

Application News

No. C143

LC/MS

LC/MS/MS 用于人体血浆中酪氨酸激酶抑制剂的同时分析

近年来，在癌症的治疗中采用了一种名为分子靶向的药物，它是以参与肿瘤细胞增殖、侵袭、转移的分子为靶标，以抑制肿瘤细胞增殖为目的而开发的药剂。

在肺癌的治疗中采用了以表皮生长因子受体 (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) 和间变性淋巴瘤激酶 (Anaplastic Lymphoma Kinase: ALK) 等作为靶标的酪氨酸

激酶抑制剂 (Tyrosine Kinase Inhibitors: TKIs)，并且第2代、第3代的分子靶向药物的开发正在持续进行。

本文将以研究酪氨酸激酶抑制剂的药代动力学为目的。使用三重四极杆液相色谱质谱联用仪 LCMS-8050 进行的人体血浆中的 EGFR-TKIs、ALK-TKIs 和代谢产物的同时分析。

T. Tsukamoto

EGFR-TKIs 4 剂和 ALK-TKIs 3 剂的同时分析

向对照人血浆中添加如表 1 所示的 EGFR-TKIs 和 ALK-TKIs 标准品，按图 1 的步骤对上述样本进行除蛋白，取上清待分析。

在通过 LC/MS/MS 进行 MRM 测量中，能根据目标药物分子的质量和结构选择性的检测出目标药物 (图 2 和图 3)。

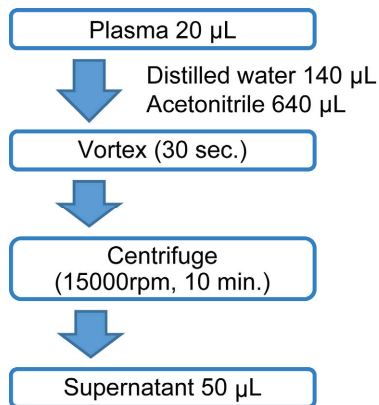


图 1 血浆样品的前处理流程

表 1 EGFR-TKIs、ALK-TKIs 以及代谢产物

	Compound	Molecular formula	Monoisotopic mass [u]	MRM transition m/z
EGFR-TKIs	Afatinib	C ₂₄ H ₂₆ ClFN ₃ O ₃	485.163	486.2 > 371.1
	Erlotinib	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₄	393.169	394.2 > 278.1
	OSI-420 ^{*1}	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	379.153	380.2 > 278.1
	Gefitinib	C ₂₂ H ₂₄ ClFN ₃ O ₃	446.152	447.2 > 128.1
	Osimertinib	C ₂₈ H ₃₃ N ₇ O ₂	499.270	500.3 > 72.1
ALK-TKIs	AZ5104 ^{*2}	C ₂₇ H ₃₁ N ₇ O ₂	485.254	486.3 > 72.2
	Alectinib	C ₃₀ H ₃₄ N ₄ O ₂	482.268	483.3 > 396.3
	Crizotinib	C ₂₁ H ₂₂ Cl ₂ N ₃ O	449.119	450.1 > 260.2
	Ceritinib	C ₂₈ H ₃₆ ClN ₃ O ₃ S	557.223	558.2 > 433.1

*1 Erlotinib metabolite, *2 Osimertinib metabolite

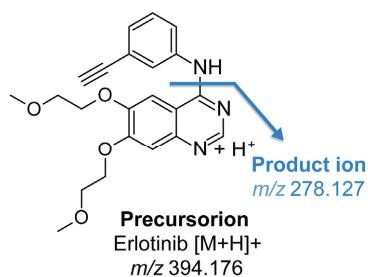


图 2 厄洛替尼的前体离子和产物离子

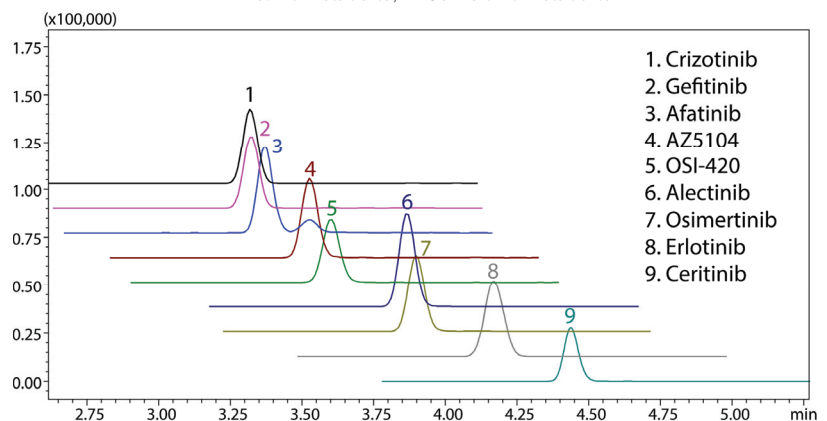


图 3 添加了标准品的人体血浆样本的质谱图

根据空白血浆加标绘制校正曲线，并对其准确度和精密度的有效性进行了评估。结果所有的 TKIs 在设定浓度范围内均

可获得良好的线性，并且准确度均处于 $100 \pm 15\%$ 的范围内。此外，精密度也同样处于 15% 的范围内，重现性良好（表 2）。

表 2 EGFR-TKIs、ALK-TKIs 以及代谢产物同时分析的有效性评估结果

Compounds	Range (ng/mL)	Accuracy (%)				Precision (%RSD, n=5)			
		LLOQ*1	Low*2	Medium*3	High*4	LLOQ*1	Low*2	Medium*3	High*4
Afatinib	5-2000	98.5	103.2	106.3	95.7	12.4	13.9	7.6	7.4
Erlotinib	5-2000	95.1	103.2	102.7	92.3	4.7	5.4	0.8	2.0
OSI-420	5-2000	95.1	104.3	103.4	91.9	9.0	2.7	2.7	3.2
Gefitinib	5-2000	93.0	110.2	103.9	93.5	12.1	6.4	3.4	1.3
Osimertinib	5-2000	94.5	107.0	103.5	93.1	4.6	3.7	2.4	1.9
AZ5104	5-2000	94.7	106.5	102.7	92.5	9.8	6.0	2.7	3.1
Alectinib	5-2000	96.9	101.4	104.0	93.1	13.4	6.3	1.8	1.9
Crizotinib	5-2000	95.4	106.1	106.6	95.3	10.9	11.1	4.1	2.5
Ceritinib	10-2000	94.4	105.2	103.6	91.6	8.0	6.7	1.7	2.8

■ 血浆样本的分析

血浆样本的分析例如图 4 和图 5 所示。样本 A 除厄洛替尼外，还检测出了其代谢产物的 OSI-420，样本 B 仅检测出了艾乐替尼。所有的样本均与对照品血浆前处理相同，使用校正曲线计算后均未发现因血浆中的夹杂物而导致的明显干扰。

本分析方法使用了 LC/MS/MS 作为血浆样本中的 TKIs 分析方法，应用前景值得期待。

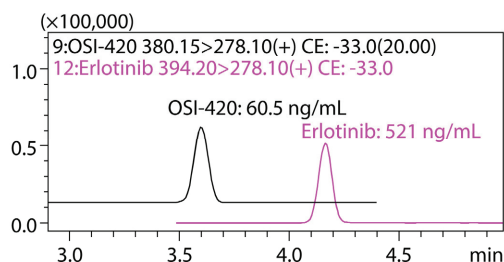


图 4 血浆样本 A 的分析结果

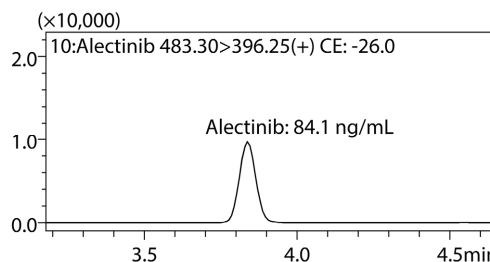


图 5 血浆样本 B 的分析结果

表 3 分析条件

Column	: Shimadzu GLC Mastro C18 (100 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 μm)		
Mobile Phase	: A 10 mmol/L Ammonium formate buffer – water, B Acetonitrile		
Flow Rate	: 0.3 mL/min		
Time program	: B Conc. 10 % (0 min) – 100 % (5 – 7 min) – 10 % (7.01 – 10 min)		
Column Temp.	: 50°C	Injection Volume	: 3 μL
Probe Voltage	: 1.0 kV (ESI-positive mode)		
Interface Temp.	: 300°C	DL Temp.	: 250°C
Block Heater Temp.	: 400°C	Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min	Drying Gas Flow	: 10 L/min

< 致谢 >

本资料的研究过程得到了国立研究开发法人 国立癌症研究中心医院 药剂部 牧原玲子老师的巨大支持，特此鸣谢

- 参考文献
- Guidance for Industry : Bioanalytical Method Validation (2001, US FDA)
 - 医药品开发过程中生物样品中药物浓度分析法的验证相关指南（2013 年，厚生劳动省）
- 注）
- 本文件中记载的产品尚未作为医疗器械得到医药品医疗器械法的批准和认证。
 - 无法以治疗诊断为目的，无法通过正常程序使用。
 - 本文件中记载的样本均经过癌症研究中心医院的采集和测量。测量数据均基于正规手续得到可刊载的许诺。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

- * 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
 - * 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
- 如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2017 年 1 月