

在线蛋白沉淀预处理结合 LC-MS/MS 同时测定人血浆中 24 种精神类药物

LCMSMS-1033

摘要：使用艾迪迈全自动在线前处理进样联用仪搭配三重四极杆液质联用仪建立了人血浆中 24 种精神类药物浓度的测定方法。该方法可实现采血管样品的直接在线分析，一站式出具分析结果。使用血浆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：各分析物在线性范围内标准曲线相关系数均大于 0.995，方法准确度在 85%~115% 之间，重复进样的精密度相对标准偏差均小于 15%，满足临床 TDM 分析需求，供相关从业人员参考。

关键词：全自动样本前处理 抗精神类药物 质谱分析

技术特点：

- ❖ 在线全自动样本前处理，实现血浆样本的高效自动化处理，减少人工操作
- ❖ 一针法实现血浆中 24 种精神类药物浓度的高效分析

在临床质谱检测领域，通过自动化操作替代人工处理的在线样本预处理技术将显著提升检验工作效率，在提高分析效率的同时，降低人为操作误差风险，帮助实现临床样本从采集到检测全流程的标准化、规范化管理。

本文介绍了一种前处理单元与质谱分析单元联动的灵活系统。该系统前端采用基于蛋白沉淀原理的样本前处理方法，结合后端的 LCMS-8045RX 串联质谱分析系统，能够实现从采血管样品到分析数据的一站式解决方案。

该套全自动在线前处理进样联用仪支持离线和在线自动化前处理两种模式，可无缝对接岛津全系 LC-MS/MS 分析系统。模块化的组合方式可根据不同检测需求快速调整和优化流程，实现高效、精准的检测目标。

联动系统在维持原液相系统高通量进样分析优势的同时，扩展了在线自动化分析功能，无论是复杂生物样本的高通量检测，还是特定疾病标志物的深度分析，该系统都能提供强大支持，简化工作流程。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用艾迪迈全自动在线前处理进样联用仪搭配岛津 Nexera LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045RX 联用系统。具体配置为：

- 前处理设备：全自动在线前处理进样联用仪，型号：QG2000
- 系统控制器：CBM-40
- 输液泵：LC-40D XS x2
- 质谱检测器：LCMS-8045RX
- 自动进样器：SIL-40C XS
- 柱温箱：CTO-40C
- 色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.128



图1 联用系统图片 (左: 在线前处理设备 中: LC-40 液相 右: LCMS-8045RX 质谱仪)

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色 谱 柱 : Shim-pack Velox SP-C18(50 mm × 4.6 mm × 2.7 μm),
货号: 227-32005-02, 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; B相为纯甲醇

流 速 : 0.9 mL/min

柱 温 : 40°C

进 样 量 : 系统默认值

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
0.00	70	30
0.50	70	30
6.50	35	65
8.30	5	95
9.35	5	95
9.40	70	30
10.00	70	30

质谱条件:

离 子 源 : ESI (+)

D L 温 度 : 200°C

雾化气流速 : 5.0 L/min

加热模块温度 : 400°C

加热气流速 : 15.0 L/min

接 口 温 度 : 300°C

干燥气流速 : 10.0 L/min

源 位 置 : +3 mm

接口 & 聚焦电压 : 4 kV & 1 kV

扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

表2 MRM 参数

#	名称	CAS 号	前体离子 > 产物离子	Q1 Pre	CE	Q3 Pre
1	文拉法辛	9300-78-4	278.3000>58.1500	-20	-20	-20
2	O- 去甲文拉法辛	93413-62-8	264.3000>58.1500	-20	-20	-20
3	米氮平	85650-52-8	266.2000>195.1500	-20	-20	-20
4	帕罗西汀	64006-44-6	330.2000>192.2000	-20	-20	-20
5	米那普仑	101152-94-7	247.2500>230.1500	-20	-10	-20
6	安非他酮	31677-93-7	240.2000>184.1500	-20	-5	-20
7	羟安非他酮	357399-43-0	256.2000>238.1500	-20	-10	-20
8	舍曲林	79559-97-0	306.1500>275.1000	-20	-14	-20
9	去甲舍曲林	91797-57-8	292.1500>159.1500	-11	-25	-30
10	艾司西酞普兰	219861-08-2	325.3000>109.1000	-20	-28	-20
11	去甲艾司西酞普兰	1188264-72-3	311.2000>109.1000	-12	-25	-21
12	西酞普兰	59729-32-7	325.2000>109.1000	-18	-26	-22
13	米安色林	21535-47-7	265.2000>208.1500	-15	-20	-22
14	度洛西汀	136434-34-9	298.2000>44.2000	-11	-11	-17
15	氟伏沙明	61718-82-9	319.2000>71.1500	-20	-20	-20
16	氯米帕明	17321-77-6	316.2000>86.2000	-12	-19	-16
17	去甲氯米帕明	303-48-0	301.2000>72.1000	-20	-16	-20
18	阿米替林	549-18-8	278.3000>233.2000	-20	-17	-20
19	去甲阿米替林	894-71-3	264.2000>233.1000	-20	-15	-20
20	氟西汀	54910-89-3	310.2000>148.2000	-17	-8	-26
21	去甲氟西汀	107674-50-0	296.2000>134.1500	-10	-6	-24
22	曲唑酮	25332-39-2	372.2000>148.1000	-20	-39	-20
23	多塞平	1229-29-4	280.2000>107.1500	-11	-22	-22
24	去甲多塞平	1225-56-5	266.2000>107.1000	-20	-10	-20
25	文拉法辛 -D6	1020720-02-8	284.3000>58.2500	-11	-22	-20
26	O- 去甲文拉法辛 -D6	1062605-69-9	270.3000>64.2000	-19	-28	-20
27	米氮平 -D3	1216678-68-0	269.3000>195.1500	-11	-25	-21
28	帕罗西汀 -D4	1217683-35-6	334.2000>196.2500	-13	-21	-21
29	米那普仑 -D10	1217977-03-1	257.3000>240.2500	-18	-12	-21
30	安非他酮 -D9	1189725-26-5	249.2000>185.0500	-20	-15	-20
31	羟基安非他酮 -D6	1216893-18-3	262.3000>244.2000	-20	-15	-20
32	舍曲林 -13C6	-	312.2000>281.0500	-20	-12	-22
33	去甲舍曲林 -13C6	-	298.2000>159.1000	-10	-25	-30
34	艾司西酞普兰 -D6	1217733-09-9	331.3000>109.1000	-13	-30	-19
35	去甲艾司西酞普兰 -D4	-	315.3000>113.1000	-13	-26	-20

36	西酞普兰 -D4	219861-08-2	329.3000>113.1500	-13	-29	-20
37	米安色林 -D3	81957-76-8	268.3000>208.1500	-11	-21	-22
38	度洛西汀 -D7	919514-01-5	305.2000>44.2500	-12	-11	-18
39	氟伏沙明 -D3	1185245-56-0	322.3000>74.2000	-13	-17	-13
40	氯米帕明 -D6	1190043-04-9	321.3000>92.3000	-13	-19	-17
41	去甲氯米帕明 -D3	1189971-04-7	304.2000>75.2500	-17	-17	-21
42	阿米替林 -D3	342611-00-1	281.3000>233.2500	-11	-17	-25
43	去甲替林 -D3	136765-48-5	267.3000>233.2000	-18	-14	-22
44	氟西汀 -D6	200-659-6	316.3000>44.1500	-20	-13	-20
45	去甲氟西汀 -D6	-	302.3000>140.2000	-24	-7	-26
46	曲唑酮 -D6	1181578-71-1	378.3000>182.1500	-15	-25	-19
47	多塞平 -D3	347840-07-7	283.3000>107.1500	-11	-24	-19
48	N- 去甲盐酸多塞平 -D3	1331665-54-3	269.3000>107.1000	-11	-22	-19

1.3 标准品及样品制备

(1) 内标萃取液：分别移取内标储备液于 50 mL 容量瓶中，加入乙腈溶液定容得到内标萃取液（各化合物浓度为 4~40 ng/mL）；

(2) 校准品：分别移取标准品储备液于 2 mL 容量瓶中，加入正常人血清定容得到七个浓度的人血清基质校准品；

(3) 质控品：分别移取标准品储备液于 2 mL 容量瓶中，加入正常人血清定容得到 LQC、MQC 和 HQC 三个浓度水平的人血清基质质控品。

1.4 前处理程序

使用艾迪迈全自动在线前处理进样联用仪按如下程序对待测样品执行前处理和在线 LC-MS/MS 分析。



■ 结果讨论

2.1 典型色谱图

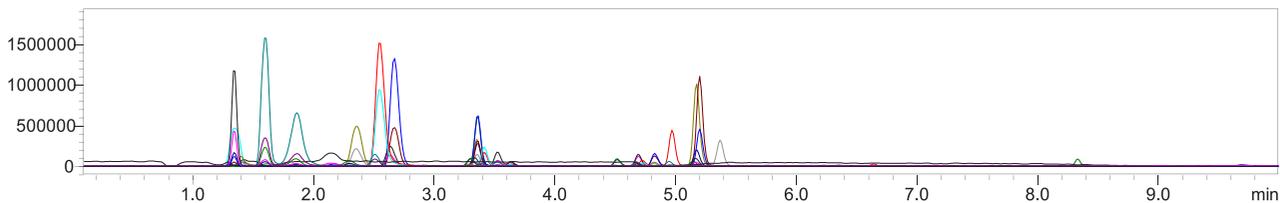
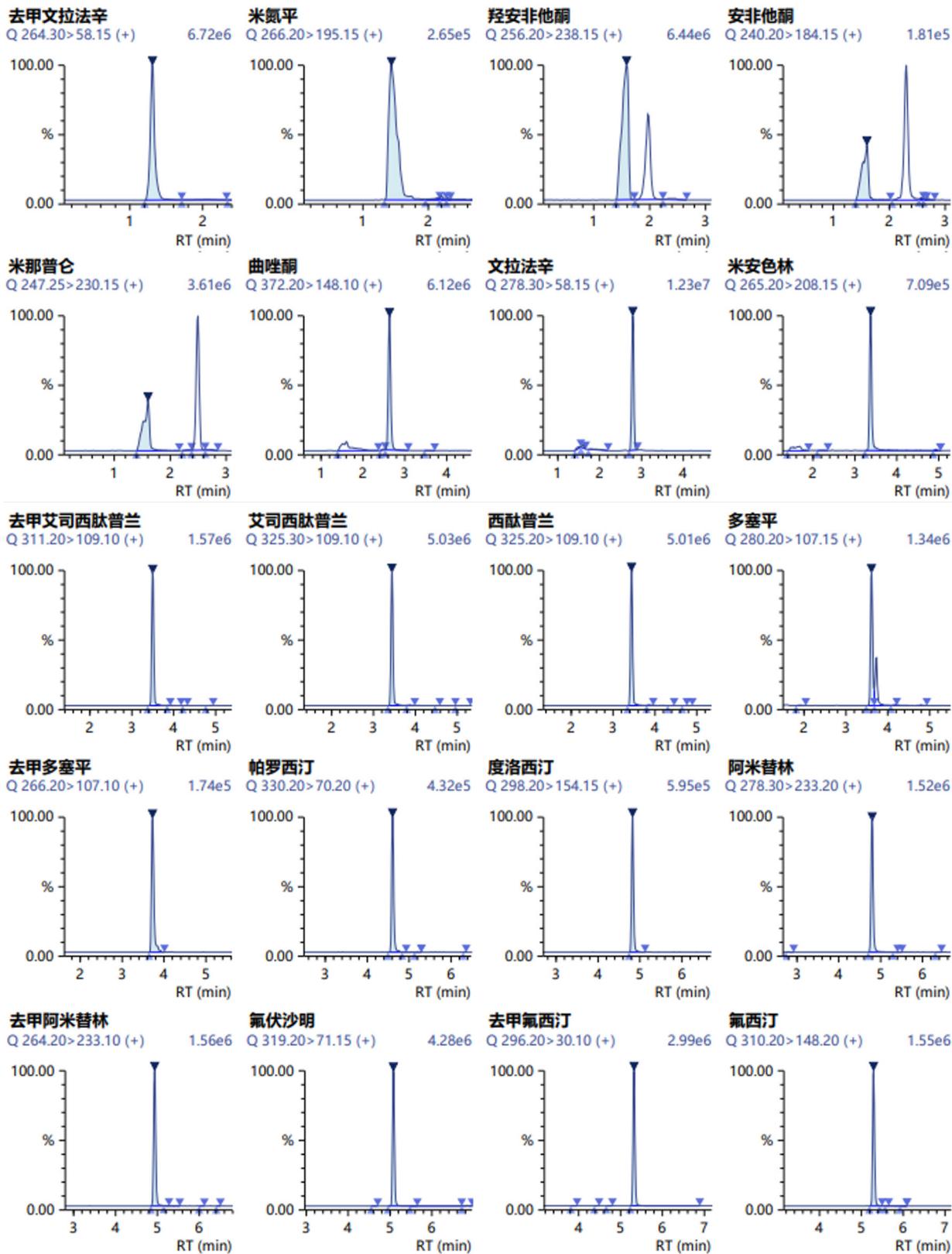


图 2 血浆基质中 24 种精神类药物 MS 色谱图 (HQC 样本)



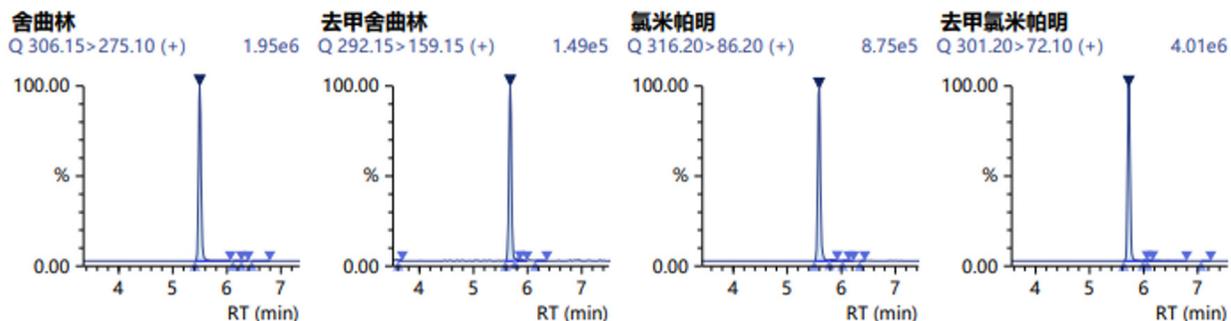


图3 血浆基质中24种精神类药物MRM色谱图(HQC样本)

2.2 线性测定结果

对基质匹配标准品按1.4中的分析条件进行分析,内标法制作标准曲线。标准曲线结果如表3和图4所示,24种精神类药物标准曲线线性相关系数均大于0.995,曲线各浓度点准确度在88.5%~114.1%之间,满足定量分析要求。

表3 血浆基质加标标准曲线参数

#	名称	相关系数	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)
1	文拉法辛	0.9971385	20~1000	96.2~105.9
2	O- 去甲文拉法辛	0.9969258	20~1000	97.4~105.7
3	米氮平	0.9982178	4~200	89.0~108.8
4	帕罗西汀	0.9990100	4~200	87.1~110.9
5	米那普仑	0.9985882	8~400	95.0~106.7
6	安非他酮	0.9991911	50~2500	95.0~109.6
7	羟安非他酮	0.9997791	50~2500	96.9~101.0
8	舍曲林	0.9982611	8~400	92.9~103.2
9	去甲舍曲林	0.9992953	8~400	90.7~114.1
10	艾司西酞普兰	0.9988815	4~200	94.2~109.4
11	去甲艾司西酞普兰	0.9951774	4~200	94.4~104.2
12	西酞普兰	0.9984108	6~300	96.0~106.3
13	米安色林	0.9991667	4~200	92.8~110.9
14	度洛西汀	0.9959487	6~300	91.8~112.9
15	氟伏沙明	0.9973252	14~700	93.7~105.2
16	氯米帕明	0.9951258	12~600	93.4~108.6
17	去甲氯米帕明	0.9973403	12~600	96.6~103.9
18	阿米替林	0.9985213	8~400	93.7~107.8
19	去甲阿米替林	0.9976813	8~400	88.5~106.1
20	氟西汀	0.9980426	30~1500	87.5~110.7
21	去甲氟西汀	0.9983709	30~1500	88.6~110.5
22	曲唑酮	0.9977975	30~1500	97.2~102.7

23	多塞平	0.9966357	8~400	93.9~107.3
24	去甲多塞平	0.9995028	8~400	90.6~108.9

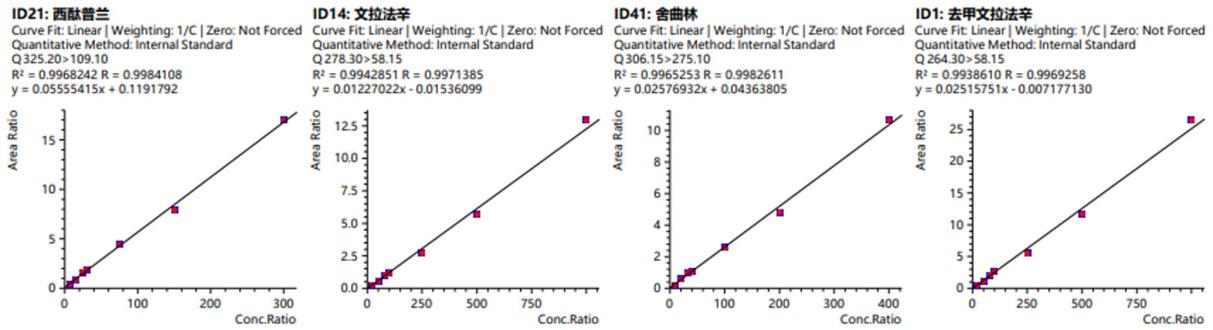


图4 人血浆基质加标校准曲线图（选取了不同出峰时间的4种化合物展示）

2.3 准确度及精密度测定结果

在正常人血浆基质中加入不同浓度水平目标分析物混标，按照1.4样品前处理流程分别平行处理6份后上机，考察准确度和精密度结果。三个浓度水平下的准确度及精密度结果如图5~图7所示。结果表明：24种精神类药物准确度在85%~115%之间，浓度精密度RSD在15%以内，LCMS-8045RX测定24种精神类药物准确度和精密度良好。

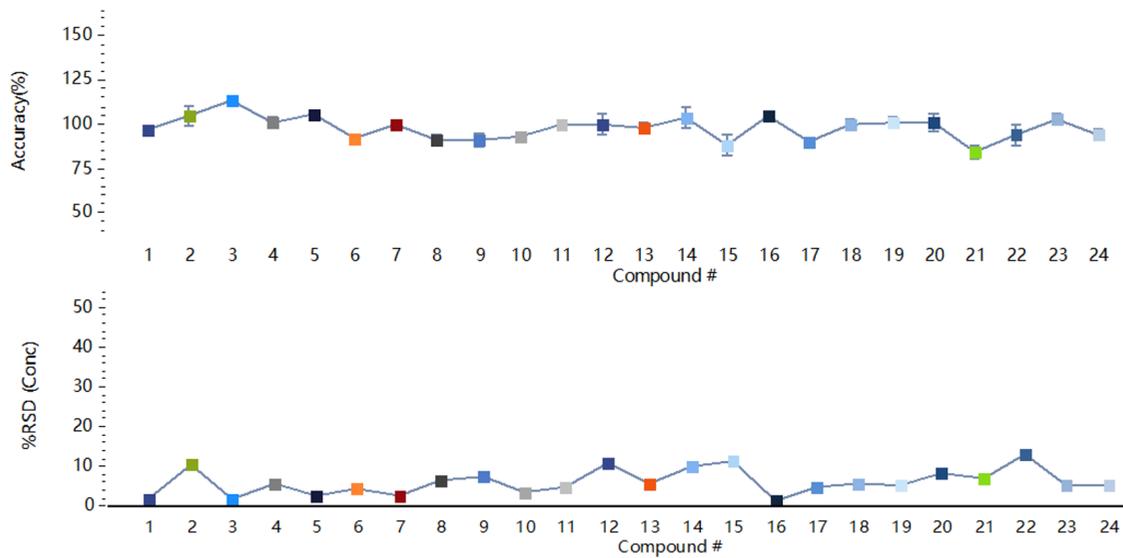
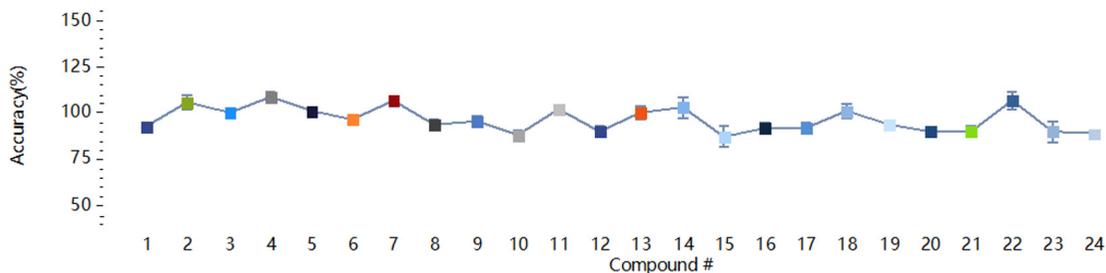


图5 LQC 样本准确度和精密度结果



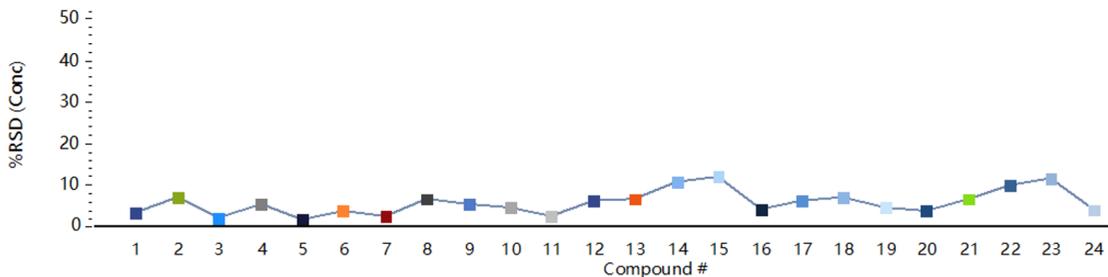


图 6 MQC 样本准确度和精密度结果

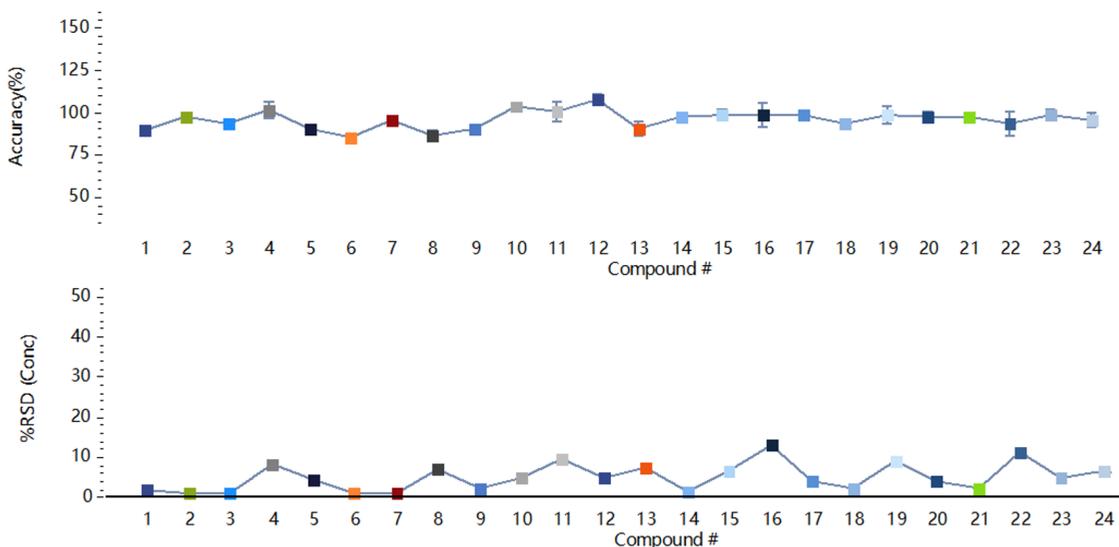


图 7 HQC 样本准确度和精密度结果

■ 结论

建立了艾迪迈全自动在线前处理进样联用仪 + 岛津 LCMS-8045RX 超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪测定人血清中 24 种精神类药物含量的定量分析方法。利用在线蛋白沉淀的前处理方法，以内标法建立标准曲线，分别考察了方法的线性、准确度和精密度性能。结果表明，该方法无需人工前处理、分析速度快、重现性好、准确度高，能满足临床自动化分析需求。

岛津应用云

