

LC-MS/MS 测定人血浆中青蒿琥酯含量

LCMSMS-656

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪与三重四极杆质谱仪联用检测人血浆中青蒿琥酯的方法。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数大于 0.99，方法准确度及精密度均可满足临床日常检验需求，可为相关从业人员提供参考。

关键词： 青蒿琥酯 三重四极杆液质联用仪 血浆

青蒿琥酯及其活性代谢产物双氢青蒿素和以青蒿琥酯为基础的联合疗法被世界卫生组织推荐用于治疗严重和多耐药的疟疾。有关该药物的分析方法的开发为临床及制药行业提供了药效学、生物利用度及药物稳定性等多种重要信息，十分有利于青蒿琥酯及相关药物的应用与发展。到目前为止，有关该药物的分析方法已公布了约 35 种，包括高效液相色谱法、紫外光谱法、比色法、红外光谱法、薄层色谱法、液相色

谱 - 质谱法。其中，定量下限最低的方法为 2010 年由 Paktiya Teja-Isavadharm 等人发表的 LC-MS 法，为 1.23 ng/mL。

本实验使用岛津超高效液相 - 三重四级杆质谱仪开发了一种测定血浆样本中青蒿琥酯浓度的方法，其定量下限 (1 ng/mL) 低于现有方法，且前处理简单、分析速度快、灵敏度好，可以稳定的测定血浆中青蒿琥酯，从而更好的为临床研究服务。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20AR ₅
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30ACMP
柱温箱：	CTO-20AC	质谱仪：	LCMS-8060
色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.99		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18 50 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm;
P/N: 227-30048-02; 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相：A-0.5% 甲酸 +0.02% 氨水 - 水溶液; B-0.4% 甲酸乙腈

流速：0.4 mL/min 柱温：40°C

进样体积：1 μL 洗针方式：外壁洗针

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pump	B.Conc	40
1.20	Pump	B.Conc	90
2.30	Pump	B.Conc	90
2.31	Pump	B.Conc	40
4.00	Control	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI+	接口温度：300°C
雾化气流速：3.0 L/min	干燥气流速：10 L/min
加热模块温度：400°C	加热气流速：10 L/min
D L 温度：250°C	扫描模式：多反应监测 (MRM)
MRM 参数：见表 2	

表 2 MRM 参数

No.	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	青蒿琥酯	402.20	267.15*	-12.0	-12.0	-11.0
2	青蒿琥酯-d4	406.20	163.05*	-12.0	-21.0	-15.0

* 代表定量离子对。

1.3 标准溶液制备

以 50% 乙腈配制标准贮备液 (1.0 µg/mL)，以乙腈逐级稀释为 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50 ng/mL 标准系列工作溶液。

1.4 样品前处理

取 50 µL 血浆，加入 150 µL 内标工作液 (空白样品加乙腈)，涡旋混匀后于 13000 rpm 离心 5 min。转移 100 µL 上清液至另一干净的聚丙烯管中，加入 50 µL 含 2% 甲酸水溶液稀释，室温下涡旋 1 min 后上机测定。

■ 结果与讨论

2.1 典型图谱

空白血浆及空白血浆加标 (LLOQ) MRM 谱图如下图所示，目标峰灵敏度满足检测需求，青蒿琥酯及其内标信噪比均大于 25。

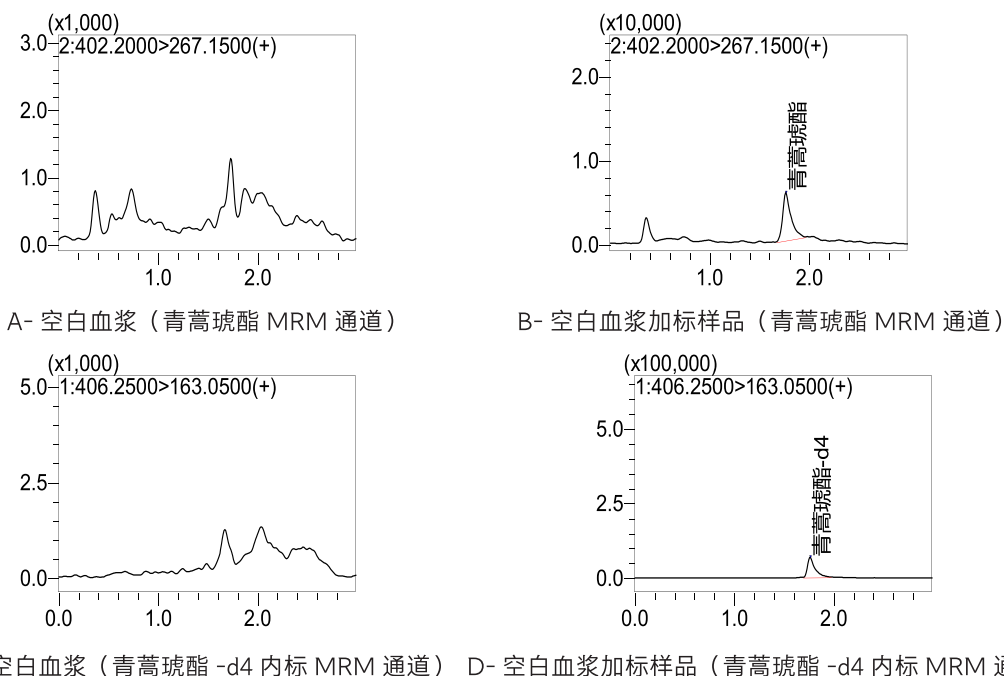


图 1 空白血浆及空白血浆加标 (LLOQ) MRM 谱图

2.2 线性关系

使用空白血浆配置基质标曲，按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作校准曲线，得到校准曲线方程为 $Y=0.0796431X-0.0173016$ ，青蒿琥酯在 1.0~1000 ng/mL 线性范围内相关系数大于 0.997，满足测定需求。

2.3 精密度实验

按 1.4 中的前处理方法对空白血浆添加 LLOQ、低、中、高浓度标准品作为 LLOQ、低、中、高浓度质控品，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，每个样品平行制备 6 份，批内准确度平均值分别为 104.3%、109.5%、105.7%、106.1%，批内精密度在 1.5%~10.7% 之间，表明该方法重复性良好，满足临床测定需求。

2.4 临床样本测试

按 1.4 中的前处理方法对 6 个未知浓度临床样本进行处理，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，结果如下：

表 3 样本检测结果

名称	Sample1	Sample2	Sample3	Sample4	Sample5	Sample6
青蒿琥酯	BLQ	35.16	BLQ	148.46	BLQ	36.14

■ 结论

使用岛津超高效液相色谱质谱仪建立了人血浆中青蒿琥酯的测定方法，并考察了方法的线性、准确度及精密度。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.997，方法准确度及精密度均可满足临床日常检验需求。该方法可以为临床人血浆中检测青蒿琥酯提供很好的借鉴和参考。

岛津应用云

