

LC-MS/MS 法定量测定人血浆中 CPRC-127 血药浓度

王博雅, 赵 芊, 江 骥, 胡 蓓

(中国医学科学院&中国协和医科大学, 北京协和医院, 临床药理研究中心, 北京 100730)

Quantitation of CPRC-127 in Human Plasma by LC-MS/MS

WANG Bo-ya, ZHAO Qian, JIANG Ji, HU Pei

(Clinical Pharmacology Research Center, Peking Union Medical College Hospital,

Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China)

Abstract: A sensitive liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometric(LC-MS/MS) method for the determination of CPRC-127 in human plasma was developed and validated. The plasma was extracted using a liquid-liquid phase extraction(LLE), and the sample extract was injected onto the LC-MS/MS system. The limit of quantitation(LLOQ) for CPRC-127 is $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. This method allows the reproducible and accurate quantification with the concentration range of $0.5\text{--}1\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. This method can be applied to the quantitation of CPRC-127 in human plasma.

Key words: CPRC-127; LC-MS/MS; quantitation

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0107-02

本研究建立定量分析人血浆中 CPRC-127 浓度的高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

API-4000 型三重串联四极杆质谱仪: 美国 Applied Biosystems 公司; 20A 型高效液相色谱仪: 日本岛津公司; Mettler AX-150 型十万分之一分析天平等。

待测物标准品 CPRC-127 (纯度 100%), 内标物质标准品 CPRC-IS (纯度按 100% 计), HPLC 分析所用甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.2 标准曲线的配制

以人空白血浆为基质, 配制标准曲线, 浓度分别为 0.5 、 1 、 2 、 10 、 50 、 100 、 500 、 800 和 $1\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 以及质控样品, 浓度为 1.5 、 150 和 $750 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.3 样品处理方法

取 $100 \mu\text{L}$ 血浆样品, 加入 $100 \mu\text{L}$ 含 $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ CPRC-IS 的水溶液, 混匀, 再加入 0.6 mL 乙酸乙酯, 充分振荡 1.5 min 后, $13\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 取 0.4 mL 上层有机相转移至玻璃管中, 在氮气吹干仪上 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴, 将样品吹干, 然后用 $400 \mu\text{L}$ $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=70:30$ 溶液复溶。振荡混匀 1 min 后, 取 $5 \mu\text{L}$ 进样。

1.4 测定条件

1.4.1 HPLC 条件 Atlantis 色谱柱 (4.6 m×100 mm×5 μm); 流动相: V(甲醇):V(水)=85:15; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为室温; 每一个样品分析用时 2.8 min; 进样量 5 μL。

1.4.2 串联质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 在正离子电离模式下, 选用多反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM) 的质谱扫描方式进行测定, CPRC-127 和 CPRC-IS (内标) 的母、子离子对的质荷比分别为: m/z 408.2→235.0 和 m/z 422.1→248.9。

1.5 方法学考核内容

按 SFDA 和本室生物样品定量分析的相关 SOP 对方法的特异性、标准曲线线性、最低定量限、批内和批间精密度/准确度和各种稳定性进行考核, 以评价该方法的可靠性。

2 结果与讨论

本方法的特异性良好, 人血浆中均不存在 CPRC-127 和 CPRC-IS 本底, 通道内也无其他杂质干扰其分离和测定。方法的最低定量限 (LLOQ) 为 0.5 μg·L⁻¹, 其在人血浆中的质量色谱图示于图 1。人血浆中 CPRC-127 在 0.5~1 000 μg·L⁻¹ 范围内, 其浓度与响应值之间具有良好的相关性, 全部标准曲线的相关系数 (r) 均在 0.990-1.000 之间, 典型的标准曲线示于图 2。方法的日内和日间精密度, 准确度符合要求 (RSD% ≤ 15%、RE% ≤ ±15%)。

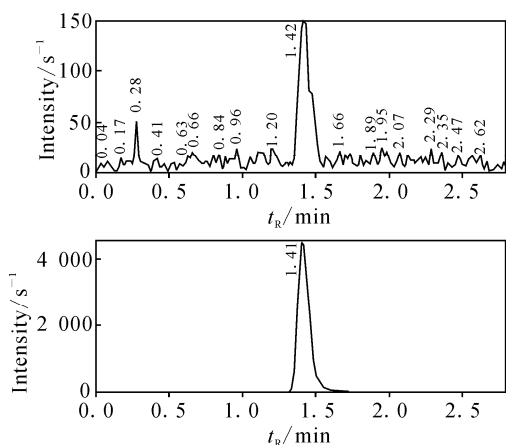


图 1 定量下限血浆样本的质量色谱图

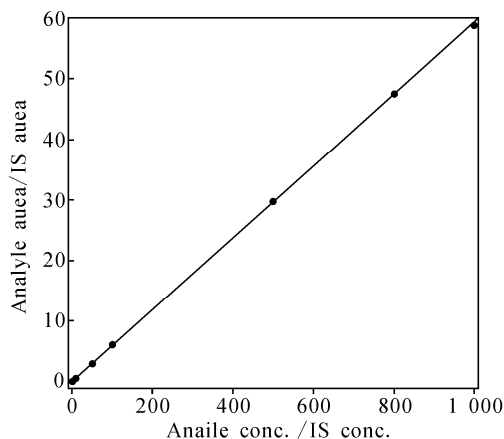


图 2 CPRC-127 的典型血浆标准曲线

3 小结

本研究建立了定量测定人血浆中 CPRC-127 浓度的 HPLC-MS/MS 法, 该方法灵敏度高、特异性强, 且各项考核结果均符合 SFDA 及本实验室相关 SOP 的要求, 满足了准确测定人血浆中 CPRC-127 浓度的要求, 可以提供准确可靠的分析结果。

参考文献:

- [1] BERGMAN A J, STEVENS C, ZHOU Y Y, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of multiple oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study in healthy male volunteers[J]. Clinical Therapeutics, 2006, 28: 55-72.