

SCIEX 液相色谱串联质谱系统同时检测7种抗肿瘤和抗菌药物

Determination of seven Antineoplastic and antibacterial drugs in Serum by SCIEX LC-MS/MS

荆莲艳, 李国庆

Jing Lianyan, Li Guoqing

Keywords: 5-Fluorouracil, Docetaxel, Paclitaxel, Teicoplanin, Posaconazole, Imatinib, Nilotinib

引言

5-氟尿嘧啶为嘧啶类的氟化物, 属于抗代谢抗肿瘤药。临床用于结肠癌、直肠癌、胃癌、腺癌、卵巢癌、绒毛膜上皮癌、恶性葡萄胎、头颈部鳞癌、皮肤癌、肝癌、膀胱癌等。多西他赛 (Docetaxel) 作用与紫杉醇 (Paclitaxel) 相同, 为M期周期特异性药物, 对晚期乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌有较好的疗效。伊马替尼 (Imatinib) 和尼洛替尼 (Nilotinib) 临床用于治疗慢性髓性白血病和恶性胃肠道间质肿瘤。尼洛替尼临床上主要用于治疗对格列卫 (伊马替尼) 耐药的慢性粒细胞性白血病。泊沙康唑 (posaconazole) 是第二代三唑类抗真菌药物。本品适用于念珠菌属、隐球菌属真菌引起的真菌血症, 呼吸、消化道、尿路真菌病, 腹膜炎、脑膜炎等。替考拉宁, 又名太古霉素, 用于治疗各种严重的革兰阳性菌感染。为了保证抗肿瘤药物和抗菌药临床用药的安全与合理, 有必要建立一种快速特异灵敏的并可以同时测定血清中几种药物浓度的方法。本试验建立一种LC-MS/MS同时测定这5-氟尿嘧啶 (5-FU)、多西他赛 (Docetaxel)、紫杉醇 (Paclitaxel)、替考拉宁 (TEI)、泊沙康唑 (POSA)、伊马替尼 (Imatinib) 和尼洛替尼 (Nilotinib) 浓度, 并考查准确性和精密度7种药物浓度, 该法操作简单, 专一性强, 灵敏度高, 可以满足临床治疗药物监测的需要。

实验部分

1、样品前处理办法

标准品/质控品前处理办法: 取50 μ L空白血清于1.5 mL EP管中, 依次加入50 μ L标准溶液/质控品、50 μ L内标工作液 (由乙腈配制, 表1) 和100 μ L乙腈, 15000 r/min离心3min。取上清50 μ L加入

100 μ L水稀释后, 进行LC-MS/MS分析。

血清样品前处理办法: 取50 μ L血清样品于1.5 mL EP管中, 依次加入50 μ L甲醇、50 μ L内标工作液 (由乙腈配制) 和100 μ L乙腈, 15000 r/min离心3 min。取上清50 μ L加入100 μ L水稀释后, 进行LC-MS/MS分析。

表1. 内标工作液浓度。

烟酸 (ng/mL)	D5-POSA (ng/mL)
500	1000

2、检测方法

色谱条件: 色谱柱使用C18 Column (2.1 \times 100mm, 1.7 μ m) 进行分离, 流动相选用4 mM乙酸铵-0.2 %FA水溶液作为A相, 和甲醇作为B相, 柱温设为40 $^{\circ}$ C, 进样量1 μ L, 进行梯度洗脱, 液相梯度见表2。

表2. 液相梯度洗脱条件。

Time(min)	Flow rate(mL/min)	A%	B%
0	0.3	70	30
1.5	0.3	50	50
2	0.3	25	75
6	0.3	25	75
6.1	0.3	70	30
7	0.3	70	30

质谱条件: 采用电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 和多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 模式进行分

时间段正负切换质谱检测。离子源参数：加热气 (GS1) 和辅助加热气 (GS2) 分别为45和45 psi，脱溶剂气温度为400 °C；气帘气 (Curtain Gas, CUR) 为30 psi，碰撞气 (Collision Gas, CAD) 为7 psi；喷雾针 (Ionspray, IS) 正模式电压为+ 5500V，负模式电压为-4500V。为了获取较好的稳定性和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压 (Declustering Potential, DP) 和碰撞电压 (Collision Energy, CE)，目标物定量离子对、定性离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化，离子对信息见表3。

表3. 6种抗精神类药物及内标物MRM离子通道参数。

	ID	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Dwell (msec)	DP (V)	CE (V)
Period 1 2.0min Polarity: Negative IS: -4500	5-FU-1	129	41.9	200	-100	-33
	5-FU-2	129	85.9	200	-100	-25
	NA	122	78	200	-30	-17
Period 2 6.0min Polarity: Positive IS: 5500	docetaxel_1	808.2	527.3	40	60	14
	docetaxel_2	808.2	509.3	40	60	18
	paclitaxel_1	854.3	286.1	40	130	20
	paclitaxel_2	854.3	509.3	40	130	20
	TEI-1	940.3	316.2	40	130	20
	TEI-2	939.7	314.2	40	130	20
	TEI-3	947.8	330.1	40	130	20
	TEI-4	782.7	204.1	40	130	20
	POSA-1	701.3	683.3	40	50	44
	POSA-2	701.3	614.3	40	50	50
	D4-POSA-1	705.3	687.3	40	50	44
	Imatinib-1	494.4	394.2	40	100	60
	imatinib-2	494.4	217.4	40	100	60
	nilotinib	530.4	289.1	40	100	18
D4-POSA-2	705.3	618.3	40	50	50	

结果与讨论

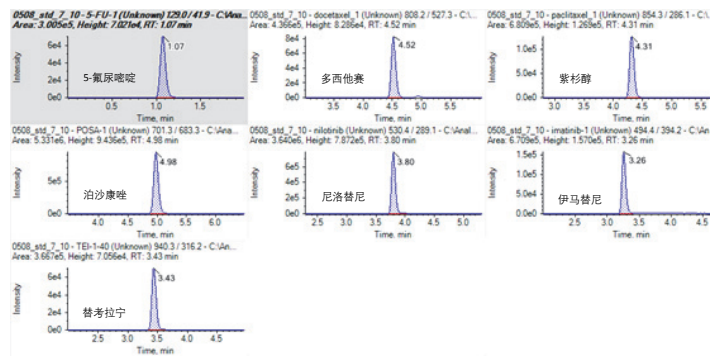


图1. 5-氟尿嘧啶、多西他赛、紫杉醇、替考拉宁、泊沙康唑、伊马替尼和尼洛替尼提取色谱图。

5-氟尿嘧啶、多西他赛、紫杉醇、替考拉宁、泊沙康唑、伊马替尼和尼洛替尼的回归方程和线性范围见表4，r均大于0.995，7种抗肿瘤药物和抗菌药物在相应的浓度范围内线性良好。

表4. 回归方程和线性范围。

测定项目	线性范围 (µg/mL)	回归方程 (相关系数r)
5-Fluorouracil	0.05~5	Y=1.02863 X +0.02696 (r=0.99707)
Docetaxel	0.02~2	Y=0.15953 X +0.00102 (r=0.99785)
Paclitaxel	0.02~2	Y=0.26031 X +0.00276 (r=0.99687)
Teicoplanin	1~100	Y=0.03630 X +0.01825 (r=0.99599)
Posaconazole	0.1~10	Y=0.75300 X +0.01662 (r=0.99749)
Imatinib	0.1~10	Y=0.81067X +0.03361 (r=0.99696)
Nilotinib	0.1~10	Y=0.48357 X +0.01561 (r=0.99545)

为了考察方法的重现性及准确性，分别进行7种抗肿瘤药物和抗菌药物的精密度 (RSD) 和准确度方法验证。从表5可以看出，质控点的精密度 (RSD) 均在7.79%以内，回收率均在90.58%~108.81%之内。

表5. 血清中7种抗肿瘤药物和抗菌药物精密度 (RSD) 和准确度。

Component Name	Actual Concentration (µg/mL)	Mean (µg/mL)	Percent CV%	Accuracy %
5-Fluorouracil	0.15	0.158	3.78	105.41
	1.5	1.368	4.02	91.21
	4	4.061	7.79	101.52
imatinib	0.3	0.316	5.75	105.36
	3	2.917	2.07	97.23
	8	8.877	3.15	110.96
nilotinib	0.3	0.314	3.17	104.58
	3	3.22	3.36	107.33
	8	8.195	4.72	102.44
docetaxel	0.06	0.055	6.99	91.86
	0.6	0.543	4.21	90.58
	1.6	1.563	4.56	97.66
Paclitaxel	0.06	0.059	2.73	98.82
	0.6	0.558	2.62	92.98
	1.6	1.581	2.07	98.83
Teicoplanin	3	2.736	4.49	91.2
	30	29.335	4.88	97.78
	80	72.784	3.24	90.98
Posaconazole	0.3	0.31	1.85	103.27
	3	2.769	6.21	92.32
	8	8.705	0.87	108.81

总结

本方法使用SCIEX Triple Quad™ 液相色谱串联质谱系统为高灵敏度和高稳定性的三重四极杆质谱系统。本方法采用ESI+电喷雾离子源和MRM多反应监测模式，可对血清中5-氟尿嘧啶、多西他赛、紫杉醇、替考拉宁、泊沙康唑、伊马替尼和尼洛替尼药物进行快速的定性和定量分析。该方法具有、特异性高、线性好、准确度高等优点，可以满足临床治疗药物监测的需要。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12019-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
 北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
 1号楼5层
 电话: 010-5808-1388
 传真: 010-5808-1390
 全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
 上海市长宁区福泉北路518号
 1座502室
 电话: 021-2419-7200
 传真: 021-2419-7333
 官网: sciex.com.cn

广州分公司
 广州市天河区珠江西路15号
 珠江城1907室
 电话: 020-8510-0200
 传真: 020-3876-0835
 官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)