104.9	-32	-48	-19
Paclitaxel-IS	859.4	291.3	-20	-19	-20

注: * 为定量离子

1.3 校准品及样品制备

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。试剂盒包含紫杉醇校准品 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, 基质校准曲线浓度见表 3。

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。

校准品、质控品及样品溶液制备: 取 100 μ L 基质匹配校准品、基质匹配质控品或血浆, 加入 300 μ L 蛋白沉淀剂 (蛋白沉淀剂中含内标), 涡旋混匀 3 min, 14000 rpm 离心 5 min, 取上清液上机分析。

表 3 校准曲线浓度表 (ng/mL)

名称	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7
Paclitaxel	20	100	500	1000	2000	4000	8000

■ 结果讨论
2.1 MRM 色谱图

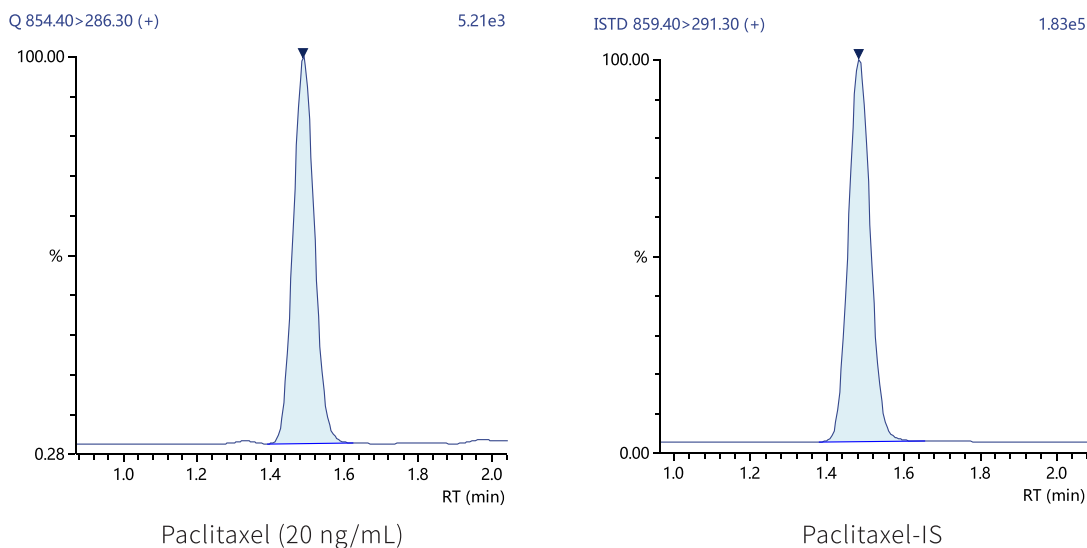


图 1 校准曲线最低点谱图

2.2 线性测定结果

对校准品按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作校准曲线。校准曲线结果见表 4，紫杉醇在校准曲线浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度在 93.8%~104.5% 之间，满足测定需求。

表 4 校准曲线结果

名称	线性方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数	准确度 (%)
Paclitaxel	$Y = (0.00127874)X + (0.00403113)$	20~8000	0.9993	93.8%~104.5%

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 5 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 96%~101% 之间，RSD 在 1.6%~3.6% 之间，满足临床测定需求。

表 5 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	39.29
	质控范围	31.12~46.68
	质控准确度 %	101
	RSD%	3.6
MQC	理论浓度	407.67
	测定浓度	392.91
	质控范围	346.52~468.82
	质控准确度 %	96
	RSD%	2.8
HQC	理论浓度	3886.67
	测定浓度	3908.09
	质控范围	3303.67~4469.67
	质控准确度 %	101
	RSD%	1.6

■ 结论

使用串联质谱 LCMS-8045 CL，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、校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，校准曲线相关系数均大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 96%~101% 之间，RSD 在 1.6%~3.6%，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

