

基于SCIEX LC-MS/MS系统对血浆中米托坦药物的浓度检测

Detection of mitotane in plasma by SCIEX LC-MS/MS System

陈炎, 黄超, 赵祥龙, 郭立海

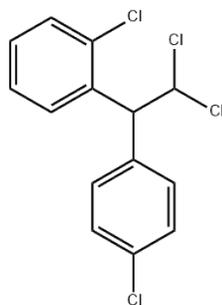
Chen Yan, Huang Chao, Zhao Xianglong, Guo Lihai

Keywords: Mitotane; Plasma

引言

肾上腺皮质癌 (Adrenal cortical carcinoma, ACC) 是肾上腺的恶性肿瘤, 年发病率在0.5~2.0/100万。对于ACC的治疗, 手术切除为首选方法, 但对于已发生转移或术后复发的ACC患者则需要进行药物治疗和放疗, 而米托坦 (Mitotane) 是美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 和欧洲药品管理局 (European Medicines Agency, EMA) 唯一批准适用的肾上腺皮质癌治疗的药品。对应用此治疗的ACC患者来说, 必须进行药物浓度检测 (Therapeutic drug monitoring, TDM), 并且根据监控结果调整用药剂量, 使其血药浓度维持在14~20mg/L的治疗窗内¹。

目前, 米托坦的检测方法多为液相色谱-紫外检测法LC-UV/DAD², 因其专属性差的问题, 也有开发了GC-MS的检测方法用于血药浓度检测³。但不论对于LC-UV/DAD方法还是GC-MS方法, 从便捷性来讲, LC-MS/MS的方法建立, 可以在兼顾方法专属性的同时, 也能进行肾上腺皮质癌相关固醇类物质的检测, 从而减少工作量, 提高效率。但是米托坦因为其结构不易带电, LC-MS/MS的方法建立一直是个难题。



Mitotane C₁₄H₁₀Cl₄

本方案基于SCIEX液相色谱串联质谱系统, 采用蛋白沉淀法, 对血浆中的米托坦进行了精确定量和分析。通过对方法灵敏度、线性、准确度和精密度进行了系统验证, 确定该方案可为临床中米托坦血药浓度检测提供方法参考和数据支持。

实验部分

1. 样品前处理:

准确量取60 μL血浆样品于1.5 mL离心管中, 加入10 μL石胆酸-d₄ (Lithocholic acid-d₄, LCA-d₄) 做为内标, 然后加入异丙醇:甲醇 (1:2, v:v) 溶液, 涡旋混匀1 min, 4 °C 14000 r/min离心5 min, 离心后取上清, 待LC-MS/MS分析。

2. 色谱质谱条件:

色谱条件:

色谱柱: Kinetex 2.6 μm C18, 50 × 3mm,

流动相: A: 含氟化铵水溶液, B: 甲醇溶液,

柱温: 35°C, 梯度洗脱, 液相梯度见表1。

表1. 色谱柱液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.0	70	30
1.0	70	30
2.0	20	80
4.0	20	80
4.5	0	100
6.0	0	100
6.1	70	30
7.0	70	30

质谱条件：LC-UV-MS/MS，ESI源

气帘气 CUR : 30 psi 碰撞气 CAD : Medium

雾化气 GS1 : 40 psi 辅助气 GS2 : 60 psi

IS电压 : -4500 V 源温度 TEM : 600°C

化合物质谱参数见表2

表2. 目标组分的质谱参数

分析物	Q1	Q3	Dwell time	ID	DP	CE
米托坦 (Mitotane)	278.8	243.0*	100	mitotane-1	-70	-23
	280.9	242.9	100	mitotane-2	-70	-23
石胆酸-d ₄ (LCA-d ₄)	379.3	379.3	100	LCA-d ₄	-210	-23

* 定量离子

结果与讨论

1. 灵敏度

以空白血浆为基质，考察米托坦的线性范围最低点灵敏度和峰形情况，结果表明化合物灵敏度高、峰形良好，特征图谱见图2。

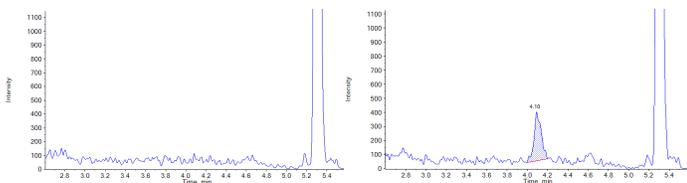


图2. 空白血浆（左）和米托坦典型图谱（右）

2. 线性

以未服药血浆为基质，配制混合标曲溶液，按上述前处理步骤

表3. 线性、加标回收率和精密度实验结果

中文名	工作曲线	r	添加0.4 µg/mL			添加20 µg/mL		
			回收率	批内RSD	批间RSD	回收率	批内RSD	批间RSD
米托坦	y=0.02672x+0.00177	0.99924	105.2	4.4-9.7	6.2	106.3	3.7-6.6	5.3

进行处理，制作标准工作曲线。表3显示，米托坦在0.2~40 µg/mL均具有良好的线性，其回归系数r > 0.999。

3. 准确度和精密度

为了考察该检测方法的准确性和精密度，向血浆中添加低、高两个浓度的工作溶液计算加标回收率，表3显示，不同浓度水平的加标回收率在97.4~103.8%之间，回收率良好。另，不同浓度水平的批内RSD为3.7~9.7%，批间RSD为5.3%~6.2%，精密度良好。

4. 血浆样本检测

在本方法条件下，化合物在出峰位置峰形对称，响应良好。也可以实现基线分离，实际血浆样本中米托坦的色谱图如图3。

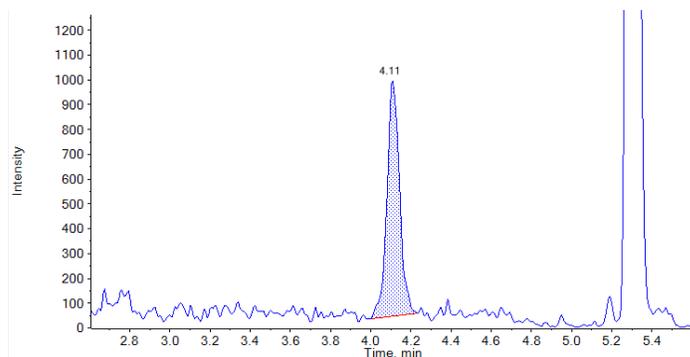


图3. 血浆中米托坦色谱图

总结

本方案基于SCIEX Triple Quad™系统，建立了血浆中米托坦含量测定的LC-MS/MS方法，实现了比传统UV更好的检出限，且分析物出峰位置无明显干扰。该方法前处理简便快捷，实现了临床患者体液中米托坦药物浓度检测需求，为肾上腺皮质癌患者提供精准药物浓度水平信息。

参考文献

- [1] 北京协和医院罕见病多学科协作组. "米托坦治疗肾上腺皮质癌专家共识(2021)." 协和医学杂志 (2021).
- [2] D, Madhu B. Garg A, J. A. S. A. C. D, and S. P. A. A. B. D. "A simple HPLC method for plasma level monitoring of mitotane and its two main metabolites in adrenocortical cancer patients." Journal of Chromatography B 879. 23(2011):2201-2205.
- [3] Ando, M. , et al. "A simplified method for therapeutic drug monitoring of mitotane by gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry." Biomedical chromatography : BMC 34.3(2020):e4776.

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。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-28051-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

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](#)