

## SCIEX LC-MS/MS系统定量分析血浆中亮丙瑞林

# Quantitative Analysis of Leuprorelin in Plasma by SCIEX LC-MS/MS System

贾金茹, 司丹丹, 龙志敏, 郭立海

Jia Jinru, Si Dandan, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

**Keywords:** LC-MS/MS; Leuprorelin; Quantitative Analysis

### 前言

亮丙瑞林是一种高活性黄体生成激素释放激素类似物, 其结构是由9个氨基酸组成, 可有效的抑制垂体-性腺系统的功能, 对性激素依赖性疾病具有较好的治疗作用。亮丙瑞林与戈舍瑞林、曲普瑞林、那法瑞林都是目前临床上常用的几种药物去除卵巢法治疗绝经前乳腺癌及前列腺癌的药物(简称GnRH-a类药物), 这类化合物与促性腺素释放素结构较为相似, 可竞争作用于GnRH受体, 对垂体产生降调节的作用, 减少卵巢分泌的性激素, 可有效的控制雄激素依赖性或者雌激素依赖性肿瘤的生长, 从而起到类似于切除的效果。

亮丙瑞林在室温下性能相较与其他促性腺素释放激素类似物更稳定, 目前临床上使用较为广泛。但由于其口服给药后在胃肠道即体液内容易被各种消化酶降解, 所以其使用方法多为皮下或肌肉注射给药。据报道, 通过单次皮下注射给药, 亮丙瑞林的血药浓度峰值大约在0.1-2 ng/ml范围内<sup>[1]</sup>, 因此为了更好的研究其药代动力学特征, 需要建立一种快速且高灵敏度的方法对其进行定量分析。

本实验采用蛋白沉淀法进行血浆样品的前处理, 通过SCIEX Triple Quad™系统对大鼠血浆中的亮丙瑞林进行定量分析, 该方法特点如下:

1. 该方法具有较宽的线性范围以及较高的灵敏度, 方法定量下限(LLOQ)可达10 pg/ml。
2. SCIEX质谱独特的Turbo V™离子源具备较强的抗污染能力, 且在长时间的样品采集过程中, 仪器仍能保证数据的稳定性和重现性。

3. SCIEX OS软件集数据采集、数据处理、数据管理于一体, 操作简单。

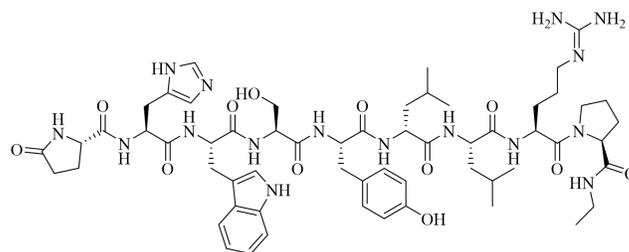


图1. 亮丙瑞林的结构式

### 实验方法

#### 样品前处理

取50 μl的大鼠血浆, 分别向其中加入不同浓度的亮丙瑞林标准品溶液, 涡旋混匀, 配置成血浆浓度为10 pg/ml、20 pg/ml、50 pg/ml、100 pg/ml、200 pg/ml、500 pg/ml、1000 pg/ml、2000 pg/ml、5000 pg/ml的基质标准品溶液。向每个基质标准品溶液中加入200 μl纯乙腈(-20 °C预冷处理), 涡旋1 min, 15000 rpm转速下4 °C离心15 min。取50 μl上清至含150 μl水的离心管中, 涡旋1 min, 待进样分析。

#### 仪器设备

SCIEX Exion LC™ + SCIEX Triple Quad™ 液质联用系统



电喷雾电压(ES): 2000 V;                      气帘气(CUR): 40 psi;  
 雾化气(GS1): 30 psi;                            辅助加热气(GS2): 70 psi;  
 离子源温度(TEM): 450 °C;                   碰撞气(CAD): 9 psi;  
 多反应监测离子通道见表2

表2. 亮丙瑞林MRM通道参数设置

化合物 Compound ID	母离子 Q1 ( m/z )	子离子 Q3 ( m/z )	碰撞能 CE ( V )
Leuprolide 1	605.7	249	36
Leuprolide 2	605.7	221	46

## 液相条件

液相: SCIEX Exion LC™系统

色谱柱: Luna Omega PS C18 ( 100 × 2.1 mm, 3 μm )

流动相: A相: 水 ( 含0.1%甲酸和1 mM甲酸铵 )

B相: 乙腈 ( 含0.1%甲酸 )

流速: 0.3 ml/min

柱温: 40°C

洗针液: 甲醇:乙腈:水:异丙醇 ( 1:1:1:1 )

梯度洗脱程序: 见表1

表1. 梯度洗脱条件

Time (min)	A ( % )	B ( % )
0	95	5
0.5	95	5
7	5	95
8	5	95
8.1	95	5
10	95	5

## 质谱条件

SCIEX Triple Quad™ 系统

数据采集方法: MRM ( 多反应监测扫描模式 )

离子源: ESI源

离子源参数:

## 实验结果

### 灵敏度、专属性和重现性

本实验采用蛋白沉淀法进行大鼠血浆样品的前处理, 方法简单快速。通过SCIEX Triple Quad™系统对大鼠血浆中的亮丙瑞林进行定量分析。

空白血浆和各浓度点的基质样品溶液的XIC谱图见图2, 从图中可以看出, 空白血浆中无明显干扰, 说明该方法专属性好, 特异性高。且基质样品中LLOQ可达10 pg/ml, 说明该方法灵敏度高。为了考察仪器的重现性和准确性, 将处理好的低浓度点10 pg/ml样品, 同一浓度样品连续进6针, 进行重现性考察。在LLOQ浓度下的精密度的(RSD)为7.12%。

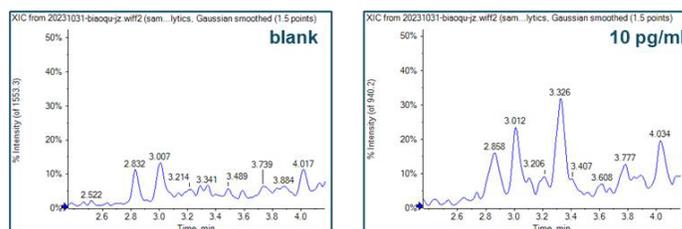


图2. 空白大鼠血浆以及LLOQ浓度点基质样品的XIC谱图

### 线性和准确度

血浆样品中亮丙瑞林在10 pg/ml-5 ng/ml浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数0.999, 各浓度点准确度均在85%-115%之间, 具体见图3、4。

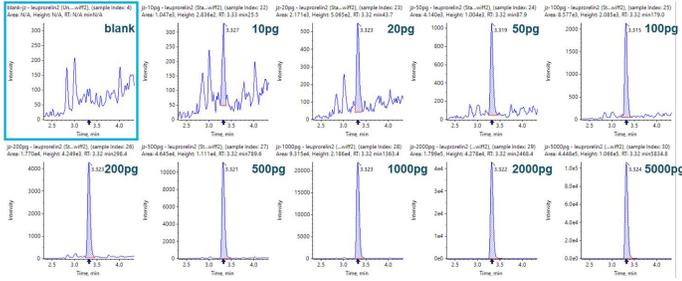


图3. 空白大鼠血浆以及各浓度点质谱样品的XIC谱图

### 结论

本实验采用蛋白沉淀法进行血浆样品的前处理，前处理方法简单操作且快速，通过SCIEX Triple Quad™系统对大鼠血浆中的亮丙瑞林进行直接定量。结果表明空白血浆中无明显干扰，方法的定量下限（LLOQ）可达10 pg/ml，说明该方法特异性较好、灵敏度较高。在浓度10 pg/ml-5 ng/ml的范围内线性关系良好，线性相关系数大于0.999；低浓度点（10 pg/ml）基质样品连续进样6针，峰面积重现性结果小于8%。综上，整个方法具备操作简单、快速的优点，为血浆样品中亮丙瑞林的定量分析提供参考。

### 参考文献

[1] Skiba M, Fatmi S, Elkasri N, Karrout Y, Lahiani-Skiba M. Development, validation and method stability study of a LC-MS method to quantify leuprolide (Hormone analog) in human plasma. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2020; 1160: 122345.

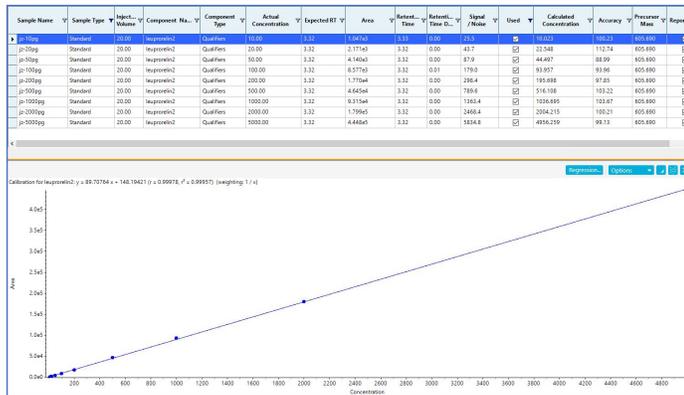


图4. 亮丙瑞林基质样品的标准曲线图，线性范围10 pg/ml-5 ng/ml，线性相关系数r为0.9996

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. 或在美利坚/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2024 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15943-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: 021-2419-7201  
传真: 021-2419-7333

官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)