

LCMS-8050CL 检测血浆中 25 种精神安定剂药物

LCMSMS-410

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A CL 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用检测血浆中 25 种精神安定剂药物的方法。血浆样品使用试剂进行蛋白沉淀后即可移取上清液，进样分析。采用 ESI 离子源模式，MRM 模式采集数据，内标法定量，用超高效液相色谱 LC-30A CL 在 11.0 min 内完成分析，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 进行定量分析。结果显示，25 种精神安定剂类药物线性良好；低、高两个浓度水平的质控品均在试剂盒允许范围内，保留时间和含量相对标准偏差分别在 0.07 ~ 0.16% 和 1.91 ~ 7.00% 之间，精密度实验结果良好。该方法可为临床同时快速、准确定量多种精神安定剂药物提供参考。

关键词： LCMS-8050CL 精神安定剂药物 三重四极杆质谱 血浆样品

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。

同时精神安定类药物代谢动力学特点及严重的不良

反应要求应用这些药物时应采取个体化给药方案，随着监测方法的快速发展，在对患者的治疗过程中进行必要的血药浓度监测具有重要意义。本文利用岛津 LCMS-8050CL 三重四极杆串联质谱仪实现了血浆样品中 25 种精神安定类药物的快速定量分析。方法具有分析速度快、灵敏度高，准确性好等特点，可为临床精神安定类药物的浓度监测提供参考。

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仪 LC-30A CL 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用系统。具体配置为 LC-30AD CL×2 (输液泵)，DGU-20A5R CL (在线脱气机)，SIL-30AC (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. 5.97 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件：

流动相：A 相 -5 mM 乙酸铵 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇

流速：0.3 mL/min

色谱柱：BEH C18 2.1 mm I.D. ×100 mm L., 1.7 μm

柱温：40°C

进样体积：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，见表 1

表 1 梯度洗脱条件

时间	单元	处理命令	值
0.00	泵	B.Conc	15
6.00	泵	B.Conc	85
6.10	泵	B.Conc	90

8.00	泵	B.Conc	90
8.10	泵	B.Conc	15
11.00	控制器	Stop	

质谱条件：
 离子源：ESI
 接口电压：3.0 KV
 雾化气：3.0 L/min
 干燥气流量：10.0 L/min

接口温度：300°C
 DL 管温度：250°C
 加热块温度：400°C
 扫描模式：MRM 模式，见表 2

表 2 MRM 参数

化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
Sulpiride	84-80-0	342.15	112.15*	-10	-28	-22
		342.15	58.10	-10	-30	-22
Olanzapine	132539-06-1	313.15	256.20*	-15	-24	-30
		313.15	84.30	-15	-25	-17
9-Hydroxyrisperidone	144598-75-4	427.25	207.05*	-22	-28	-22
		427.25	110.00	-22	-44	-20
Risperidone	106266-06-2	411.20	191.05*	-12	-31	-23
		411.20	69.05	-12	-50	-27
Clozapine	5786-21-0	327.15	270.05*	-17	-23	-29
		327.15	192.00	-17	-44	-20
Quetiapine	111974-69-7	384.15	253.10*	-11	-24	-19
		384.15	221.20	-11	-40	-25
Promethazine	60-87-7	285.15	86.20*	-14	-16	-17
		285.15	71.15	-14	-45	-14
Aripiprazole	129722-12-9	448.15	285.00*	-22	-26	-21
		448.15	98.10	-13	-40	-20
Levomepromazine	60-99-1	329.15	100.20*	-16	-23	-21
		329.15	58.15	-16	-40	-23
Chlorpromazine	50-53-3	319.10	86.10*	-16	-22	-18
		319.10	58.10	-16	-35	-23
Zotepine	26615-21-4	332.10	72.15*	-16	-17	-15
		332.10	44.05	-16	-50	-19
Amisulpride	71675-85-9	370.10	242.05*	-30	-27	-25
		370.10	196.00	-30	-41	-19
Ziprasidone	146939-27-7	413.10	194.05*	-17	-29	-19
		413.10	159.05	-17	-43	-30
Chlorprothixene	113-59-7	316.10	271.10*	-16	-25	-18
		316.10	231.00	-15	-30	-17

Dehydroaripiparzole	129722-25-4	446.10	285.10*	-15	-24	-14
		446.10	98.10	-19	-40	-16
Desmethylolanzapine	161696-76-0	299.10	256.10*	-16	-35	-18
		299.10	198.00	-15	-35	-19
Melperone	3575-80-2	264.20	165.10*	-16	-20	-17
		264.20	123.00	-12	-30	-23
Norclozapine	6104-71-8	313.10	192.00*	-11	-43	-19
		313.10	270.00	-12	-25	-29
Norquetiapine	5747-48-8	296.10	210.10*	-11	-30	-22
		296.10	139.10	-11	-55	-24
Perazine	84-97-9	340.20	141.20*	-12	-20	-23
		340.20	70.20	-12	-40	-29
Pipamperone	1893-33-0	376.20	98.10*	-13	-30	-16
		376.20	291.20	-14	-18	-20
Prothipendyl	303-69-5	286.10	241.10*	-10	-18	-25
		286.10	213.10	-14	-31	-22
Sertindole	106516-24-9	441.20	113.10*	-10	-30	-11
		441.20	70.20	-10	-54	-28
Thioridazine	50-52-2	371.20	126.20*	-13	-24	-21
		371.20	98.20	-13	-31	-16
Zuclopenthixol	53772-83-1	401.10	231.00*	-20	-37	-24
		401.10	100.10	-16	-26	-17
D3-Sulpiride	-	345.10	112.10	-15	-35	-15
D3-Olanzapine	-	316.20	256.10	-15	-35	-15
D4-9-Hydroxyrisperidone	-	431.20	211.10	-15	-35	-15
D4-Risperidone	-	415.20	195.10	-15	-35	-15
D4-Clozapine	-	331.10	192.00	-15	-35	-15
D8-Quetiapine	-	392.20	226.10	-15	-35	-15
D6-Promethazine	-	291.10	92.20	-15	-35	-15
D8-Aripiprazole	-	456.20	293.10	-15	-35	-15
D3-Levomepromazine	-	332.20	103.20	-15	-35	-15
D6-Chlorpromazine	-	325.10	92.20	-15	-35	-15
D5-Amisulpride	-	375.20	242.10	-15	-35	-15
D8-Ziprasidone	-	421.10	166.10	-15	-35	-15
D6-Chlorprothixene	-	322.10	271.10	-12	-22	-18
D8-Dehydroaripiparzole	-	454.10	293.10	-15	-35	-15
D4-Melperone	-	268.20	165.10	-15	-35	-15
D8-Norclozapine	-	321.10	192.00	-15	-35	-15

D8-Perazine	-	348.20	149.20	-15	-35	-15
D10-Pipamperone	-	386.20	98.10	-15	-35	-15
D6-Prothipendyl	-	292.10	241.10	-11	-17	-26
D4-Sertindole	-	445.20	117.10	-15	-35	-15
D3-Thioridazine	-	374.20	129.20	-15	-35	-15
D4-Zuclopenthixol	-	405.10	231.00	-15	-35	-15

* 定量离子对

1.3 样品前处理方法

参考德国 RECIPE 《血清 / 血浆中精神安定剂药物试剂盒使用指南》，进行样品制备。

该试剂盒包含以下部分：

基质标准品：3 个水平的人血浆基质加标冻干粉

质控品：2 个水平的人血浆基质加标冻干粉

内标：含 D3-Sulpiride、D3-Olanzapine 等 22 种同位素标记的内标的冻干粉

优化用混标：冻干粉

蛋白沉淀剂：乙腈 - 甲醇 =9:1 配制 50 mL

基质标准品 (Level 0~3) 和质控品 (Level I、Level II)：1.0 mL 纯水溶解，涡旋混匀 15 min。

内标工作液：准确加入 5.0 mL 蛋白沉淀剂，混匀，超声 15 min。

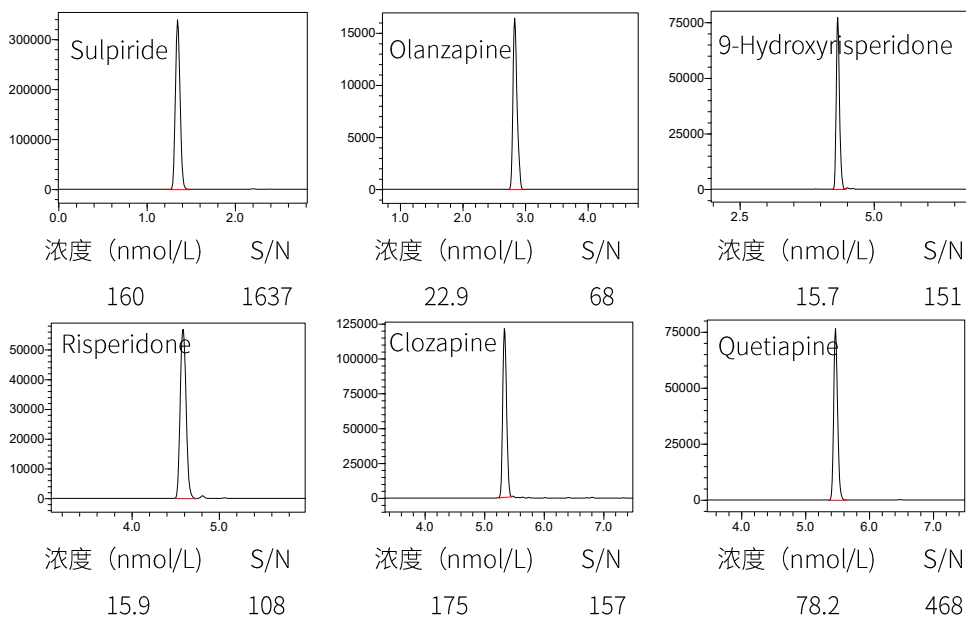
优化用混标：加入 2.0 mL 流动相 B，混匀。

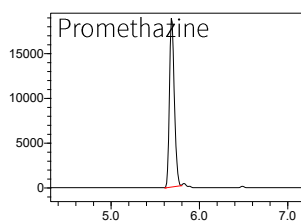
基质标准品、质控品和样品前处理方法：

(1)、吸取对照品、质控品或血清样品 50 μ L 至离心管；(2)、吸取内标工作液沉淀剂 100 μ L 至离心管进行沉淀蛋白；(3)、震荡 90 秒；(4)、10000 rpm 离心 3 min；(5)、取上清液转移至进样小瓶，进样 1 μ L。

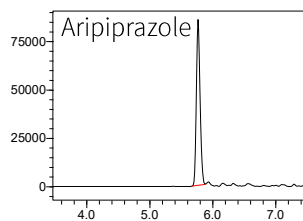
分析结果

2.1 基质标准品色谱图

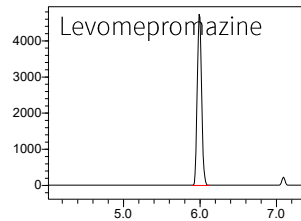




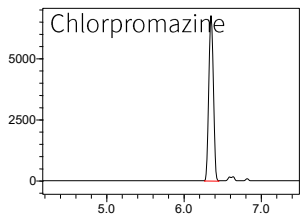
浓度 (nmol/L) S/N
 73.1 82



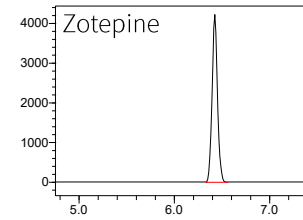
浓度 (nmol/L) S/N
 122 21



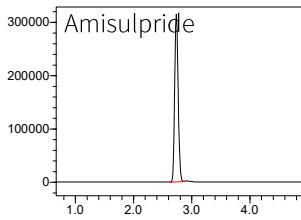
浓度 (nmol/L) S/N
 26 82



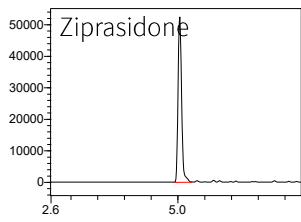
浓度 (nmol/L) S/N
 57.9 57



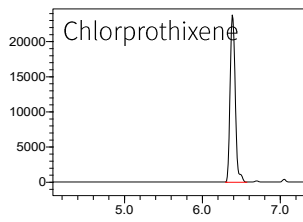
浓度 (nmol/L) S/N
 27.8 38



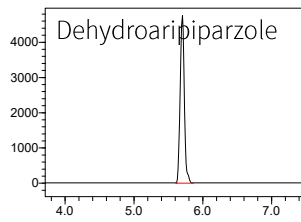
浓度 (nmol/L) S/N
 100 357



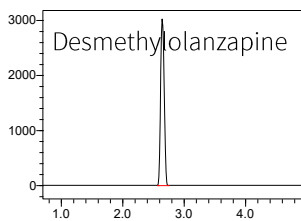
浓度 (nmol/L) S/N
 40.7 54



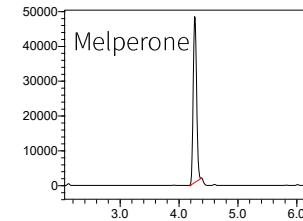
浓度 (nmol/L) S/N
 56.1 61



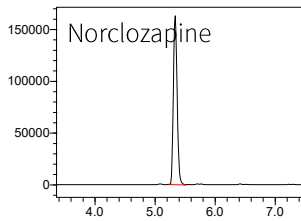
浓度 (nmol/L) S/N
 23.5 88



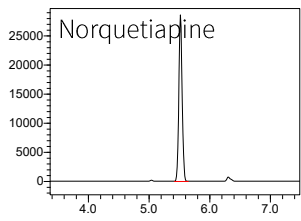
浓度 (nmol/L) S/N
 22.6 16



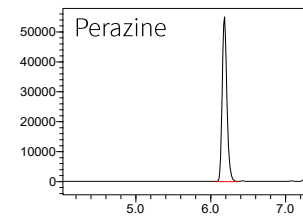
浓度 (nmol/L) S/N
 41.7 42



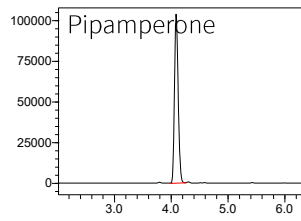
浓度 (nmol/L) S/N
 145 195



浓度 (nmol/L) S/N
 29.5 246



浓度 (nmol/L) S/N
 70.3 475



浓度 (nmol/L) S/N
 82.2 147

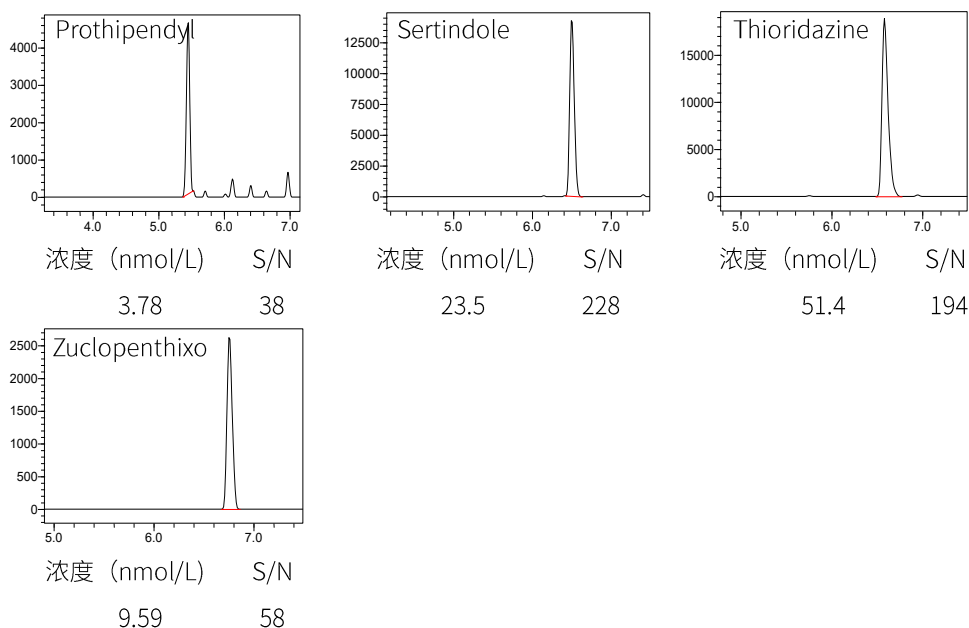


图 1 25 种精神安定剂药定量下限色谱图

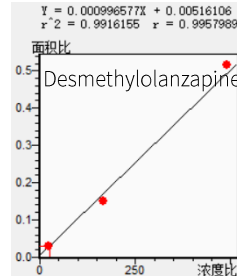
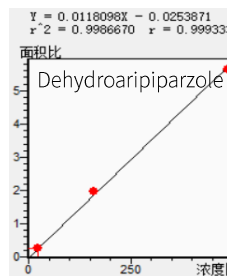
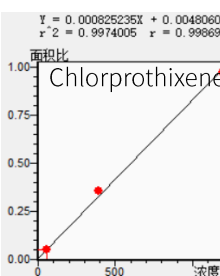
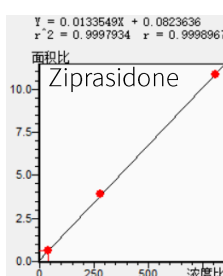
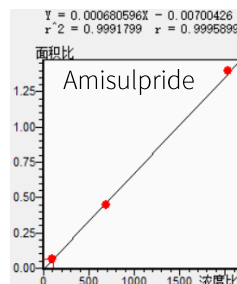
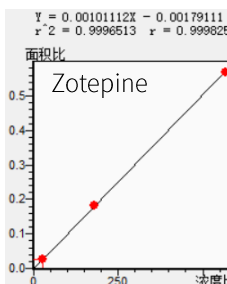
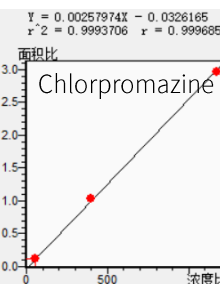
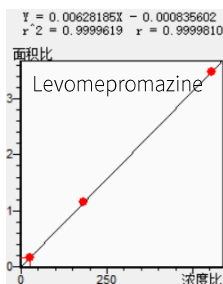
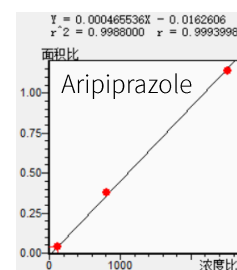
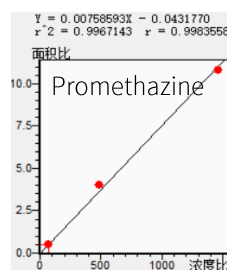
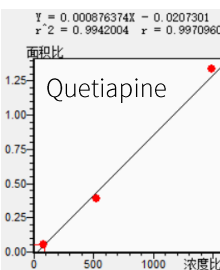
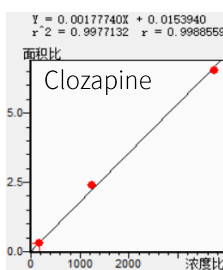
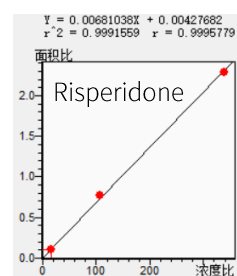
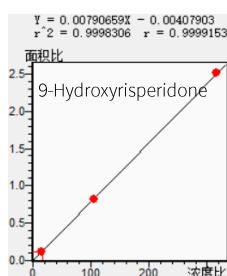
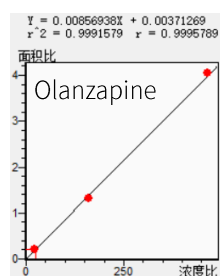
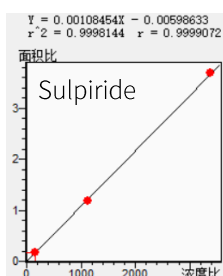
2.2 线性范围

RECIPE 试剂盒中各级别基质标品浓度和线性回归各浓度的准确度如表 3 所示，利用内标法制作校准曲线，线性良好，线性方程、相关系数见图 2。

表 3. 25 种精神安定剂药基质标曲浓度范围和标线准确度

Compounds	基质标曲浓度 (nmol/L)			准确度 (%)
	Calibrator1	Calibrator2	Calibrator3	
Sulpiride	162.30	1,095.21	3,402.13	98.0 ~ 101.4
Olanzapine	23.62	154.31	471.37	95.8 ~ 103.1
9-Hydroxyrisperidone	15.91	103.96	317.88	98.1 ~ 101.4
Risperidone	15.39	111.99	334.81	96.8 ~ 104.7
Clozapine	166.33	1,339.34	3,664.15	95.0 ~ 107.7
Quetiapine	83.13	468.25	1,546.94	89.7 ~ 106.3
Promethazine	69.29	533.05	1,427.76	94.8 ~ 109.2
Aripiprazole	118.70	852.02	2,478.49	97.3 ~ 105.6
Levomepromazine	25.83	184.73	553.46	99.3 ~ 100.9
Chlorpromazine	56.71	411.40	1,160.57	98.0 ~ 103.9
Zotepine	27.27	183.27	563.47	98.1 ~ 103.0
Amisulpride	102.83	661.37	2,059.52	95.9 ~ 102.8
Ziprasidone	40.05	287.03	804.79	98.4 ~ 102.1
Chlorprothixene	53.00	426.40	1,169.88	94.5 ~ 108.2
Dehydroaripiprazole	22.69	168.25	479.23	96.6 ~ 105.8
Desmethylolanzapine	25.54	144.44	511.64	87.5 ~ 113.0

Melperone	41.52	276.65	834.55	99.6 ~ 100.6
Norclozapine	139.33	1,090.42	3,025.18	96.1 ~ 105.6
Norquetiapine	32.85	180.48	647.69	87.2 ~ 111.3
Perazine	67.39	501.85	1,411.37	95.9 ~ 106.3
Pipamperone	85.38	552.27	1,720.59	95.1 ~ 103.9
Prothipendyl	3.56	26.86	74.98	94.1 ~ 110.5
Sertindole	23.13	164.27	500.18	98.4 ~ 102.0
Thioridazine	50.11	392.38	1,145.25	97.5 ~ 102.7
Zuclopenthixol	8.96	73.17	198.30	93.4 ~ 111.0



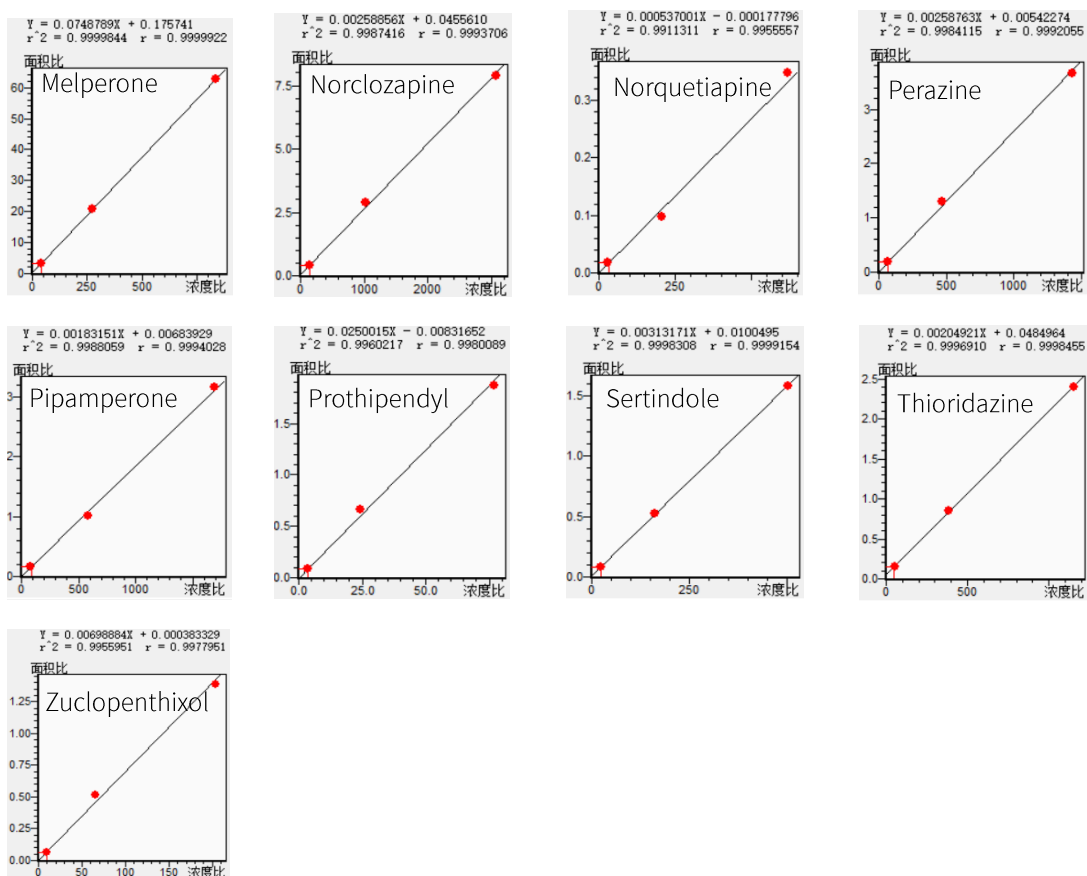


图 2 25 种精神安定剂药基质标曲相关信息

2.3 质控样品检测结果

试剂盒 RECIPE 提供 2 个不同浓度质控样品 QC1 和 QC2，标示浓度和允许波动范围如表 4 所示，实际检测浓度在允许波动范围内（表 4）。

表 4 质控样品检测结果

化合物	允许波动范围 (nmol/L)		实测浓度 (nmol/L)	
	QC1	QC2	QC1	QC2
Sulpiride	502-753	1199-1768	607.53	1426.46
Olanzapine	71.7-108	170-255	84.99	224.77
9-Hydroxyrisperidone	47.5-71.2	113-169	57.48	136.54
Risperidone	49.7-74.5	113-170	59.08	141.10
Clozapine	549-824	1284-1925	744.11	1724.65
Quetiapine	244-365	562-842	291.65	630.83
Promethazine	213-320	505-758	294.11	654.21
Aripiprazole	386-579	881-1321	486.67	1122.70
Levomepromazine	80.6-121	195-293	110.68	228.33
Chlorpromazine	174-261	418-627	236.33	547.49

Zotepine	82.2-123	188-482	108.12	260.88
Amisulpride	298-448	699-1049	360.08	827.08
Ziprasidone	126-189	304-456	149.28	405.18
Chlorprothixene	167-251	396-594	207.15	563.20
Dehydroaripiparzole	67.1-101	156-233	93.66	209.29
Desmethylolanzapine	75.9-114	179-269	102.51	238.13
Melperone	116-175	276-414	139.00	313.77
Norclozapine	480-720	1137-1706	671.62	1404.44
Norquetiapine	94.5-142	222-333	116.73	262.04
Perazine	218-327	510-765	258.28	709.48
Pipamperone	255-383	602-904	315.17	720.93
Prothipendyl	11.2-16.8	26.4-39.6	14.68	33.59
Sertindole	74.1-111	174-262	96.06	213.02
Thioridazine	160-240	390-585	210.68	489.66
Zuclopenthixol	29.1-43.6	66.6-99.9	33.98	88.48

2.4 精密度结果

表 5 质控精密度结果表

化合物	保留时间 RSD% (n=6)		浓度 RSD% (n=6)	
	QC1	QC2	QC1	QC2
Sulpiride	0.07	0.03	3.09	3.28
Olanzapine	0.05	0.05	3.58	3.24
9-Hydroxyrisperidone	0.03	0.02	3.00	2.91
Risperidone	0.02	0.03	3.68	2.55
Clozapine	0.02	0.02	4.26	3.25
Quetiapine	0.02	0.05	3.80	2.49
Promethazine	0.03	0.03	4.10	5.87
Aripiprazole	0.05	0.02	3.79	4.94
Levomepromazine	0.04	0.01	4.73	4.96
Chlorpromazine	0.02	0.02	5.47	1.30
Zotepine	0.03	0.02	5.16	7.00
Amisulpride	0.06	0.06	0.77	1.32
Ziprasidone	0.04	0.03	4.02	2.47
Chlorprothixene	0.04	0.03	4.48	3.59
Dehydroaripiparzole	0.03	0.04	4.13	1.90
Desmethylolanzapine	0.16	0.08	6.23	6.28
Melperone	0.03	0.02	2.35	6.36
Norclozapine	0.04	0.03	4.47	2.59

Norquetiapine	0.05	0.03	5.62	6.99
Perazine	0.03	0.02	6.08	1.91
Pipamperone	0.03	0.03	3.88	2.62
Prothipendyl	0.06	0.03	6.84	3.86
Sertindole	0.01	0.02	3.63	2.99
Thioridazine	0.02	0.02	3.66	3.15
Zuclopenthixol	0.05	0.03	6.47	6.78

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A CL 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用在 11 分钟内完成血浆中 25 种精神安定剂类药物的检测方法。此方法所有待测化合物的线性关系良好，线性相关系数均大于 0.99；低，高两个浓度水平的质控测定值均在试剂盒规定范围内，满足要求，保留时间和含量相对标准偏差分别在 0.07 ~ 0.16% 和 1.91 ~ 7.00% 之间，仪器和方法的准确性和精密度良好。该方法可为临床同时、快速、准确检测多种血浆中精神安定剂类药物提供参考。