

LCMS-8050CL 测定人血清 5-羟色胺 - 去甲肾上腺素再摄取抑制剂

LCMSMS-423

摘要： 本文使用岛津临床用液相色谱三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 及抗抑郁药检测试剂盒（液相色谱 - 串联质谱法），建立了人血清中 4 种 5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂测定的方法。使用试剂盒的内标、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，标准曲线相关系数均大于 0.998，准确度及精密度均满足试剂盒要求。该方法可满足治疗药物监测临床需求，供相关人员参考。

关键词： LCMS-8050 CL 5-羟色胺 - 去甲肾上腺素再摄取抑制剂 抗抑郁药 治疗药物监测

治疗药物监测 (Therapeutic Drug Monitoring, TDM) 是临床药理学的重要研究内容之一，主要通过采用灵敏的现代分析测试手段来定量分析患者血液样本中的药物及其代谢产物的浓度，探讨血药浓度与药物疗效、毒性之间的关系，以确定药物有效浓度及毒性浓度之间的范围，并可根据药物动力学公式来计算最佳的治疗剂量，做到用药个体化，指导临床合理用药。

5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂 (SNRIs) 是广泛应用的新型抗抑郁药，用于治疗各种抑郁症。作用机制为选择性抑制 5-羟色胺再摄取而又抑制去甲肾上腺素再摄取，具有双重作用。当剂量较高时，疗效会增加，但在高剂量时能抑制去甲肾上腺素回收，

因而可能出现高血压、出汗、震颤等不良反应，抗抑郁作用起效快，具有抗焦虑作用。不良反应有恶心、口干、软弱无力、头晕等。因此，对 5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂的治疗药物监测 (TDM) 十分重要。

本文使用岛津临床用液相色谱三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 及抗抑郁药 TDM 检测试剂盒（高效液相色谱 - 串联质谱法），建立了人血清中 4 种 5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂含量测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津临床用超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050 CL。具体配置为 LC-30AD CL×2 (输液泵)，DGL-20A5R CL (在线脱气机)，SIL-30AC MP CL (自动进样器)，CTO-30A CL (柱温箱)，CBM-20A CL 系统控制器，LCMS-8050 CL 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (2.1 mm I.D. × 50 mm L., 2 μm)
流动相 : 流动相 A-0.1% 甲酸水溶液 流动相 B- 甲醇 : 乙腈 =1:1
流速 : 0.5 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 5%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	80
4.50	Pumps	Pump B Conc.	95
4.51	Pumps	Pump B Conc.	5
6.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器	: LCMS-8050 CL	加热模块温度	: 400°C
离子源	: ESI (+)	DL 温度	: 250°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	离子源温度	: 300°C
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测 (MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

名称	英文名称	前体离子	产物离子	Q1Pre Bias (V)	CE(V)	Q3Pre Bias (V)
米那普仑	Milnacipran	247.1*	230.1	-11	-11	-15
		247.1	100.1	-10	-19	-10
d10- 米那普仑	d10-Milnacipran	257.2	110.1	-10	-19	-10
文拉法辛	Venlafaxine	278.1*	58.1	-12	-22	-22
		278.1	260.1	-12	-12	-26
d6- 文拉法辛	d6-Venlafaxine	284.2	58.0	-12	-22	-22
去甲文拉法辛	o-Desmethylvenlafaxine	264.1*	58.1	-12	-20	-22
		264.1	246.2	-11	-12	-16
d6- 文拉法辛	d6-Venlafaxine	284.2	58.0	-12	-22	-22
度洛西汀	Duloxetine	298.3*	44.0	-11	-15	-16
		298.3	154.1	-11	-7	-10
d7- 度洛西汀	d7-Duloxetine	305.3	154.1	-11	-7	-10

注: * 为定量离子对

1.3 标准品、质控品及样品制备

取标准品 (3 个浓度)、质控品 (2 个浓度) 或血清样本 50 μL , 加入含内标的乙腈溶液 100 μL , 涡旋混匀 10 s, 13000 rpm 离心 5 min, 取上清液分析, 进样体积 1 μL 。

■ 结果讨论

2.1 MRM 色谱图

戈舍瑞林在一级质谱扫描下主要生成 $[M+2H]^{2+}$ 准分子离子峰 m/z 635.60, 对准分子离子峰进行产物离子扫描, 生成主要碎片离子为 m/z 607.55、 m/z 249.00; 阿拉瑞林在一级质谱扫描下主要生成 $[M+2H]^{2+}$ 准分子离子峰 m/z 584.60, 对准分子离子峰进行产物离子扫描, 生成主要碎片离子为 m/z 249.10, 其一级质谱图与产物离子扫描图分别见图 1-4。

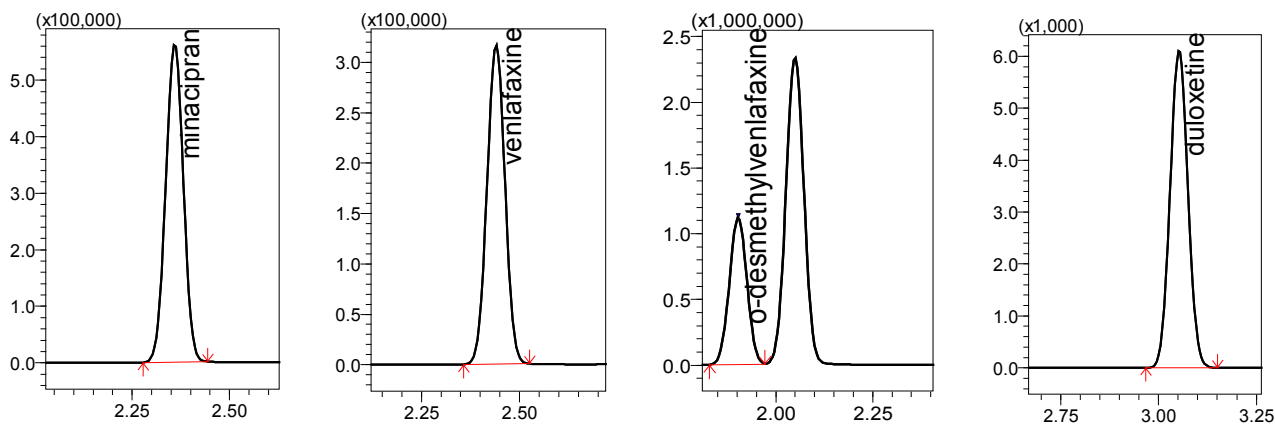


图 1. 标准曲线最低浓度点色谱图

2.2 线性关系

采用内标法建立标准曲线结果如表 3 所示。结果显示, 4 种 5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂在线性浓度范围内线性相关性良好, 相关系数均在 0.998 以上。

表 3. 标准曲线结果

目标物	线性方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数	准确度 (%)
Milnacipran	$Y = (0.0211388)X + (0.0712819)$	29.2~435	0.9996	97.8~102.6
Venlafaxine	$Y = (0.00782266)X + (0.0175830)$	22.9~369	0.9999	99.9~100.1
o-Desmethylvenlafaxine	$Y = (0.00573249)X + (0.0858624)$	37.4~554	0.9982	95.3~105.5
Duloxetine	$Y = (0.00760933)X + (0.0177691)$	18.5~284	0.9984	95.5~105.2

2.3 质控样本准确度考察

按 1.3 的前处理方法和 1.2 中的分析条件对试剂盒中的高低质控品进行分析, 质控品的准确度结果如表 4 所示, 结果显示质控品测定结果与理论值接近, 完全符合试剂盒质控品准确度 80%~120% 的要求。低浓度质控测定结果准确度在 95.2%~107.9% 之间, 高浓度质控品测定结果准确度在 94.5%~107.0% 之间。

表 4. 质控准确度考察结果

目标物	LQC 理论值 (ng/mL)	LQC 回收率 (%)	HQC 理论值 (μ g/L)	HQC 回收率 (%)
Milnacipran	77.4	96.6	180	96.8
Venlafaxine	60.9	95.4	145	94.5
o-Desmethylvenlafaxine	104	107.9	239	107.0
Duloxetine	50.3	95.2	115	99.7

2.4 精密度考察

按 1.3 的前处理方法和 1.2 中的分析条件对试剂盒中的标准曲线低浓度点连续分析 6 次，以考察仪器精密度，精密度结果见表 5，连续 6 次分析，精密度 RSD 在 2.7%~3.7% 之间，结果表明仪器稳定性良好。

表 5. 精密度实验数据

目标物	峰面积 RSD/%
Milnacipran	2.9
Venlafaxine	3.7
o-Desmethylvenlafaxine	3.4
Duloxetine	2.7

■ 结论

本文使用岛津临床用液相色谱三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 及抗抑郁药检测试剂盒（液相色谱 - 串联质谱法），建立了人血清中 4 种 5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制剂测定的方法。使用试剂盒的内标、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，标准曲线相关系数均大于 0.998，准确度及精密度均满足试剂盒要求。该方法满足治疗药物监测临床需求，供相关人员参考。

岛津应用云

