CMASS®
Science / Technology
用质谱发现医学之美

LC-MS/MS液质联用法测定人血浆中伊马替尼

上海谱芬生物科技有限公司

LC-MS/MS 液质联用法测定人血浆中伊马替尼

一、伊马替尼临床检测意义

伊马替尼已作为慢性粒细胞白血病（CML）的一线治疗药物，疗效令人鼓舞。伊马替尼的血药浓与CML患者的生存期及缓解率相关。其血浆浓度主要受α1-酸性糖蛋白（AGP）及改变细胞色素P450（CYP3A4）酶活性的影响。监测伊马替尼血药浓度有助于指导CML的临床治疗。

二、伊马替尼基本信息

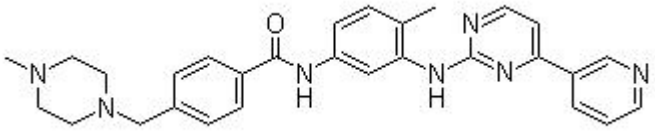


图 1 伊马替尼化学结构式

三、LC-MS/MS 液质联用检测方法

1、仪器设备及试剂耗材

仪器设备：SCIEX 3200MD 等（灵敏度相当或更高的串联四极杆质谱仪均可适用）。

色谱柱：Phenomenex F5 2.6 μm 100x3.0mm；

试剂：甲醇、乙腈、水、甲酸（所有试剂均为色谱纯以上）；甲酸铵；空白替代基质血浆或血清；质控品（可在方法开发完成并通过性能验证后再选择配备）；

标品及内标：伊马替尼、伊马替尼-d8。

2、溶液配制

标样和内标母液用甲醇配好。配制线性标样和内标样本时用乙腈进行稀释。

线性标样浓度范围：S1 : 12.5ng/ml; S2: 50ng/ml; S3: 250ng/ml; S4: 1250ng/ml; S5: 2500ng/ml; S6: 125000ng/ml。

内标溶液：50ng/ml。

3、前处理过程

血样样本进行蛋白沉淀后稀释，混匀， 进样检测。

4、液相条件

色谱柱：Phenomenex F5 2.6 μm 100x3.0mm；

柱 温：40℃

进样量：20 uL；

洗脱梯度见表 1。

表 1 液相梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	A 相 %	B 相 %
0.00	0.5	80.0	20.0
1.50	0.5	20.0	80.0
3.00	0.5	20.0	80.0
3.10	0.5	80.0	20.0
5.00	0.5	80.0	20.0

5、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）模式进行质谱扫描。离子源参数：加热气（GS1）和辅助加热气（GS2）分别为 55 和 60 psi，脱溶剂气温度为 550℃；气帘气（Curtain Gas，CUR）为 20 psi，碰撞气（Collision Gas，CAD）为 6 psi；

喷雾针（Ionspray，IS）电压为 5500V。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，见表 2。

表 2 伊马替尼及内标物伊马替尼-d8 MRM 离子通道参数

化合物	离子对 Q1 / Q3	去簇电压 DP	碰撞电压 CE	驻留时间 Dwell
伊马替尼	494.5 / 394.4a	100	26	100
	494.5 / 217.4b	100	26	100
伊马替尼-d8	502.5 / 394.3a	96	30	100
	502.5 / 225.4b	96	30	100

注：a 定量离子对；b 定性离子对

6、结果

1）标准曲线方程及线性

采用以上前处理和仪器方法，得到的标准曲线回归方程见表 3.

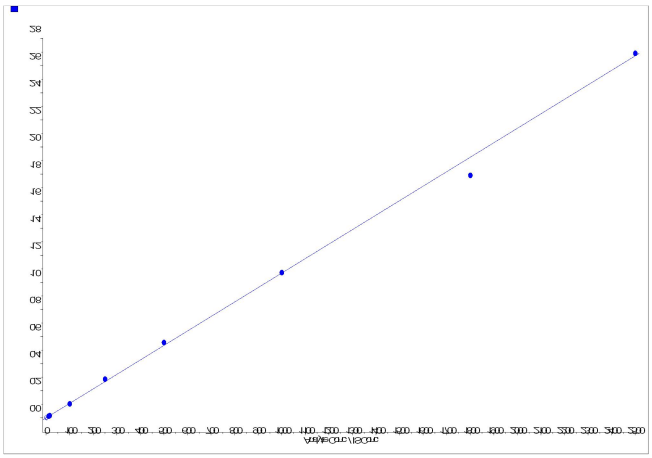


图 2 伊马替尼标准曲线

表 3 线性回归方程

化合物	回归方程	权重	相关系数r	线性范围
伊马替尼	Y=0.00107x+0.00138	$1/x^2$	0.9991	2.5~2500

2）实验谱图

进行前处理后进样检测，得到的谱图如下：

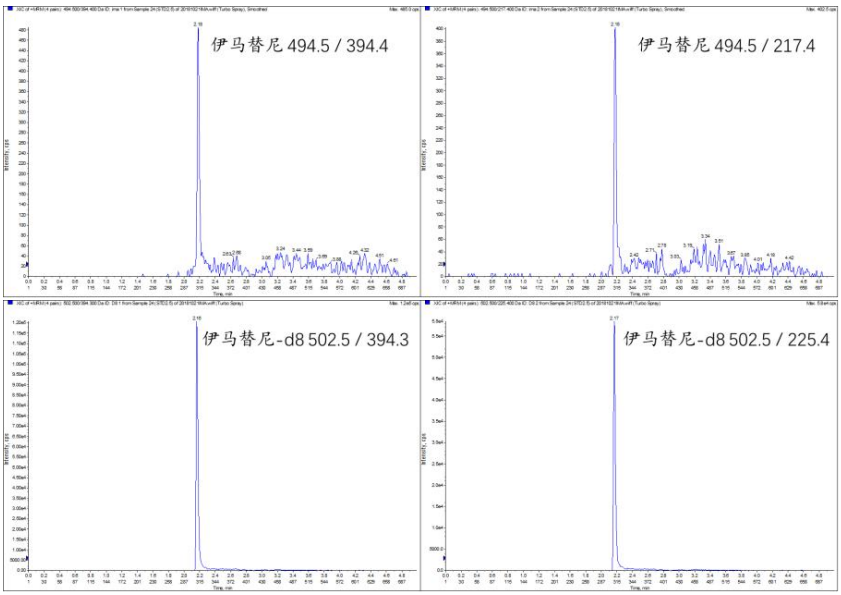


图 3 伊马替尼（LLOQ 2.5 ng/mL）及内标物伊马替尼-d8 提取离子流图

3）伊马替尼准确度及精密度

本实验分别进行 12ng/ml、120ng/ml、1200ng/ml 三个空白基质添加浓度，每个样本 3 个平行。以此考察伊马替尼的精密度与准确度，得到的数据如下表：

表 4 伊马替尼精密度及准确度

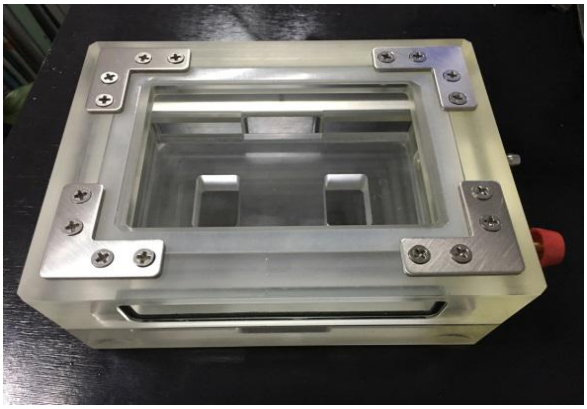
理论浓度 ng/mL	实测值 ng/mL	准确度 %	CV %
12	11.92	99.36	8.41

120	133.18	110.98	5.81
1200	1223.89	101.997	6.56

7、结论

本方法使用 SCIEX 高灵敏度和高稳定性的三重四极杆质谱系统，克服了复杂血浆样本基质中血药浓度测定带来的挑战。同时结合成熟的样品提取手段，实现了血浆中伊马替尼的浓度测定。因此，本方法采用 ESI+电喷雾离子源和 MRM 多反应监测模式，可对血浆中伊马替尼进行快速的定性和定量分析。该方法具有线性好、准确度高等优点，且每个样本分析仅需 5 min，具有较高的分析通量。

注：以上内容仅供科研参考使用，不可用于临床诊断依据。



96 孔固相萃取仪（负压萃取装置）

96 孔固相萃取板

96 孔样品收集板 96 孔板封膜

检测方案可选产品信息

名称	规格	货号	货期
96 孔样品收集板	1.0ml,24 块/盒	CMS-D-96WP-SU-V1.0	现货
96 孔板封膜	100/PK	CMS-D-96WC-ALF	现货
Phenomenex F5	2.6 μm 100x3.0mm		1-2 周
质控品两个水平	2 x 5 x 2 ml	CMS-CH0384、CMS-CH0385/CMS-CH0386	3-5 周
空白替代基质	100mL、1L、3L	1800-0057/1800-0058/1800-0035	4-6 周
甲酸	100ml、500ml	F112034	现货
伊马替尼	1g		现货
伊马替尼-d8	1mg		现货