

LCMS-8050 测定血浆中 4 种抗精神病药含量

LCMSMS-234

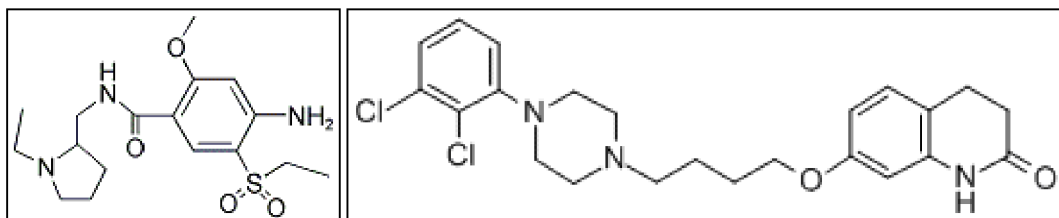
摘要: 本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定血浆中氨磺必利、阿立哌唑、帕利哌酮和齐拉西酮 4 种抗精神病药含量的方法。以内标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数均不低于 0.9952。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.08 ~ 0.63% 和 0.65 ~ 6.76% 之间, 仪器检出限和定量限分别为 0.003~0.008 ng/mL 和 0.011~0.025 ng/mL。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势, 可用于血浆样品中 4 种抗精神病药含量的检测。

关键词: 三重四极杆质谱 抗精神病药 血浆

根据德国药物浓度监控组织 AGNP 最新的专家共识指南 (AGNP Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry: Update 2011. Pharmacopsychiatry 2011, 44, 195-235.), 出于用药安全性和合理性考虑, 阿立哌唑 (Aripiprazole)、氨磺必利 (Amisulpride)、帕利哌酮 (Paliperidone)、齐拉西酮 (Ziprasidone) 等药物浓度监控的临床需求等级较高 (Level: recommended or strongly recommended)。对该类药物的血浆浓度进行定期监测将有助于临床医生确定给药方案及评估治疗效果, 从而最

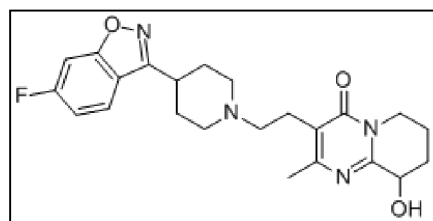
大程度上消除由于个体差异造成的副作用影响, 使给药方案个体化, 有效提高药物治疗水平, 达到临床安全、有效、合理的用药。

高效液相色谱 - 串联质谱法检测此类药物浓度具有灵敏度高、重复性好、通量高等特点, 能够给临床提供快速、准确的分析结果。本文利用岛津 LCMS-8050 建立了血浆样本中 4 种抗精神病药含量的快速、高灵敏度的检测方法。

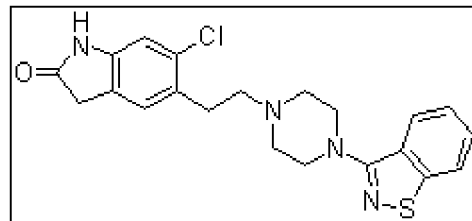


氨磺必利 (Amisulpride)

阿立哌唑 (Aripiprazole)



帕利哌酮 (Paliperidone)



齐拉西酮 (Ziprasidone)

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为 LC-20AD×2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-20AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8050 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.72 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

流速: 0.45 mL/min

色谱柱: Inertsil Sustain C18 Column(2.1 mm I.D.×150 mm L., 5 μm)

柱温: 40°C

 流动相: A相 -0.1% 甲酸水溶液,
 B相 - 乙腈

进样量: 5 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B相初始浓度为 25%, 洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	25
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.60	Pumps	Pump B Conc.	25
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

DL 温度: 250°C

离子化模式: ESI(+)

加热模块温度: 400°C

加热气: 空气 10.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

雾化气: 氮气 2.0 L/min

驻留时间: 40 ms

干燥气: 氮气 10.0 L/min

延迟时间: 3 ms

碰撞气: 氩气

MRM 参数: 见表 2

接口温度: 300°C

表2 MRM优化参数

化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
氨磺必利	Amisulpride	71675-85-9	370.10	242.05*	-30.0	-27.0	-25.0
	(AMI)			196.00	-30.0	-41.0	-19.0
d5-氨磺必利	AMI-d5	-	375.20	242.00	-14.0	-27.0	-25.0
阿立哌唑	Aripiprazole	129722-12-9	448.10	285.05*	-11.0	-27.0	-30.0
	(ARI)			176.05	-11.0	-32.0	-17.0
d8-阿立哌唑	ARI-d8	1089115-06-9	456.10	293.10	-14.0	-28.0	-19.0
帕利哌酮	Paliperidone	144598-75-4	427.20	207.10*	-30.0	-28.0	-21.0
	(PAL)			110.00	-30.0	-43.0	-19.0
d4-帕利哌酮	PAL-d4	1020719-55-4	431.20	211.10	-14.0	-28.0	-21.0
齐拉西酮	Ziprasidone	146939-27-7	413.10	194.05*	-17.0	-29.0	-19.0
	(ZIP)			159.05	-17.0	-43.0	-30.0
d8-齐拉西酮	ZIP-d8	1126745-58-1	421.10	194.05	-14.0	-30.0	-19.0

注: *表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

标准溶液配制：(1) 将 100 mg/L 混合标样储备液以 50% 甲醇水溶液逐级稀释得到浓度分别为 2.0、4.0、10.0、20.0、100.0、200.0、1000.0、2000.0 ng/mL 的标准溶液。

(2) 取 50 μ L 上述标准溶液，加入到 950 μ L 空白血浆中，依次配制得到浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL 的基质标准溶液，经过如下 1.4 步骤处理所得上清液上机测试。

1.4 样品前处理方法

取 100 μ L 血浆样品，加入 10 μ L 混合内标溶液（各内标浓度 1.0 mg/L），加入 900 μ L 乙腈，涡旋振荡 1 min，10000 rpm 离心 10 min，取上清液上机检测。

■ 结果与讨论

2.1 基质标准和空白色谱图

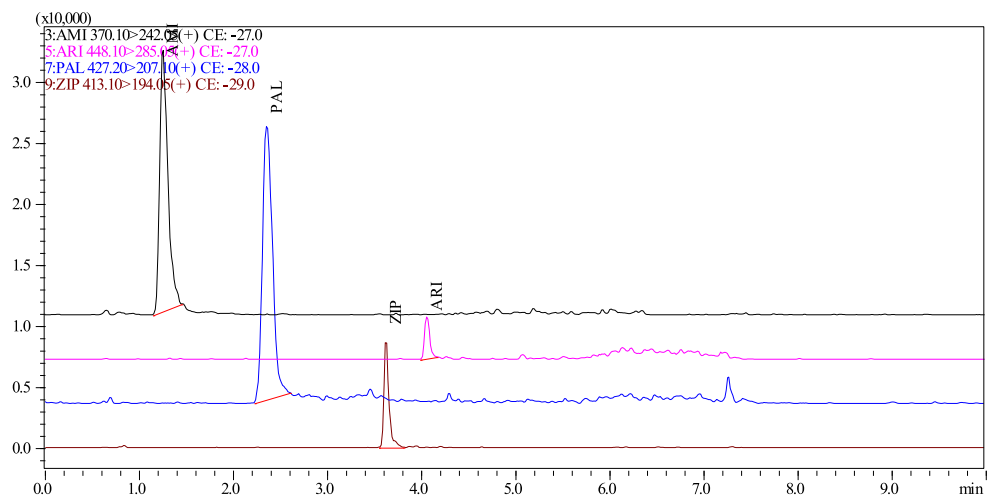


图1 0.1 ng/mL基质标准样品MRM色谱图

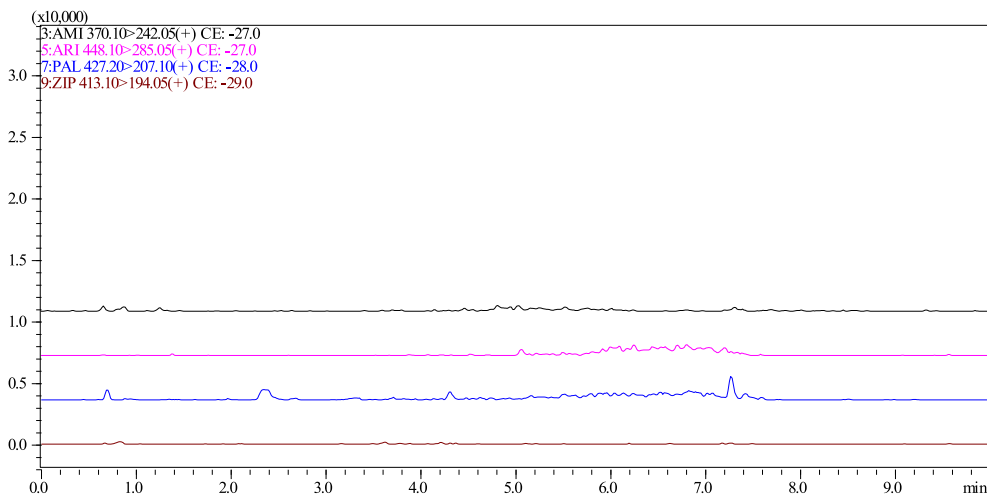


图2 空白血浆色谱图

2.2 线性范围

将浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 和 100.0 ng/mL 的 4 种目标物标准工作液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 内标法制作校准曲线, 如图 3 所示, 线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

在 100 ng/mL 混标分析结束后, 空白样品进样考察 Carryover, 样品无明显残留 (使用甲醇 / 乙腈 / 异丙醇 / 水 =1:1:1:1 作为洗针液, 洗针模式设置为 Rinse Pump>Rinse Port)。

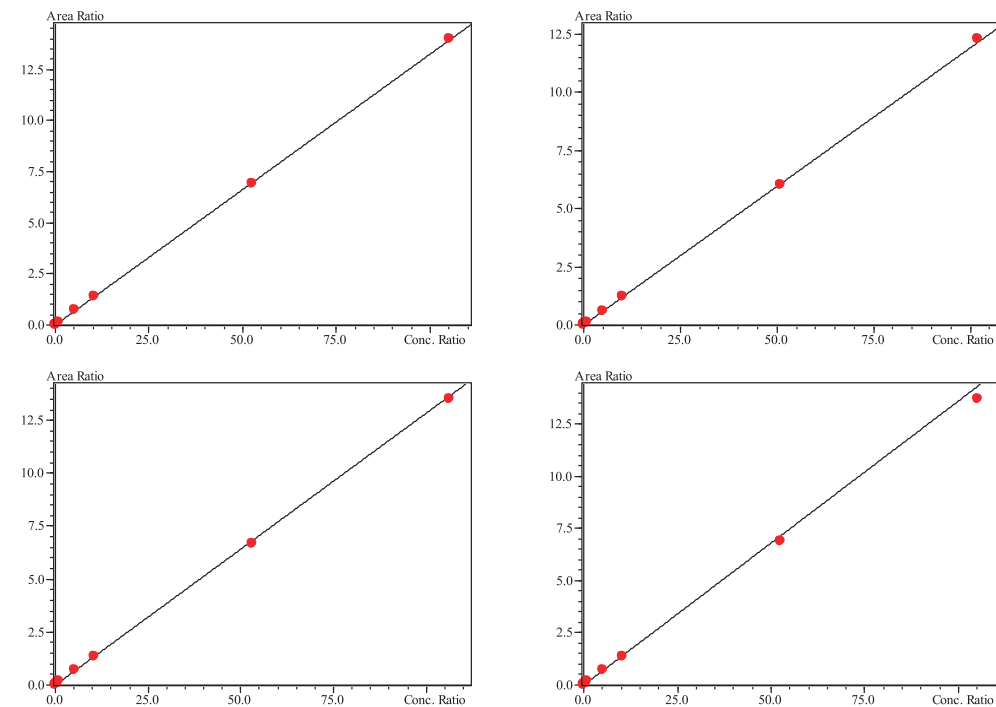


图3 校准曲线(上左为AMI,上右为ARI,下左为PAL,下右为ZIP)

表3 校准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围(ng/mL)	线性相关系数 R ²	准确度 (%)
AMI	$Y = (0.1325)X + 0.0018$	0.1-100	0.9997	98.0-102.8%
ARI	$Y = (0.1191)X + 0.0015$	0.1-100	0.9986	95.0-105.1%
PAL	$Y = (0.1284)X + 0.0025$	0.1-100	0.9990	97.0-105.2%
ZIP	$Y = (0.1360)X + 0.0035$	0.1-100	0.9952	93.1-108.2%

2.3 精密度实验

配制目标物浓度分别为 0.2, 5.0, 100 ng/mL 的混合标样, 平行测定各 6 次, 考察仪器的重复性, 保留时间和峰面积重复性结果如表 4 所示, 仪器重复性良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

名称	RSD (% ,0.2 ng/mL)		RSD (% ,5.0 ng/mL)		RSD (% ,100 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
AMI	0.29	3.28	0.22	1.03	0.13	0.81
ARI	0.10	6.76	0.11	5.49	0.08	4.28
PAL	0.63	2.37	0.27	0.65	0.32	0.80
ZIP	0.19	1.90	0.09	2.35	0.08	3.14

2.4 灵敏度实验

对目标物浓度为 0.10 ng/mL 标准溶液进样分析, 由信噪比计算各目标组分仪器检出限 (ILOD, S/N=3) 和仪器定量限 (ILOQ, S/N=10), 结果如表 5 所示。

表5 检出限和定量限

名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
AMI	0.005	0.017
ARI	0.008	0.025
PAL	0.006	0.021
ZIP	0.003	0.011

2.5 回收率实验

在空白血浆中添加 4 种目标物和内标, 按照 1.4 对样品处理后进样分析, 计算加标回收率, 结果如表 6 所示。

表6 加标回收实验

名称	加标浓度	平均回收率	加标浓度	平均回收率
	(ng/mL)	(%)	(ng/mL)	(%)
AMI	60	105.8	600	98.8
ARI	60	107.9	600	91.7
PAL	10	102.1	100	92.0
ZIP	10	107.5	100	97.5

结论

本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定血浆中氨磺必利、阿立哌唑、帕利哌酮和齐拉西酮 4 种抗精神病药含量的方法。以内标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数均不低于 0.9952 对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.08~0.63% 和 0.65~6.76% 之间, 仪器检出限和定量限分别为 0.003~0.008 ng/mL 和 0.011~0.025 ng/mL。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势, 可用于血浆样品中 4 种抗精神病药含量的检测。