

SCIEX Triple Quad™ LC-MS/MS系统检测血清样本中6种抗精神病药物

Determination of Six Antiepileptic Drugs in Serum by SCIEX Triple Quad™ System

黄超, 李国庆

Huang Chao, Li Guoqing

SCIEX中国, 临床事业部

SCIEX China, Clinical Business Unit

Keywords: serum, topiramate, lamotrigine, 10-hydroxycarbamazepine, phenytoin, carbamazepine, oxcarbazepine

引言

癫痫即俗称的“羊角风”或“羊癫风”，全球约有五千万患者，我国患病率约为4%~7%，死亡率为一般人群的2~3倍。癫痫患者大多需要长期服用抗癫痫药物来控制病情，有些患者甚至要终身服药。临床实践中，癫痫治疗常发现同样剂量的药物用于不同病人，其疗效往往相差很大，有的表现为药到病除，疾病得到控制；有的疗效一般，病况稍见好转；而有的却疗效不好，甚至出现了毒副作用。这些表明癫痫的治疗过程中，需要对血药浓度进行检测，以进行个体化用药。

本文报道了一种基于蛋白沉淀的，一针进样同时分析托吡酯（topiramate, TBZ）、卡马西平（carbamazepine, KMX）、苯妥英钠（phenytoin, BTYN）、拉莫三嗪（lamotrigine, LMSQ）、奥卡西平（oxcarbazepine, OCR）和10羟基卡马西平（10-hydroxycarbamazepine, MHD）的抗癫痫药物的LC-MS/MS分析方法，该法操作简单，保留时间较短，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

样品处理：取50 μL 空白血清加入50 μL 甲醇乙腈溶液（1:1，V/V，下同）和400 μL含内标的甲醇乙腈溶液，1000 r/min涡旋5 min后，15,000 r/min离心5min。取50 μL上清液加入450 μL纯水混合均匀，进行LC-MS/MS分析。

色谱条件：色谱柱使用Phenomenex kinetex C18 column (100 × 3.0 mm, 2.6 μm) 进行分离，流动相选用水（5mM乙酸铵）作为A相，甲醇作为B相，柱温设为40 °C。进样量为12 μL，进行梯度洗脱，液相梯度见表1。

表1. 液相梯度洗脱条件。

时间 (min)	流速 (mL/min)	A %	B %
0.00	0.6	95	5
0.30	0.6	95	5
0.80	0.6	70	30
3.50	0.6	5	95
4.50	0.6	5	95
4.60	0.6	95	5
5.60	0.6	95	5

质谱条件：使用SCIEX Triple Quad质谱系统。采用电喷雾离子源和多反应监测模式进行质谱扫描。离子源参数：加热气为50 psi，辅助加热气为50 psi，脱溶剂气温度为500 °C，气帘气为30 psi，碰撞气为medium。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，离子对信息见表2。

表2. 抗生素及内标物MRM离子通道参数。

化合物ID	Q1	Q3	驻留时间 Dwell Time (msec)	去簇 电压 DP (V)	碰撞 电压 CE (V)
托吡酯	340.2	264	8	74	12
	340.2	184	8	83	19
拉莫三嗪	256.1	211.1	8	128	25
	256.1	157.0	8	125	40
10羟基卡马西平	255.0	194.1	8	59	16
	255.0	179.2	8	59	50
苯妥英	253.2	182.2	8	80	23
奥卡西平	253.1	180	8	90	43
卡马西平	237.1	194.2	8	99	14
托吡酯-D12	352.2	270.1	8	71	12
拉莫三嗪- ¹³ C, ¹⁵ N4	261.1	214.1	8	132	38
10羟基卡马西平- ¹³ C6	261.1	200.1	8	56	31
苯妥英-D10	263.2	192.1	8	80	27
奥卡西平-D8	261.2	188.1	8	98	43
卡马西平- ¹³ C6	243.2	200.1	8	100	28

结果与讨论

图1为空白血清样本卡托吡酯、卡马西平、苯妥英钠、拉莫三嗪、奥卡西平和10羟基卡马西平的提取离子流图，可以看出出峰位置无干扰，专属性良好。

图2显示了以空白血清为基质，托吡酯、卡马西平、苯妥英钠、拉莫三嗪、奥卡西平和10羟基卡马西平在定量下限的提取离子流图。

6种抗癫痫药物的回归方程见图3，所有化合物线性良好， r 均大于0.995。6种化合物中奥卡西平的线性范围为0.001-0.4 $\mu\text{g/mL}$ ，其他均为0.05-20 $\mu\text{g/mL}$ 。

为了考察方法的重现性及准确性，分别进行了六种抗癫痫药物的精密度和准确度方法验证。从表3可以看出，六种化合物的低、中、高浓度的精密密度（CV）均在1.30~7.87%以内，准确度均在92.83~113.40%之内。

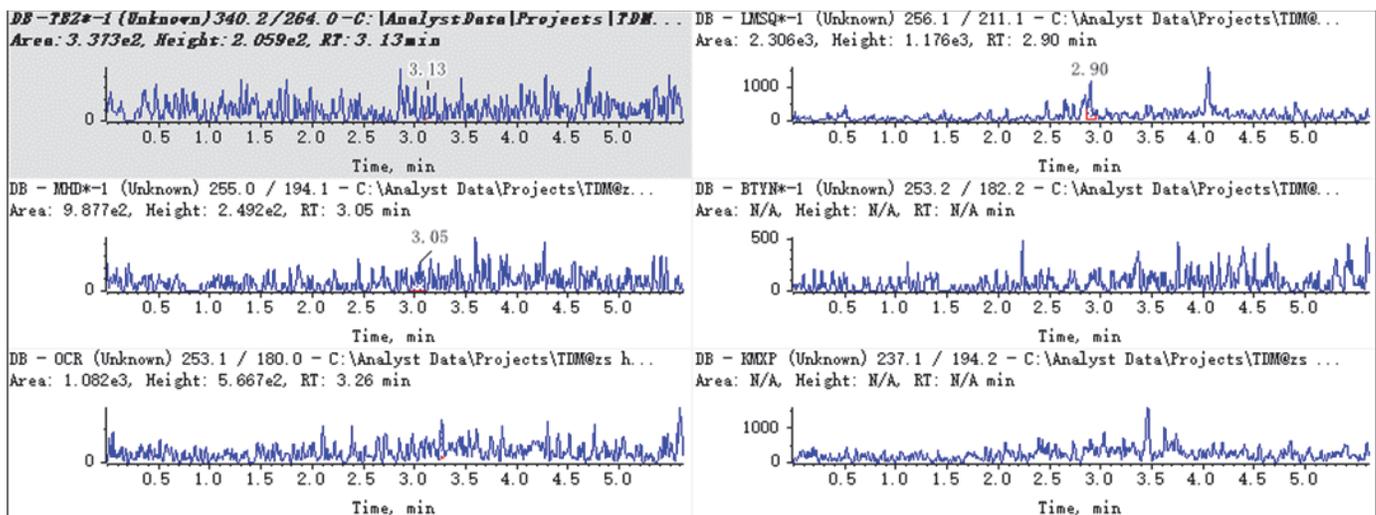


图1. 空白血清样本提取离子流图。

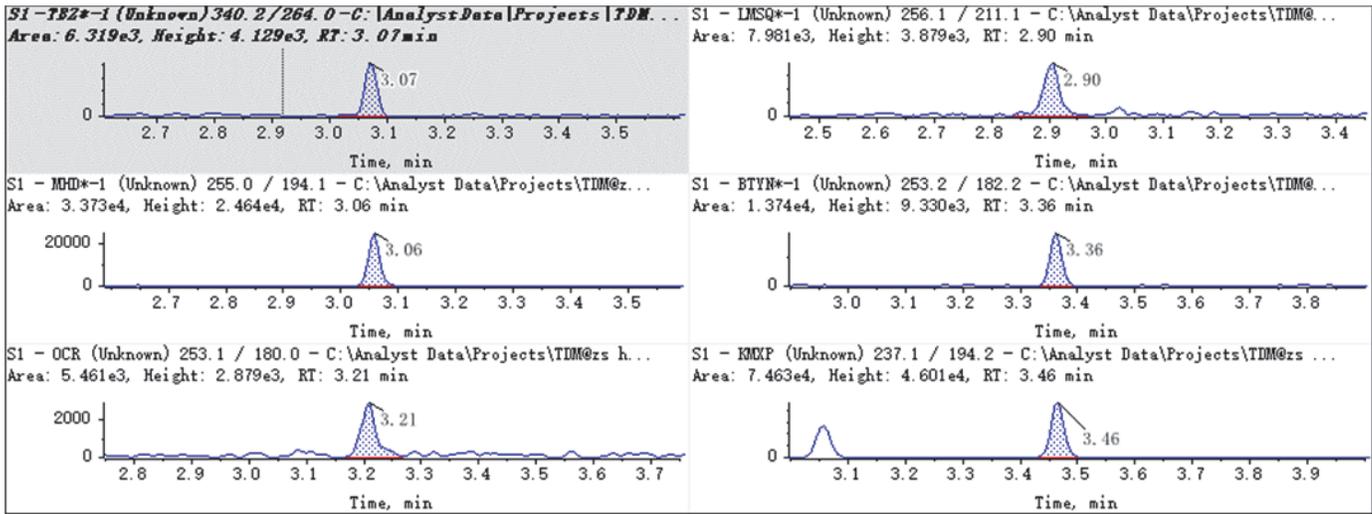


图2. 抗癫痫药定量下限提取离子流图。

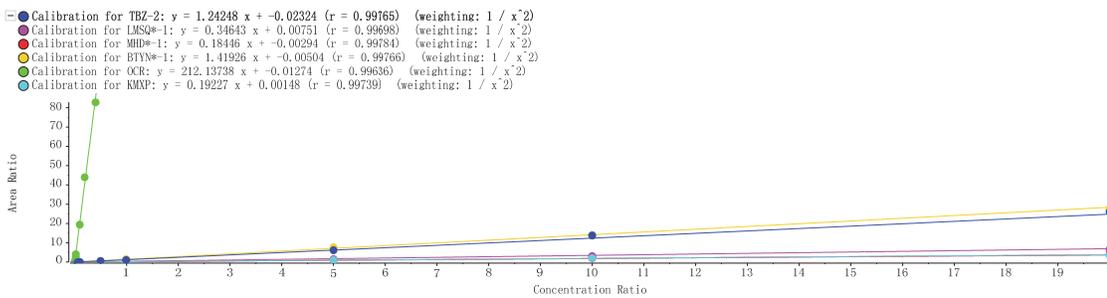


图3. 抗癫痫药标准曲线。

表3. 6种抗癫痫药物的准确度及精密度结果。

化合物名称	实际浓度 (µg/mL)	检测浓度 (µg/mL)	RSD %	Accuracy %	化合物名称	实际浓度 (µg/mL)	检测浓度 (µg/mL)	RSD %	Accuracy %
托吡酯	1	1.13	2.43	112.63	拉莫三嗪	1	1.11	5.83	110.70
	6	5.86	4.50	97.65		6	6.33	2.20	105.53
	12	12.82	3.52	106.79		12	12.35	4.32	102.92
卡马西平	1	1.13	7.18	113.40	奥卡西平	0.02	0.022	3.71	110.00
	6	5.82	1.30	97.08		0.12	0.13	1.45	108.06
	12	11.57	2.05	96.45		0.24	0.23	7.87	94.17
苯妥英	1	1.11	3.68	110.50	10羟基卡马西平	1	0.93	7.35	92.83
	6	5.80	4.87	96.59		6	5.80	4.39	96.59
	12	11.88	5.20	98.96		12	13.02	4.00	108.46

总结

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，实现了同时检测人血清中托吡酯、卡马西平、苯妥英钠、拉莫三嗪、奥卡西平和10羟基卡马西平的浓度。所有化合物出峰位置无干扰，专属性良好；线性良好（ $r > 0.995$ ）；准确度（92.83~113.40%）和精密度（1.30~7.87%）满足方法学要求。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料

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。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12063-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：[ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)