

SCIEX Triple Quad™ 系统定量分析血浆中阿兹夫定

Quantitative Analysis of Azvudine in Plasma by SCIEX Triple Quad™ System

陈俊苗, 司丹丹, 龙志敏

Junmiao Chen, Dandan Si, Zhimin Long

SCIEX应用技术中心, 中国

SCIEX, China

关键词: SCIEX Triple Quad™ system, Azvudine, Plasma, Quantitative analysis

前言

阿兹夫定是一种新型核苷类逆转录酶和辅助蛋白抑制剂, 化学名为1-(4-叠氮-2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃核糖基)胞嘧啶。研究表明阿兹夫定对多种病毒有抑制作用, 包括乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)和艾滋病毒(HIV)等^[1]。同时在2020年发现其可以抗新冠病毒(COVID-19)后, 其在2022年7月批准为中国首个抗新冠病毒自主研发药物。

阿兹夫定作为艾滋病用药口服剂量仅1 mg每天, 作为抗新冠口服药用量也只有5mg每天, 其在血浆中达峰浓度C_{max}在1 ng/mL到5 ng/mL, 另外由于阿兹夫定极性较大, 含有叠氮基团等都给它的血浆样本分析带来一定难度。本方法采用蛋白沉淀再吹干复溶的方式进行前处理, 通过 SCIEX Triple Quad™ 系统对大鼠血浆中的阿兹夫定进行定量, 定量限(LLOQ)为10 pg/mL, 方法特点如下:

1. 使用SCIEX Triple Quad™ 系统, 能够实现快速分析、操作简单, 同时获得检测灵敏度高的 LC-MS/MS方法。
2. 大鼠血浆基质中的检测灵敏度高, 可达到pg/mL级别, 较宽的线性范围以及良好的定量重现性。
3. SCIEX OS软件为数据采集、处理和管理提供了一个用户友好的界面和一个单一的合规平台, 从而提高了数据采集和数据处理效率。

实验方法

1. 样品制备:

取100 μl含有阿兹夫定标品范围10 pg/ml-5 ng/ml的血浆标曲, 加入500 μl纯甲醇(提前在-20°C放置30 min预冷), 涡旋混合30 s, 15000 rpm转速下4°C离心15 min。取全部上清氮气吹干, 用50%甲醇水含0.1%甲酸溶液200 μl溶解后进液质分析。

2. 液相条件

液相: LC 30AD液相系统

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 (100 × 3 mm, 2.6 μm)

流动相: A: 水; B: 乙腈

流速: 0.3 ml/min

柱温: 40°C

进样体积: 5 μL

洗针液: 甲醇:水, 1:1

梯度洗脱, 洗脱程序如表1:

表1. 液相梯度条件

时间 (min)	A%	B%
0	95	5
3	50	50
4	5	95
5	5	95
5.1	95	5
7	95	5

3. 质谱条件

SCIEX Triple Quad™ 系统

数据采集方法：MRM (多反应监测)

离子源：ESI源，正离子模式

离子源参数：

IS电压：5500 V 气帘气 CUR: 30 psi

碰撞气 CAD: 8 雾化气 GS1: 45 psi

辅助气 GS2: 50 psi 源温度 TEM: 500 °C

多反应监测离子通道如表2:

表2. 阿兹夫定MRM离子对信息

化合物	母离子 Q1 (m/z)	子离子 Q3 (m/z)	去簇电压 DP (V)	碰撞电压 CE (V)
AZVD-1	287.2	112.0	30	19
AZVD-2	287.2	95.0	30	57

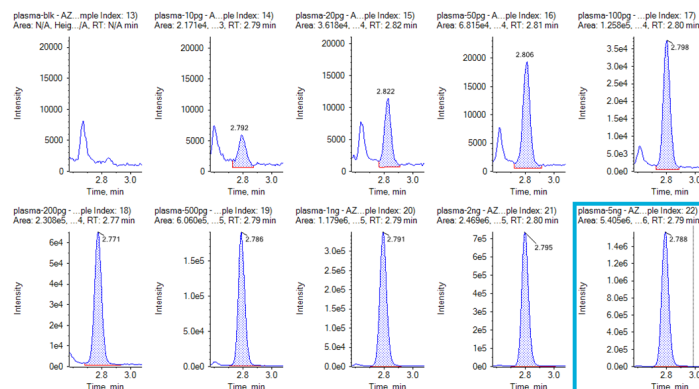


图1. 阿兹夫定在空白血浆、10 pg/mL到5 ng/mL标曲点的峰图信息。

Index	Sample Na...	Sample...	Component Name	Mass Info	Actual Conco...	Area	Retenti... Time	Us	Calculated Concentra...	Accuracy
1	plasma-blk	Unknown	AZVD-1	287.1 / 112.0	N/A	N/A	N/A	<input type="checkbox"/>	N/A	N/A
3	plasma-10pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	10.00	2.171e4	2.79	<input type="checkbox"/>	8.46	84.58
5	plasma-20pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	20.00	3.618e4	2.82	<input type="checkbox"/>	21.27	106.33
7	plasma-50pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	50.00	6.815e4	2.81	<input type="checkbox"/>	49.57	99.13
9	plasma-100pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	100.00	1.258e5	2.80	<input type="checkbox"/>	100.57	100.57
11	plasma-200pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	200.00	2.308e5	2.77	<input type="checkbox"/>	193.51	96.75
13	plasma-500pg	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	500.00	6.060e5	2.79	<input type="checkbox"/>	525.63	105.13
15	plasma-1ng	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	1000.00	1.179e6	2.79	<input type="checkbox"/>	1033.24	103.32
17	plasma-2ng	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	2000.00	2.469e6	2.80	<input type="checkbox"/>	2174.40	108.72
19	plasma-5ng	Standard	AZVD-1	287.1 / 112.0	5000.00	5.405e6	2.79	<input type="checkbox"/>	4773.36	95.47

Calibration for AZVD-1: $y = 1129.70143x + 12156.93491$ ($r = 0.99832$, $r^2 = 0.99665$) (weighting: 1 / x)

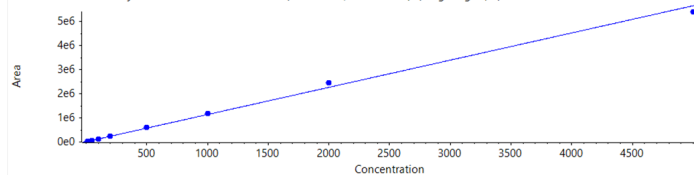


图2. 阿兹夫定血浆基质线性范围10 pg/mL~5 ng/mL, 线性相关系数 r=0.998

实验结果

灵敏度和线性

本实验采用蛋白沉淀再氮吹复溶的方式进行大鼠血浆前处理，方法简单通量高。通过 SCIEX Triple Quad™ 系统对大鼠血浆中的阿兹夫定进行直接定量，定量下限 (LLOQ) 可达10 pg/mL (图2)，方法选择性好，灵敏度高。阿兹夫定的回归方程和线性范围见图2，在10~5000 pg/mL的浓度范围内线性关系良好。

重现性和准确性

为了考察仪器的重现性及准确性，将处理好的低浓度样品10 pg/mL进行重现性考察。在LLOQ浓度下的精密度 (RSD) 2.6%，准确度均在80-120%之内。

结论

本方案采用蛋白沉淀再吹干复溶的方式进行血浆样品前处理，通过 SCIEX Triple Quad™ 系统对大鼠血浆中的阿兹夫定进行直

接定量。该LC-MS/MS检测方法灵敏度高，特异性好，空白血浆无干扰。该方法定量限 (LOQ) 可达到10 pg/mL，在10~5000 pg/mL的浓度范围内线性良好，且具有较好的重现性和准确度 (RSD < 5%)。整个方法具有操作简单，可快速分析的优点，具有较高的分析通量，可为血浆基质中阿兹夫定的定量提供参考。

参考文献

1. Youmei Peng, Tiefeng Cheng, Lihong Dong, Junbiao Chang, Qingduan Wang. Quantification of 2-deoxy-2-beta-fluoro-4-azidocytidine in rat and dog plasma using liquid chromatography-quadrupole time-of-flight and liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry: Application to bioavailability and pharmacokinetic studies. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 98 (2014) 379–386.

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. RUO-MKT-02-15550-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：021-2419-7201
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](#)