

# LC-MS/MS 测定人血浆中替扎尼定含量

## LCMSMS-648

**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替扎尼定的方法。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：** 替扎尼定 三重四极杆液质联用仪 血浆

偏头痛是一种常见的慢性发作性神经血管疾患。常表现为反复发作的、多单侧的中、重度搏动样头痛，常伴有恶心、呕吐、畏光、畏声及疲乏无力，少数典型病例发病前有视觉、感觉和运动障碍等先兆，多数患者有家族史，其发作可与多种因素有关，如各种理化因素、精神因素、内分泌和代谢因素等。在美国，偏头痛造成的社会经济负担为 10 ~ 17 亿美元。在我国也有大量患者因偏头痛而影响工作、学习和生活。

替扎尼定是一种  $\alpha_2$  肾上腺素能受体激动剂，激活蓝斑、外测臂旁核、脑桥核等处的  $\alpha_{2a}$  受体亚型起着麻醉和抗交感作用；激活丘脑处的  $\alpha_{2b}$  亚型调节血压；激活纹状体、嗅球、海马等处的  $\alpha_{2c}$  亚型发挥抗

焦虑作用。而大脑蓝斑核是中枢神经系统的重要的觉醒调节功能区，含有脑组织中的最大的去甲肾上腺素细胞群，是  $\alpha_2$  受体激动剂发挥镇静、催眠效应的主要场所。

美国头痛指南、美国家庭医师协会、巴西头痛协会等均推荐替扎尼定作为偏头痛的预防性治疗药物，国外进行的两项随机对照实验也证实了替扎尼定治疗慢性偏头痛患者的有效性和安全性，但目前在国内尚缺乏相关随机对照试验。因此，建立一种灵敏、稳定的测定血浆中替扎尼定的方法，能够更好的契合临床需求。

## ■ 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 <sub>5</sub>
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 $\mu$ m; P/N: 227-30048-02; 岛津（上海）实验器材有限公司		
流动相：	A-5mM 乙酸铵 +0.1% 甲酸水溶液; B- 甲醇		
流速：	0.3 mL/min	柱温：	40°C
进样体积：	1 $\mu$ L	洗针方式：	外壁洗针
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相初始浓度为 35%，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	35
2.00	Pump	B.Conc	95
3.00	Pump	B.Conc	95
3.01	Pump	B.Conc	35
5.00	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	替扎尼定	254.00	44.05*	-24.0	-27.0	-20.0
2	替扎尼定 -d4	258.05	48.10*	-26.0	-28.0	-18.0

\* 代表定量离子对。

1.3 标准溶液制备

以 50% 甲醇配制标准贮备液 (1.0 µg/mL)，以甲醇逐级稀释为 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。

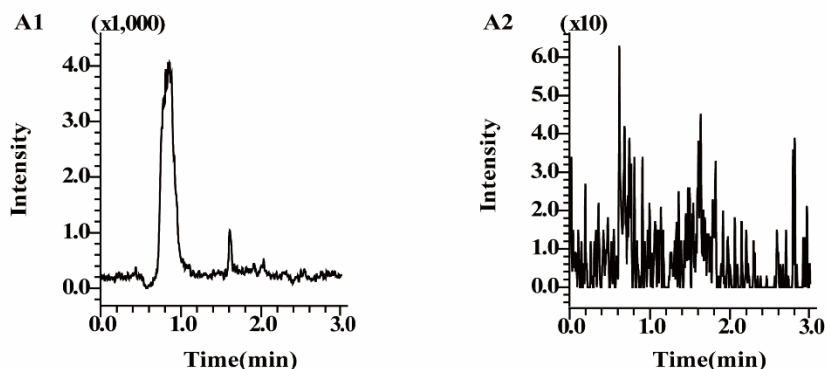
1.4 样品前处理

取 50 µL 血浆，加入 150 µL 内标工作液 (空白样品加甲醇)，涡旋混匀后于 13000 rpm 离心 10 min。转移 50 µL 上清液至另一干净的聚丙烯管中，加入 100 µL 流动相 A 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

0.05 ng/mL 标准溶液 MRM 谱图如下图所示，目标峰灵敏度满足检测需求，信噪比大于 25.37。



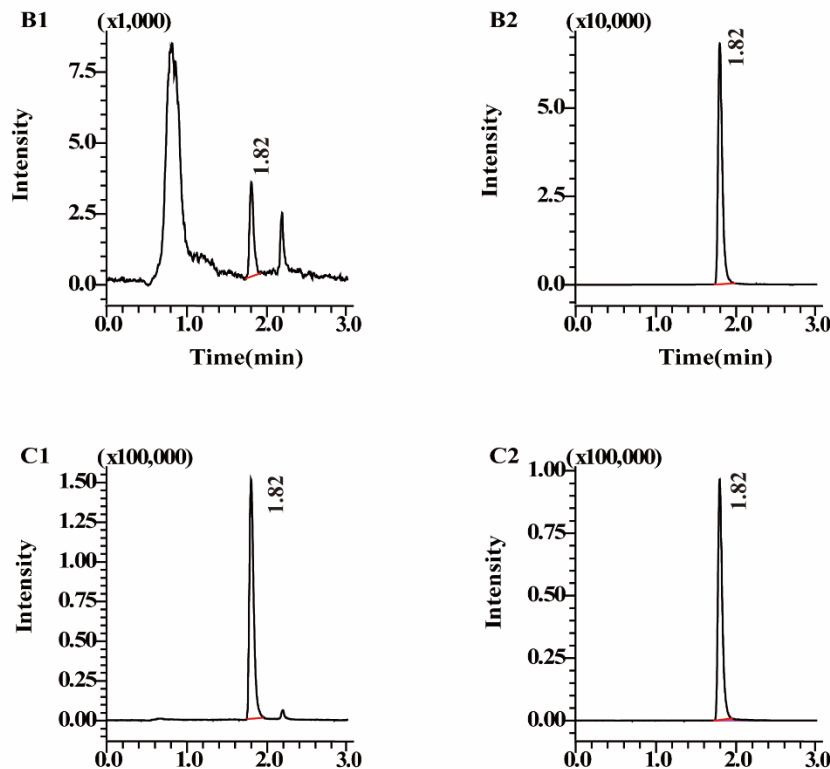


图1 人血浆中替扎尼定 MRM 色谱图

(A: 空白血浆样品; B: LLOQ 样品; C: 真实样品; 1: 替扎尼定; 2: 替扎尼定-d4)

## 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  $y=0.397130X-0.000407870$ ，替扎尼定在 0.05~50 ng/mL 线性范围内相关系数大于 0.998，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低、中、高浓度标准品作为低、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，批内准确度在 97.6%~113.0% 之间，批间准确度在 99.5%~104.8% 之间，批内精密度在 0.9%~11.2% 之内，批间精密度在 2.0%~8.3% 之间，表明该方法重复性良好，满足临床测定需求。

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱质谱仪建立了人血浆中替扎尼定的测定方法，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 0.998，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替扎尼定提供很好的借鉴和参考。

岛津应用云

