

生物惰性液相色谱 - 质谱法检测帕金森新药血药浓度

LCMSMS-1034

摘要：使用岛津 Nexera XS inert 生物惰性液相系统 +LCMS-8050CL 超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪建立了人血浆中帕金森治疗靶点新药贝森替尼的测定方法。该方法利用生物惰性液相 + 生物惰性色谱柱 (Metal free) 有效避免了贝森替尼的液相系统残留。使用基质加标样品进行了方法的线性、精密度和加标回收率考察。结果显示：该方法灵敏度高，系统残留低，2500 倍的线性范围宽度内标准曲线相关系数大于 0.996，低浓度和高浓度水平下准确度偏差在 88.77%~102.00% 之间，6 针重复进样峰的浓度值精密度 RSD 在 8.8% 以内，满足临床 TDM 分析需求，供相关从业人员参考。

关键词：帕金森治疗 贝森替尼 生物惰性液相 质谱分析

技术特点：

❖ 首次应用生物惰性液相开展替尼类药物血药浓度分析，有效避免了分析物的系统残留问题。

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 作为发病率仅次于阿尔茨海默病的第二大神经退行性疾病，其病程发展的不可逆性长期困扰着患者群体。

2025 年 2 月，《Science》杂志^[1] 刊发重大研究突破：科研团队成功鉴定出帕金森病新型治疗靶标 FAM171A2，并通过 7000 余种小分子化合物的筛选，锁定候选药物贝森替尼 (Bemcentinib)。该发现为帕金森病的早期诊断和干预提供了全新策略。

目前，贝森替尼在临床主要用于肿瘤领域，已

获批用于非小细胞肺癌、三阴乳腺癌、急性髓系白血病等实体瘤治疗，同时在 COVID-19 治疗中也显示出潜力^[2]。然而，该药物在神经退行性疾病领域尚未见临床应用报道。

为了系统评估贝森替尼治疗帕金森病的有效性与安全性，本研究创新性地构建了基于 Nexera XS inert 生物惰性液相系统与 LCMS-8050CL 质谱联用的检测平台，成功建立了人血浆中贝森替尼的定量分析方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用生物惰性超高效液相色谱仪 Nexera XS inert 与 LCMS-8050CL 三重四极杆质谱仪联用系统具体配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XSi×2	自动进样器：	SIL-40C XSi
柱温箱：	CTO-40C	质谱检测器：	LCMS-8050CL
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.128		



图 1 Nexera XS inert + LCMS-8050CL 系统和 Shim-pack 生物惰性分析柱

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色 谱 柱： Shim-pack Scepter C18-120 Metal free (2.1 mm×50 mm, 3 μm)
P/N: 227-31073-01, 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；B 相为乙腈

流 速： 0.4 mL/min

柱 温： 40°C

进 样 量： 0.5 μL

洗 脱 方 式： 梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	泵 A 浓度	泵 B 浓度
0.01	70	30
0.20	70	30
1.60	5	95
2.10	5	95
2.11	70	30
2.60	70	30

质谱条件：

离 子 源： ESI (+)

D L 温 度： 250°C

雾 化 气 流 速： 3.0 L/min

加 热 模 块 温 度： 400°C

加 热 气 流 速： 10.0 L/min

接 口 温 度： 290°C

干 燥 气 流 速： 10.0 L/min

源 位 置： +1 mm

接 口 & 聚 焦 电 压： 4 kV

扫 描 模 式： 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

#	化合物名称	CAS 号	前体离子 > 产物离子	Q1 Pre	CE	Q3 Pre
1	贝森替尼 (Bemcentinib)	1037624-75-1	507.30>436.20	-24	-29	-12
2	伊马替尼 (Imatinib)*	152459-95-5	494.30>394.15	-14	-26	-19

* 参考药典标准^[3]，使用内标法定量，以无目标离子干扰的结构类似物伊马替尼作为内标。

1.3 标准品及样品制备

标准品：分别精密称取贝森替尼和内标伊马替尼对照品适量，加入乙腈溶解定容，摇匀，得到浓度为 10.0 mg/mL 的贝森替尼储备液和 0.10 mg/mL 的伊马替尼储备液，于 4°C 冰箱保存，备用。分析前，以贝森替尼储备液和正常人血浆配制基质校准品，浓度范围为：2~5000 ng/mL；以伊马替尼储备液和乙腈配制浓度为 100 ng/mL 的伊马替尼内标工作液。

样品制备：精密吸取 20 μL 基质校准品和待测血浆样品，加入 100 μL 伊马替尼内标工作液，混合涡旋 1 min，12000 r/min 离心 10 min 后，吸取上清液 50 μL，加纯水 1: 2 稀释混匀后上机分析。

■ 结果讨论

2.1 灵敏度和特异性

分别对正常人血浆和定量限校准品按 1.3 中的前处理条件开展进样分析，正常人血浆中贝森替尼和内标伊马替尼的 MRM 色谱图中未出峰，表明内源性基质未干扰目标分析物；定量限校准品中贝森替尼和内标伊马替尼的 MRM 色谱图显示贝森替尼信噪比为 291.65，内标伊马替尼信噪比为 53876.03，灵敏度满足定量分析要求（如图 1 所示）。

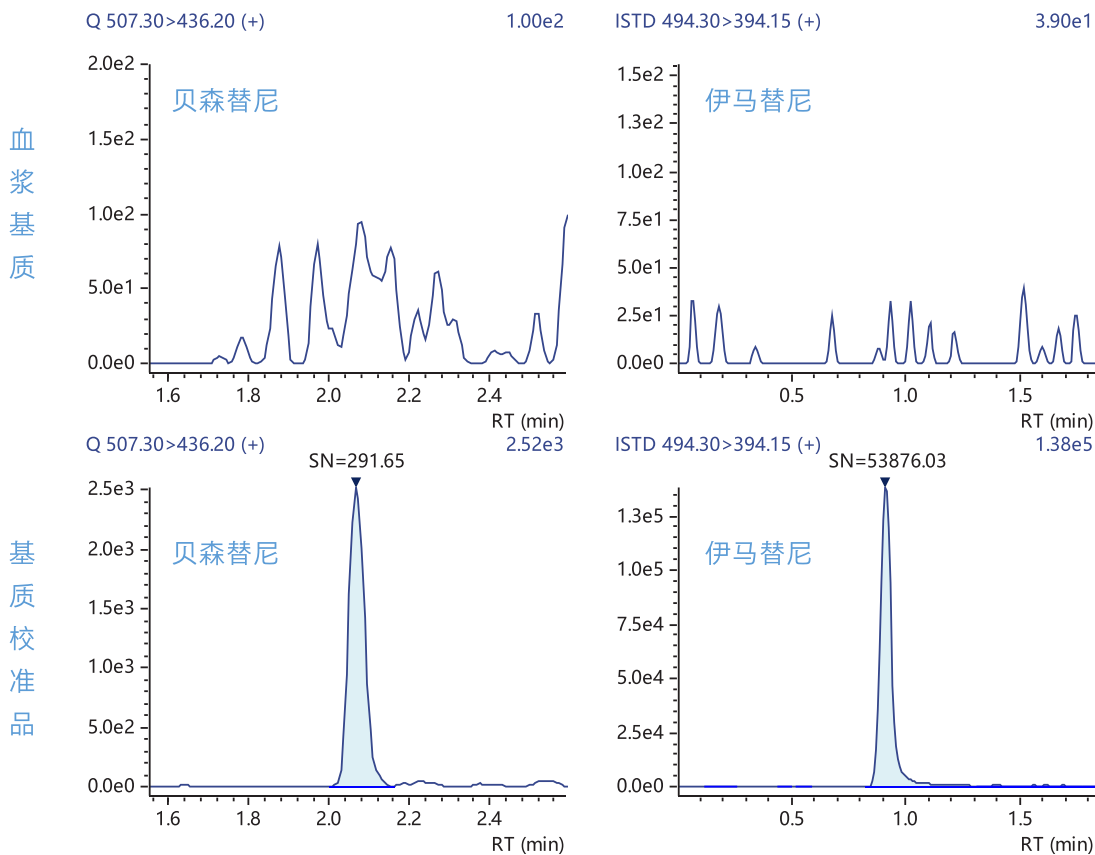


图 2 血浆基质中贝森替尼和伊马替尼 MRM 色谱图（校准品浓度：2 ng/mL）

2.2 线性测定结果

对基质匹配标准品按 1.3 中的分析条件进行分析，内标法制作标准曲线。贝森替尼标准曲线结果如表 3 和图 3 所示，在 2~5000 ng/mL 的线性范围内线性相关系数 >0.996，曲线各浓度点准确度在 88.27%~108.36% 之间，满足定量分析要求。

表 3 贝森替尼标准曲线

No.	名称	标准浓度 (ng/mL)	实测浓度 (ng/mL)	准确度 %
1	STD-1	2.00	1.97	98.58
2	STD-2	5.00	5.04	100.73
3	STD-3	20.00	21.52	107.60
4	STD-4	50.00	54.18	108.36

5	STD-5	200.00	204.91	102.45
6	STD-6	500.00	532.99	106.60
7	STD-7	2000.00	1748.15	87.41
8	STD-8	5000.00	4413.56	88.27

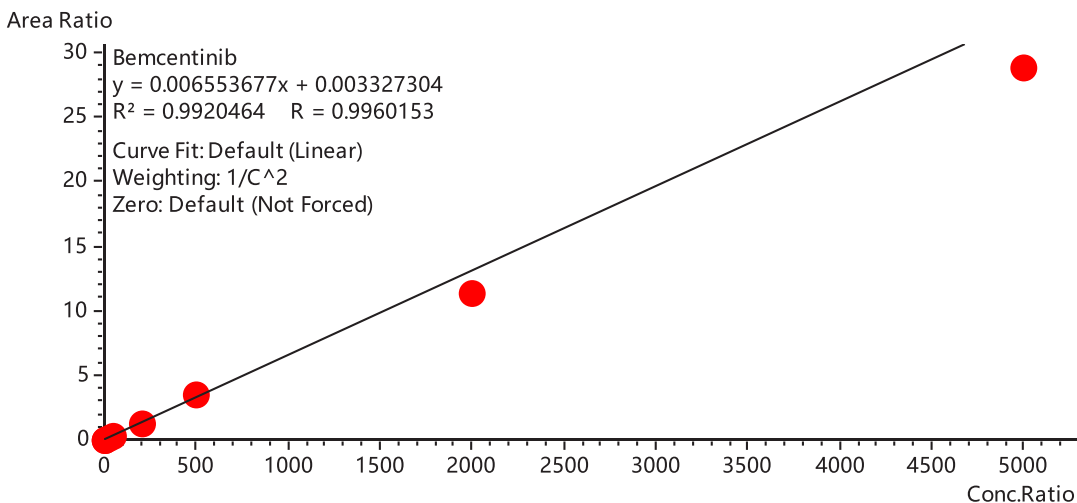


图3 贝森替尼校准曲线图

2.3 系统残留评估

如图4所示，使用常规 HPLC 和非生物惰性 C18 分析柱条件下：1000 ng/mL 浓度的贝森替尼进样后的系统残留量接近定量限浓度 (2 ng/mL) 水平，内标残留为 10%，难以满足定量分析要求。

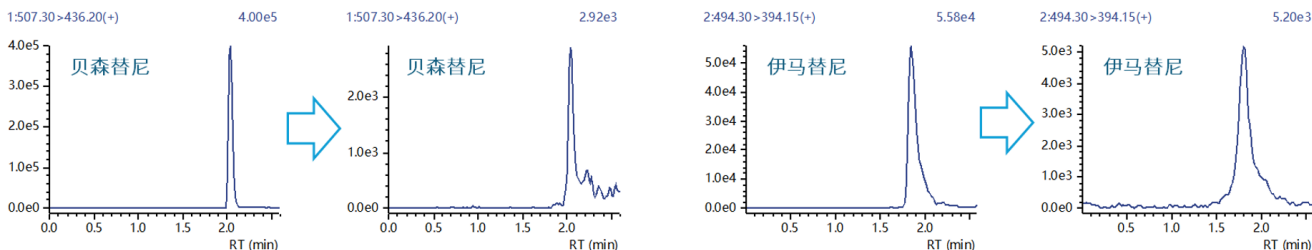


图4 常规 HPLC 和普通 C18 分析柱条件下的分析物和内标物系统残留情况

如图5所示，使用生物惰性液相 (Nexera XS inert) 和生物惰性 C18 分析柱 (Shim-pack Metal free C18) 条件下：5000 ng/mL 浓度的贝森替尼进样后的系统残留量低于20%定量限浓度 (2 ng/mL) 水平，内标残留低于1%，满足定量分析要求。

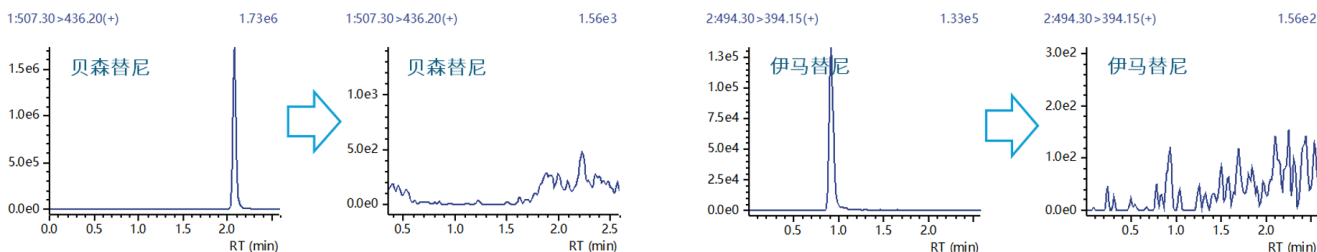


图5 生物惰性液相和生物惰性 C18 分析柱条件下的分析物和内标物系统残留情况

2.4 准确度和精密度考察

将低浓度和高浓度血浆质控样本按照 1.3 样品前处理流程分别平行处理 6 份后上机分析，考察方法准确度和精密度性能。如图 6 和图 7 所示：低浓度水平血浆质控样本准确度在 88.77%~102.00% 之间，精密度 RSD 在 8.8% 以内；高浓度水平血浆质控样本准确度在 92.69%~94.52% 之间，精密度 RSD 在 1.0% 以内。

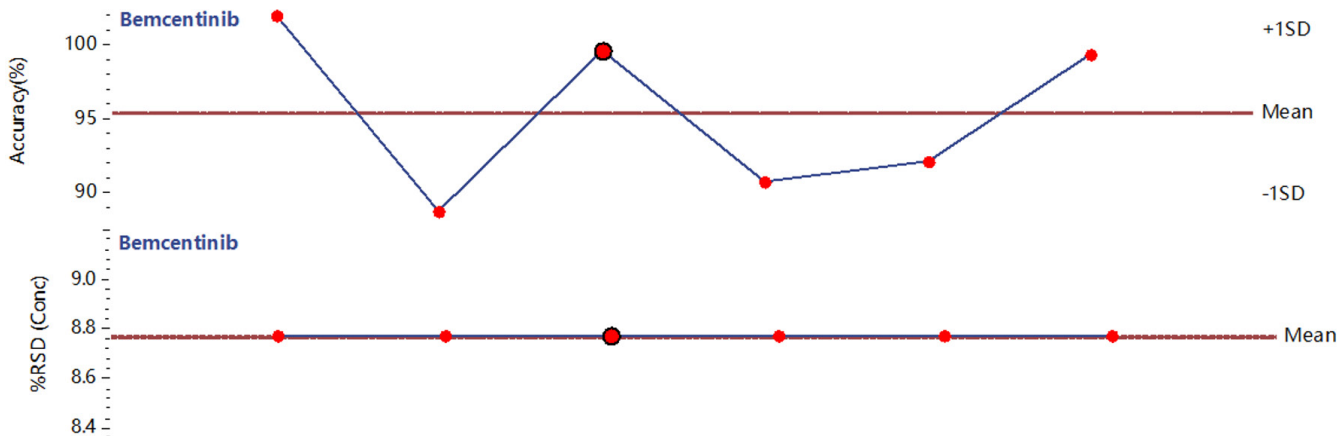


图 6 低浓度血浆质控品准确度和精密度结果 (5 ng/mL)

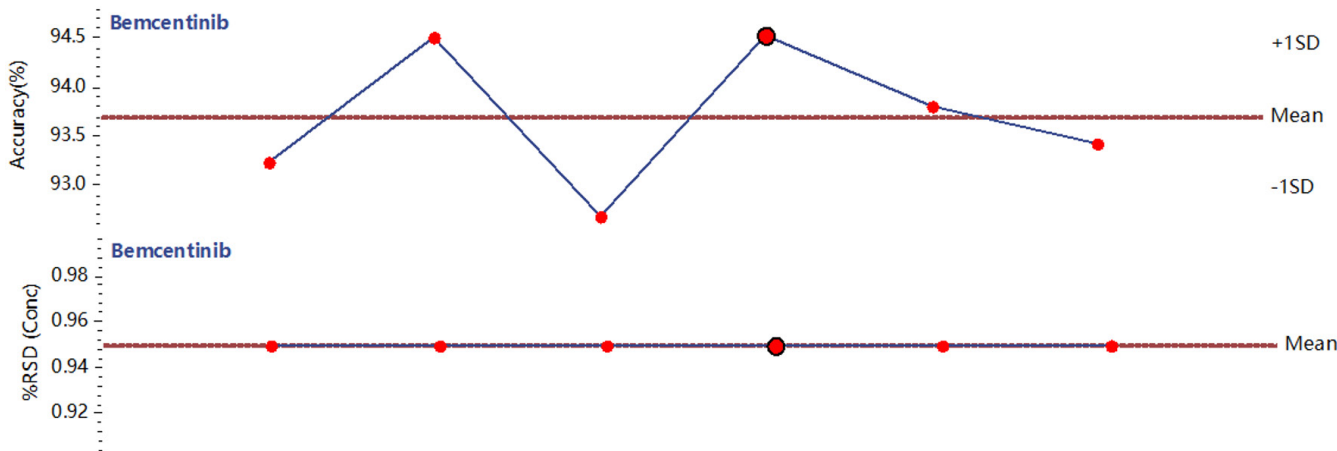


图 7 高浓度血浆质控品准确度和精密度结果 (5 ng/mL)

■ 结论

使用岛津 Nexera XS inert 生物惰性液相与 LCMS-8050CL 三重四极杆质谱联用，建立了人血浆中帕金森治疗靶点新药贝森替尼的测定方法。利用蛋白沉淀的前处理方法，以内标法建立标准曲线，分别考察了方法的灵敏度、线性、系统残留、准确度和精密度性能。结果显示：贝森替尼在 2-5000 ng/mL 的线性范围内标准曲线相关系数 >0.996，定量限信噪比大于 291，高浓度样品的系统残留小于定量限的 20%，内标残留小于 1%，低浓度和高浓度水平下准确度偏差在 88.77%~102.00% 之间，6 针重复进样的浓度值精密度 RSD 在 8.8% 以内，分析性能良好，可满足定量检验需求。

■ 参考文献

- [1]. Wu KM, Xu QH, Liu YQ, et al. Neuronal FAM171A2 mediates α -synuclein fibril uptake and drives Parkinson's disease. *Science*. 2025 Feb 21;387(6736):892-900.
- [2]. Bhalla, S., Fattah, F. J., Ahn, C., et al. Phase 1 trial of bemcentinib (BGB324), a first-in-class, selective AXL inhibitor, with docetaxel in patients with previously treated advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2023, 182, 107291. ISSN 0169-5002.
- [3]. 中华人民共和国国家药典委员会 . 9012 生物样品定量分析方法验证指导原则 [S]. 中国药典 , 2020 年版 .

岛津应用云

