

β 2受体激动剂类吸入粉雾剂化合物LC-MRM定量灵敏度的提高

Improved LC-MRM Quantification Sensitivity for Powder for Inhalation from the Beta2 Agonist Family

钟晨春, 龙志敏

SCIEX中国, 应用支持中心

Key Words: Quantification, Indacaterol, Olodacaterol, Beta2 Agonist, Inhalation, MRM, Triple Quad

慢性阻塞性肺疾病（简称：慢阻肺）是世界卫生组织（WHO）列出的全球五大慢性非传染性疾病之一¹。数据显示，我国慢阻肺患病人数近一亿，但在知晓率和诊断率方面仍远不理想，规范性治疗方面也有巨大提升空间²。支气管舒张剂是慢阻肺症状管理的中心²，能够有效改善肺功能、提高生活质量。其中，长效 β 2受体激动剂（LABA）和长效胆碱能受体拮抗剂（LAMA）是两种常用的吸入型支气管扩张剂，可以显著改善患者肺功能、呼吸困难、健康状况，并降低急性加重发生率³。由于药效活性优异，这些化合物通常给药剂量相对较低，给药后人体血中药物浓度最大值（C_{max}）约为200-300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ⁴，准确定量对体内暴露水平测定和动态变化过程评价的要求很高，需要检测仪器有极高的灵敏度。在以往的测定中需要尽量提高进样体积以及严苛的前处理过程来达到测定的需求，费时费力。

在本项研究中，选择了来自 β 2受体激动剂类的两个化合物：茛达特罗（Indacaterol）和奥达特罗（Olodacaterol）作为模型化

合物用于质谱定量灵敏度性能测试。测试结果发现，在10 μL 体积进样的情况下，茛达特罗和奥达特罗在血浆中的定量限为5和0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在获得优异灵敏度的同时，出色的分析重现性、准确性和定量线性使得整个分析流程更加可靠。

实验方法

样品前处理: 1 mL空白血浆经过3 mL乙腈溶液沉淀处理后，上清加入10 mL纯水稀释，全部稀释后的溶液经过活化好的固相萃取小柱处理后，用1 mL 50%乙腈水溶液等洗脱，洗脱液作为处理过的血浆基质溶液。茛达特罗和奥达特罗标准物质加入处理过后的血浆基质。通过用处理过后的血浆进行连续稀释制备标准曲线样品用于分析。

液质联用条件: 样品通过串联ExionLC™系统的SCIEX三重四级杆质谱系统进行三次平行分析。详尽方法列于表1和2。

数据处理: 数据通过SCIEX OS软件 2.0中的定量功能（点击“Analytics”）进行处理。

表1. 色谱条件

参数	数值
色谱柱	Welch Ultimate XB-C18 (5 μm , 50 \times 2.1 mm)
流动相A	含10 mM碳酸氢铵的水
流动相B	乙腈
流速	1 mL/min
柱温	40 $^{\circ}\text{C}$
进样体积	10 μL

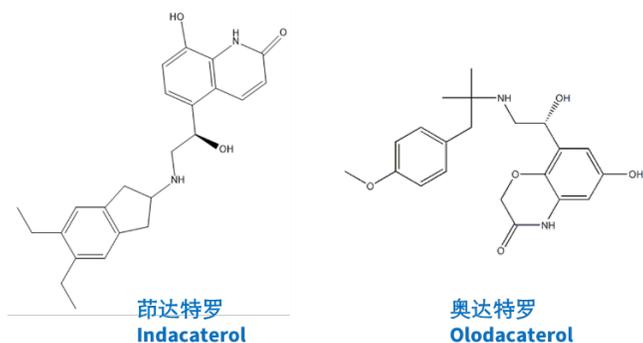


图1. 茛达特罗和奥达特罗的化合物结构。

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	80	20
1.5	30	70
1.6	5	95
2.2	5	95
2.3	80	20
3	80	20

表2. SCIEX 7500系统的质谱参数

参数	数值	参数	数值
气帘气	38 psi	源温度	400 °C
雾化气	25 psi	辅助气	70 psi
碰撞诱导解离气	11	离子喷雾电压	3000 V

名称	Q1	Q3	碰撞能量	碰撞池出口电压
茛达特罗	393.2	173.1	34	9
奥达特罗	387.0	121.1	48	15

β2受体激动剂类化合物定量结果

通过对液质联用分析条件的优化，获得化合物检测的良好灵敏度。

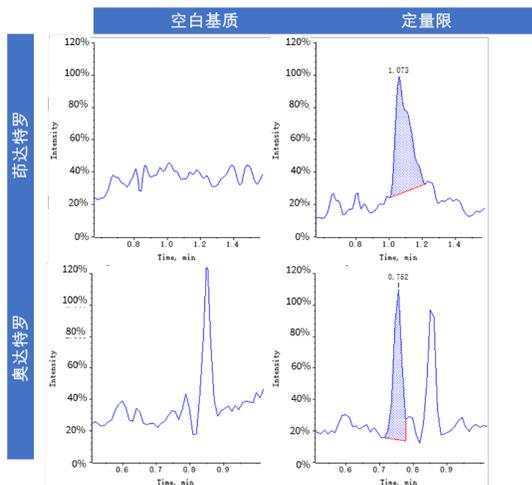


图2. 血浆中典型的茛达特罗和奥达特罗 MRM提取离子流图。

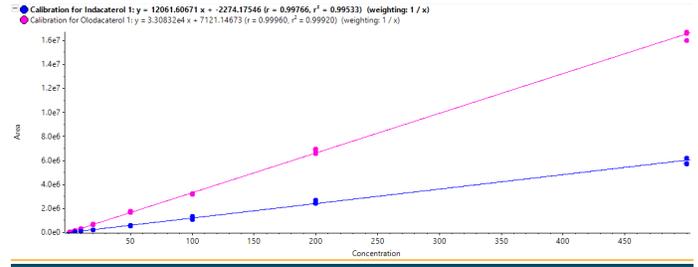


图3. 血浆中茛达特罗和奥达特罗5-500 pg/mL、0.5-500 pg/mL的标准曲线

Row	Component N...	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy
1	Indacaterol 1	5.00	3 of 3	4.58	0.20	4.29	91.57
2	Indacaterol 1	10.00	3 of 3	9.61	0.51	5.33	96.07
3	Indacaterol 1	20.00	3 of 3	21.04	0.60	2.84	105.18
4	Indacaterol 1	50.00	3 of 3	51.92	2.47	4.75	103.84
5	Indacaterol 1	100.00	3 of 3	104.90	5.50	5.24	104.90
6	Indacaterol 1	200.00	3 of 3	199.49	3.58	1.79	99.74
7	Indacaterol 1	500.00	3 of 3	493.47	13.54	2.74	98.69

Row	Component N...	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy
1	Olodaterol 1	0.50	3 of 3	0.49	0.01	2.69	97.00
2	Olodaterol 1	1.00	3 of 3	0.95	0.04	4.13	95.14
3	Olodaterol 1	2.00	3 of 3	2.10	0.04	2.07	104.84
4	Olodaterol 1	5.00	3 of 3	5.09	0.19	3.65	101.86
5	Olodaterol 1	10.00	3 of 3	9.75	0.17	1.73	97.47
6	Olodaterol 1	20.00	3 of 3	20.38	0.45	2.20	101.91
7	Olodaterol 1	50.00	3 of 3	51.81	1.00	1.94	103.63
8	Olodaterol 1	100.00	3 of 3	96.31	1.07	1.11	96.31
9	Olodaterol 1	200.00	3 of 3	205.07	5.65	2.75	102.54
10	Olodaterol 1	500.00	3 of 3	496.55	11.18	2.25	99.31

图4. 血浆中茛达特罗和奥达特罗的定量信息总结

如图2、图3和图4所示，在血浆中茛达特罗和奥达特罗的定量下限为5和0.5 pg/mL，在整个定量范围（5-500 pg/mL和0.5-500 pg/mL）内重现性差异小（CV<5.33%和<4.13%），准确度高（89-111%和91-107%）。500 pg/mL为此样品配制的最高浓度，但由于100 ng/mL并未出现信号饱和，故定量上限可能更高。

结论

- 本文在SCIEX三重四极杆质谱系统上建立了β2受体激动剂类化合物定量的方法，该方法灵敏度高。
- 茛达特罗和奥达特罗在血浆中的定量下限为5和0.5 pg/mL，分析方法重现性、准确度、定量线性良好。
- SCIEX三重四极杆质谱系统为高活性药物分子的生物样本分析工作提供了准确可靠的分析平台。

参考文献

1. <https://www.who.int/ncds/en>.
2. Wang C, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study[J]. Lancet. 2018, 391(10131):1706-1717.
3. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease 2020 report[J]. <https://goldcopd.org/gold-reports/>
4. Vaidya S, et al. Pharmacokinetics of indacaterol, glycopyrronium and mometasone furoate following once-daily inhalation as a combination in healthy subjects. Pulm Pharmacol Ther 2020 10;64.

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。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13481-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：SCIEX-China