

SCIEX 液相色谱串联质谱系统同时检测利奈唑胺、伏立康唑、伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、达比加群酯和利伐沙班

Simultaneous Determination of Linezolid, Voriconazole, Imatinib, Dasatinib, Nilotinib, Dabigatran Etexilate and Rivaroxaban in Plasma by SCIEX LC-MS/MS

胡凤梅, 张元媛, 李国庆

Hu Fengmei, Zhang Yuanyuan, Li Guoqing

引言

利奈唑胺 (Linezolid) 为细菌蛋白质合成抑制剂, 属于人工合成的恶唑烷酮类抗生素, 用于治疗革兰阳性 (G+) 球菌引起的感染; 伏立康唑 (Voriconazole) 是一种治疗真菌感染的药物, 为广谱类抗真菌药; 伊马替尼 (Imatinib)、达沙替尼 (Dasatinib)、尼罗替尼 (Nilotinib) 均为酪氨酸激酶抑制剂, 临床用于治疗慢性髓性白血病; 利伐沙班 (Rivaroxaban) 和达比加群酯 (Dabigatran) 为新型口服抗凝剂, 用于治疗非瓣膜性心房颤动患者的静脉血栓栓塞和预防卒中; 这几类药在临床上均使用较广泛。

为了确保临床用药的安全与合理, 有必要建立一种快速特异灵敏的方法测定血浆中7种药物浓度。本试验针对SCIEX Triple Quad™ 4500MD系统, 建立一种LC-MS/MS同时测定利奈唑胺、伏立康唑、伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、达比加群酯和利伐沙班的浓度, 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

样品前处理

样品前处理: 向1.5 mL离心管里依次加入50 μ L 血浆、50 μ L 内标、50 μ L 50%甲醇-水和150 μ L乙腈, 涡旋1 min后, 15,000 r/min离心5 min。取上清液100 μ L加入100 μ L超纯水稀释, 涡流混匀后, 进行LC-MS/MS分析。

色谱条件

色谱柱: Kinetex F5, 3.0 \times 100 mm I.D, 2.6 μ m

流动相: A相: 含0.1%甲酸的5 mM醋酸铵的水溶液
B相: 甲醇

流速: 0.5 mL/min

柱温: 40 $^{\circ}$ C

进样体积: 10.0 μ L

洗脱方式: 梯度洗脱, 见表1

表1. 液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0	45	55
0.5	45	55
2	30	70
3.3	5	95
4	5	95
4.1	45	55
5	45	55

质谱条件

采用正电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 和多反应

监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 模式进行质谱检测。离子源参数: 喷雾针 (Ionspray, IS) 正模式电压为 + 5500V, 加热气 (GS1) 和辅助加热气 (GS2) 分别为 55 psi 和 55 psi, 脱溶剂气温度为 550 °C; 气帘气 (Curtain Gas, CUR) 为 30 psi, 碰撞气 (Collision Gas, CAD) 为 8。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 2。

表 2. 7 种化合物及其内标物的 MRM 离子通道参数

Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Dwell (msec)	ID	DP(V)	CE(V)
350.1	281.2	20	Voriconazole-1a	100	23
350.1	224.2	20	Voriconazole-2	100	26
338.1	296.1	20	Linezolid-1a	100	26
338.1	195.3	20	Linezolid-2	100	32
353.2	284.2	20	Voriconazole-d3	100	26
341.1	195.2	20	Linezolid-d3	100	40
488	401.2	20	Dasatinib-1a	180	43
488	232.1	20	Dasatinib-2	180	60
530.1	289.1	20	Nilotinib-1a	160	60
530.1	260.2	20	Nilotinib-2	160	70
494.1	394.2	20	Imatinib-1a	135	65
494.1	217.1	20	Imatinib-2	135	55
496.1	406.2	20	Dasatinib-d8	180	46
536.2	295.1	20	Nilotinib-d6	160	60
502.2	394.1	20	Imatinib-d8	135	65
436	145.1	20	Rivaroxaban-1a	135	45
436	231	20	Rivaroxaban-2	135	31
440.1	145.1	20	Rivaroxaban-d4	135	45
628.2	332.1	20	Dabigatran Etexilate-1 a	150	37
628.2	434.3	20	Dabigatran Etexilate-2	150	35
639.4	332.2	20	Dabigatran Etexilate-d11	150	37

注: a 代表定量离子对

结果与讨论

对空白血浆样本中 7 种药物的提取离子流色谱图的考察表明, 在空白血浆样本中, 各待测物在对应出峰时间下的峰面积小于定量下限峰面积的 20%, 符合相关指导原则要求, 可准确检测, 见图 1。

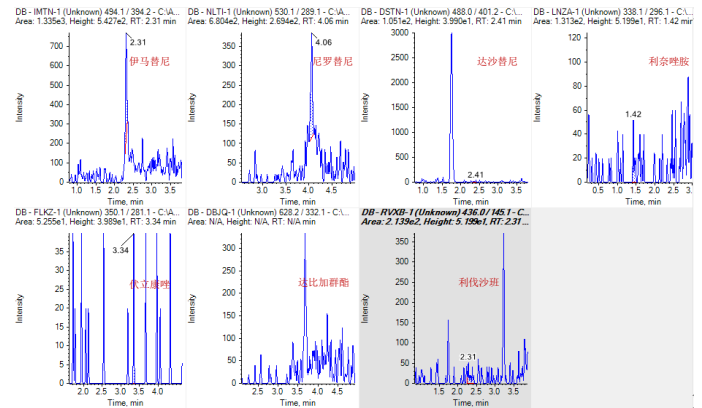


图 1. 七种化合物的空白血浆样本提取离子流色谱图

以空白血浆为基质, 考察了 7 种化合物在定量下限的出峰和响应情况, 结果表明化合物峰型良好, 见图 2。

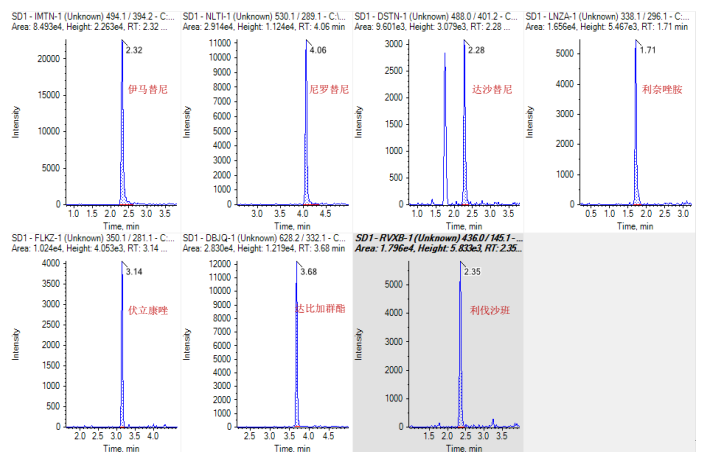


图 2. 血浆基质中七种化合物在定量下线浓度下的提取离子流色谱图

利奈唑胺、伏立康唑、伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、达比加群酯和利伐沙班的回归方程和线性范围见表3， r 均大于0.995，7种药物在相应的浓度范围内线性良好。

表3. 回归方程和线性范围

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	回归方程 (相关系数 r)
利奈唑胺	0.5-125	$Y=0.02037 X + 0.00168 (r = 0.99592)$
伏立康唑	0.5-125	$Y=0.00140 X + 0.000198387 (r = 0.99809)$
伊马替尼	0.04-1.0	$Y=0.000608602 X + 0.00715 (r = 0.99790)$
达沙替尼	0.001-0.25	$Y=0.01911 X + 0.00326 (r = 0.99859)$
尼罗替尼	0.02-5.0	$Y=0.000152968 X + 0.000503348 (r = 0.99790)$
达比加群酯	0.002-0.5	$Y=0.00855 X + 0.00243 (r = 0.99954)$
利伐沙班	0.002-0.5	$Y=0.00979 X + 0.00202 (r = 0.99926)$

以混合实际人群血浆添加标液的形式制备质控样本，对7种药物定量的准确度进行验证。从表4可以看出，不同浓度质控样本的准确度均在90.63~110.36%之内，满足FDA和CLSI相关法规要求。

总结

本方法采用ESI+电喷雾离子源和MRM多反应监测模式，可对血浆中利奈唑胺、伏立康唑、伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、达比加群酯和利伐沙班进行快速的定量分析。该方法具有特异性高、线性好、准确度高优点，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。

表4. 血浆中7种药物的准确度

化合物名称	实际浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	检测浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	Accuracy%
利奈唑胺	1.50	1.64	109.02
	15.0	15.4	102.38
	93.8	86.7	92.45
伏立康唑	1.50	1.55	103.44
	15.0	13.6	90.75
	93.8	85.0	90.63
伊马替尼	0.120	0.130	108.26
	1.00	1.10	110.36
	7.50	7.14	95.22
达沙替尼	0.00300	0.00315	104.94
	0.0300	0.0288	96.02
	0.188	0.179	95.64
尼罗替尼	0.0600	0.0633	105.53
	0.600	0.546	90.97
	3.75	3.46	92.21
达比加群酯	0.00600	0.00630	104.97
	0.0600	0.0544	90.64
	0.375	0.381	101.47
利伐沙班	0.00600	0.00583	97.17
	0.0600	0.0588	98.04
	0.375	0.355	94.55

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。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13243-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: SCIEX-China