

Liquid Chromatography/  
Mass Spectrometry

作者

Eugene Davidov

Adam J. Patkin

PerkinElmer, Inc.

Shelton, CT USA

## 利用UHPLC-APCI 单四级杆质谱仪分析 人血浆中的环状 抗抑郁药

### 简介

抗抑郁药是一类重要的治疗精神疾病的药物，它们的特点是可被吸收、分布、代谢和排泄（ADME），且被用于进行药物的滥用、毒理和有效性监测。三环和四环类的抗抑郁药已经被美国食品与药品管理局（FDA）批准用于治疗抑郁症及脑疾病以外的

的抑郁症，包括焦虑症、注意力缺陷多动症、神经痛和失眠症。环状抗抑郁药是通过在大脑中影响分子信号通路的方式来控制抑郁症的症状，药物的作用机理包括调节反应的特定化学物质（神经递质）。抗抑郁药物的作用是通过对抗作用以阻止神经递质再次吸收它们的目标受体，从而增强血清素和/或肾上腺素能的神经递质。通过结合各自的神经递质分子，特异性的抑制人体5-羟色胺受体3A（5-HT<sub>3A</sub>），以获得特定的疗效。

本应用文献采用超高压液相色谱仪与大气压化学电离质谱仪（APCI-LC/MS）联用技术，结合简单和高重现性的样品制备方法，建立了一种快速、简单和高效的定量分析人血浆中抗抑郁药的方法。该操作方法在临床研究和药代动力学研究中具有提高样品分析通量的潜力。

## 试验

### 样品

在5等分的人血浆样品（0.5mL, Invitrogen Corp., Carlsbad, CA）中加入4种经过逐级稀释的抗抑郁药（米氮平、氯氮平、丙嗪、阿米替林, Sigma-Aldrich Corp; St. Louis, MO），使血浆中最终药物浓度分别为1, 5, 10, 50和100ng/mL。首先向血浆中加入1mL乙腈沉淀蛋白质，然后将样品溶液涡旋5min，4500RPM离心10min，取上清液并用0.45μm尼龙膜过滤（Nalgene, Rochester, NY）。样品由LC/APCI-MS采用全扫描（Scan）和选择离子监测（SIM）两种模式进行分析。

## 结果

### 化合物鉴定

通过全扫描模式采集混合标准溶液的数据用来确定化合物的保留时间及主要的定性、定量离子。由采集的色谱图可知，4种被分析物均可得到基线分离，且确定了质子化的分子离子 $[M+H]^+$ ，扣除背景的谱图见图1所示。

### 液相色谱条件

泵:	Flexar FX UHPLC
流动相A:	含有0.1%的甲酸水溶液
流动相B:	乙腈
流速:	0.5mL/min
梯度:	3.5min内A相由95%到70%，接着2min之内，A到50%
进样体积:	2μL局部注射模式
色谱柱:	Brownlee™ SPP C18, 100 x 2.1 mm x 2.7 μm
自动进样器:	PerkinElmer Flexar™ UHPLC Autosampler

### 质谱条件

质谱仪:	PerkinElmer Flexar™ SQ300 MS
离子源:	PerkinElmer Field-Free APCI
APCI	
气化温度:	350℃
Corona电流:	7μA
离子化模式:	正离子
毛细管出口电压:	80V
扫描模式:	m/z100-500
SIM模式:	0-3min, m/z266 (米氮平)
	3-4min, m/z327 (氯氮平)
	4-7 min, m/z285, 278 (丙嗪, 阿米替林)

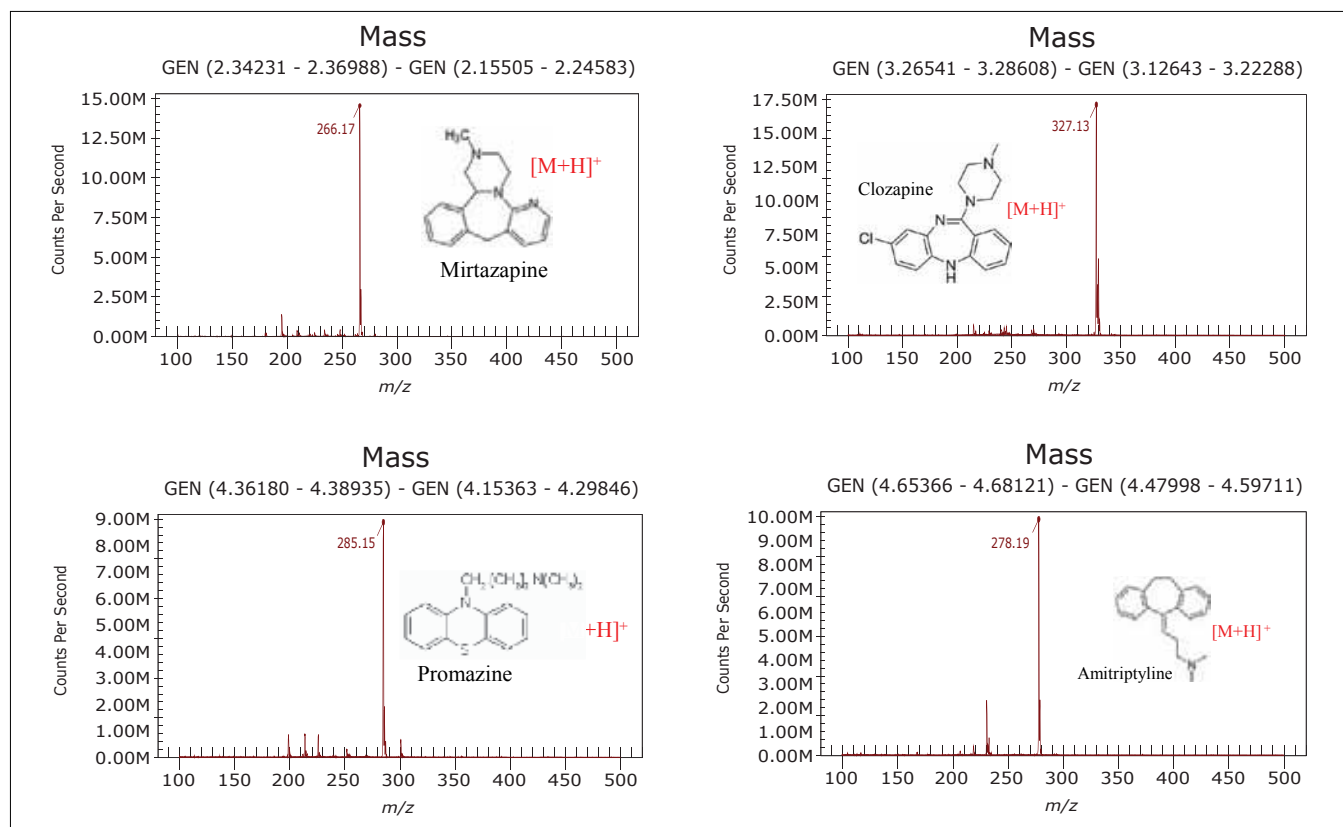


图1 扣除背景的APCI质谱图，混合物中每种抗抑郁化合物的质子化分子离子 $[M+H]^+$

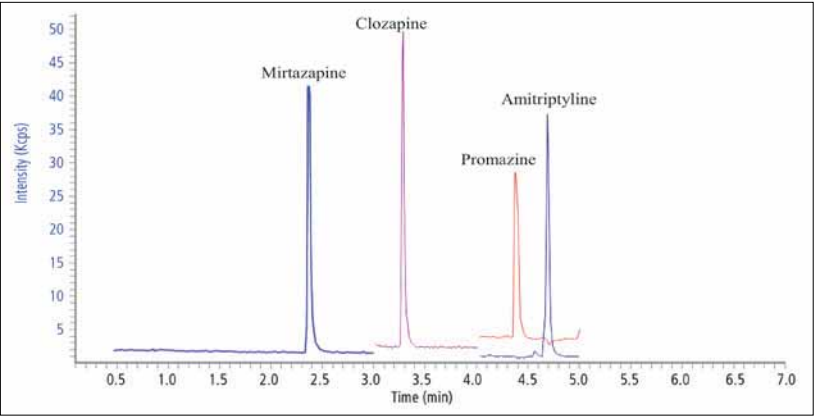


图2 10ng/mL标准溶液的SIM色谱图

结果

化合物鉴定

通过全扫描模式采集混合标准溶液的数据用来确定化合物的保留时间及主要的定性、定量离子。由采集的色谱图可知，4种被分析物均可得到基线分离，且确定了质子化的分子离子[M+H]<sup>+</sup>，扣除背景的谱图见图1所示。

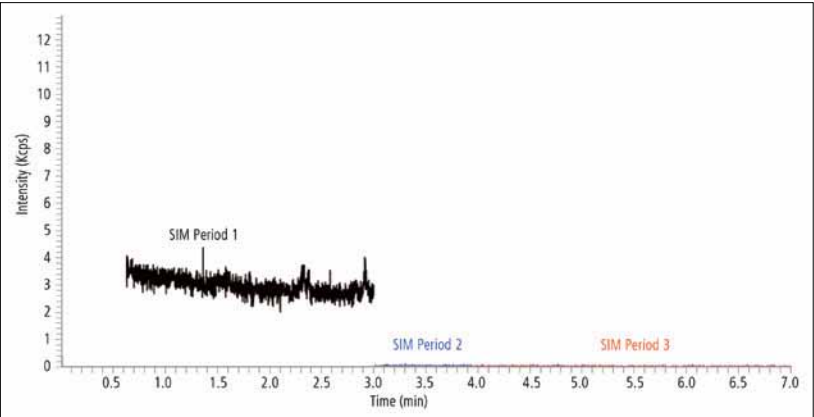


图3 空白人血浆样品的SIM色谱图

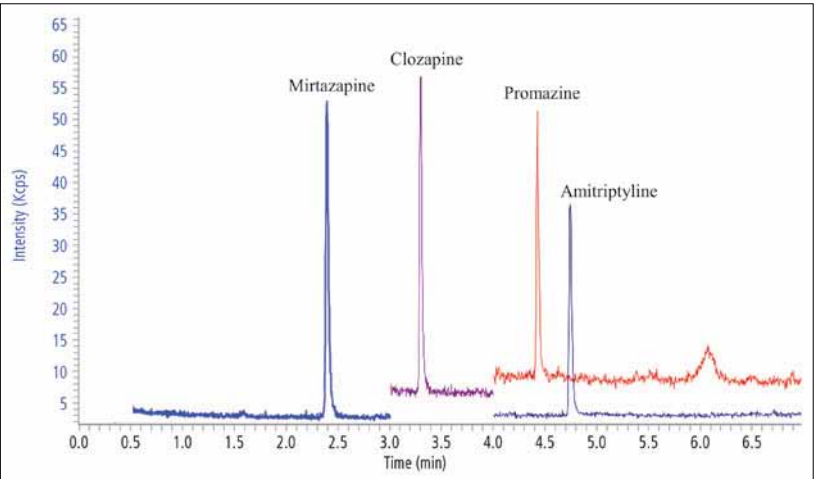


图4 抗抑郁药加标的人血浆样品色谱图 (10ng/mL)

全扫描用于优化LC和MS定量采集数据的参数，选择离子监测模式 (SIM) 用于提高分析方法的灵敏度。

校准和定量

利用PerkinElmer Chromera™色谱数据系统对浓度为1 ng/mL至100 ng/mL的混合标准溶液进行分析，建立标准曲线。每个浓度水平进样分析三次，所得标准曲线线性关系良好，其线性相关系数 $r^2 > 0.998$ 。检测限为0.5ng/mL (5:1 S/N rms)，典型标准溶液色谱图见图2所示。

人血浆样品中抗抑郁药的加标浓度与标准溶液浓度一致。按照上述样品制备方法制备样品后，使用LC/MS的SIM模式对样品进行分析。人血浆空白样品和加标样品的色谱图分别见图3和4。

被分析物的平均回收率结果表明（通过5个浓度计算），创建的分析方法能满足生物体液中治疗药物定量检测需求的灵敏度（表1）。

表1 血浆样品平均加标回收率 (1,5,10,50和100ng/mL)	
名称	平均加标回收率%
米氮平	93.6
氯氮平	92.7
丙嗪	90.2
阿米替林	92.8

## 结论

环状抗抑郁药是治疗神经系统疾病的一个重要选择, 尤其是抑郁症。治疗监测需要建立一种快速、简单、具有选择性、灵敏度高和准确的定性定量分析方法。

本研究中, 我们建立了大气压化学电离 (APCI) 与单四级杆质谱仪联用的LC/MS分析方法, 该方法能够解决人血浆中抗抑郁药物监测分析时所需要的操作简单及耐用问题。该方法线性关系良好, 人血浆样品加标回收率结果优异, 所有被分析物的最低检测限 (LOD) 能达到0.5 ng/mL, 这些结果表明我们能够满足人血浆中药代动力学剂量分析的检测限需求。

简单的样品制备结合快速、灵敏的LC/MS方法可用于血浆中各种其它治疗药物的监测分析。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司

地址: 上海 张江高科技园区 张衡路1670号

邮编: 201203

电话: 021-60645888

传真: 021-60645999

[www.perkinelmer.com.cn](http://www.perkinelmer.com.cn)



要获取全球办事处的完整列表, 请访问[http:// www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs](http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs)

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。