

血浆中司美格鲁肽与替尔泊肽的测定

王姣

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 激动剂被认为是未来几年最具市场增长潜力的一类糖尿病药物。司美格鲁肽 (Semaglutide, 又称索马鲁肽) 和替尔泊肽 (Tirzepatide, 又称替西帕肽), 作为新一代的GLP-1药物, 不仅可以刺激体内胰岛素的释放, 有效地控制血糖水平, 同时可以抑制胃肠蠕动, 增加饱腹感, 抑制食欲。它们在降糖、减重、心血管收益、安全性等方面均展现出良好的临床优势。本文建立了一种血浆中索马鲁肽和替尔泊肽药物的测定方法, 为药物安全性和治疗效果的进一步研究提供科学依据。

关键词

多肽; Peptide-3-MW; Aerie peptide XB-C18;
LC-MS/MS

化合物信息

表1. 化合物信息

名称	英文名	分子量	结构式
索马鲁肽	Semaglutide	4113.57	$C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$
替尔泊肽	Tirzepatide	4813.45	$C_{225}H_{348}N_{48}O_{68}$

实验部分

3.1 仪器、试剂与材料

3.1.1 主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪(AB SCIEX Triple Quad™6500), 配有电喷雾离子源(ESI);
96孔正压装置(Agela Cleanert M96);

3.1.2 试剂材料

96孔板: Peptide-3-MW (5mg/1mL/Well,
2ea/pk)

屈臣氏蒸馏水, 甲醇、甲酸、乙醇均为色谱级。

3.1.3 样品基质

EDTA抗凝大牛血浆

3.2 样品前处理方法

预处理: 200 μ L血浆, 加入400 μ L甲醇蛋白沉淀, 15000g/5min 离心取500 μ L上清, 再加入400 μ L水稀释, 涡旋混匀, 待净化;

活化: 96孔板依次使用 200 μ L甲醇、200 μ L水活化;

上样: 加载预处理后的血浆至活化后微孔板;

淋洗: 使用500 μ L水淋洗微孔板;

洗脱: 用50 μ L洗脱液 (5%甲酸 乙醇: 水=4:1)
洗脱2次, 涡旋混合, 待检测

3.3 仪器检测条件

3.3.1 色谱条件

色谱柱: Aerie peptide XB-C18 (2.1 $\times$ 100 mm, 2.6 μ m); P/N: 00D-4505-AN

流动相A相: 0.1%甲酸水溶液;

流动相B相: 0.1%甲酸乙腈溶液;

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 40 $^{\circ}$ C;

进样量: 5 μ L;

梯度程序见表2:

表2. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	B (%)
0	0.3	30
0.5	0.3	30
3.0	0.3	65
3.5	0.3	65
4.0	0.3	98
5.5	0.3	98
5.6	0.3	30
7.0	0.3	30



3.3.2质谱条件

- 离子源类型：电喷雾离子源（ESI+）
- 扫描方式：多反应监测正负离子模式（MRM）
- 喷雾针电压：5500 V
- 离子源温度：450 ℃
- 加热器（GS1）：60 psi
- 辅助加热气（GS2）：60 psi
- 气帘气（CUR）：30 psi
- 碰撞气（CAD）：High

为获得较好的稳定和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压（DP）和碰撞电压（CE），目标化合物定量离子对以及内标监测离子对等参数均需经过系统优化。本案例参数仅供参考不具备法律效力。

表3. 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
Semaglutide	1029.3	1238.5	40	41
	1029.3	1110.3	40	39
	1029.3	690.2	40	39
	1029.3	960.5	40	52
Tirzepatide	1204.2	396.3	67	36
	1204.2	910.0	67	33
	1204.2	795.8	67	35

3.4结果与讨论

3.4.1 灵敏度和线性

如图1所示，该方法两种化合物的线性范围为0.5ng/mL~200ng/mL，线性良好，R²均大于0.995。化合物定量下限均可做到0.5ng/mL血浆浓度。图2、3中可以看出两个化合物峰形良好，且残留非常小（图4），进曲线最高点200ng/mL后进空白溶液，索马鲁肽残留在千分之一，替尔泊肽残留在万分之五以内。

3.4.2 方法回收率和基质效应

分别对血浆浓度10ng/mL和100ng/mL进行了加标回收考察和基质效应情况评估，结果见下表4，两个化合物绝对回收均在80%以上，但表现出一定的基质抑制效应。

表4. 加标回收和基质效应结果

化合物	Semaglutide		Tirzepatide	
加标浓度	10ng/mL	100ng/mL	10ng/mL	100ng/mL
绝对回收率%	82.4%	95.8%	81.3%	93.5%
基质效应	76.6%	87.0%	60.6%	58.8%

3.5实验谱图

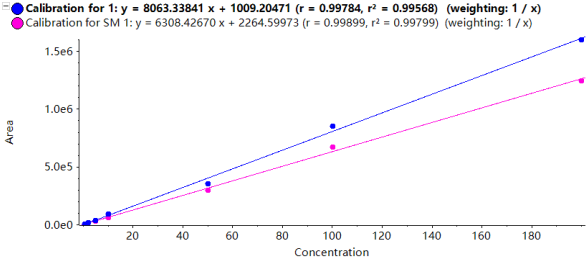


图1. 标准曲线

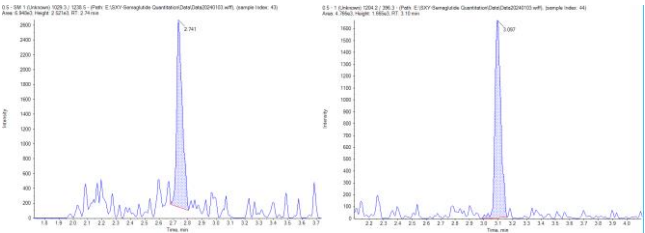


图2. LQD-0.5ng/mL基质标定量离子色谱图

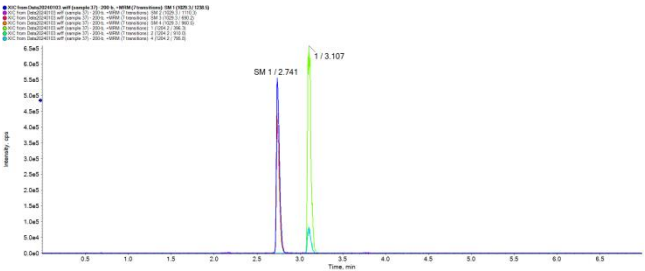


图3. 曲线最高点200ng/mL基质标XIC色谱图

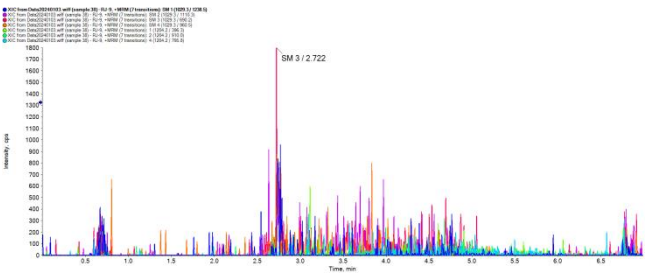


图4. 曲线高浓度点后空白残留XIC色谱图

结论

本实验建立了血浆中索马鲁肽（Semaglutide）和替尔泊肽（Tirzepatide）的定量方法，LQD可以做到0.5ng/mL，线性范围0.5ng/mL~200ng/mL，外标法回收率均在80%以上。





Xccelerator 加速服务

探索分离, 使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中, 抢占先机越来越多被大家提及, 同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此, 我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心, 为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心, 以色谱技术为中心, 为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址: 天津市开发区西区南大街179号

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址: 上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址: 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的, 不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题, 或想要了解更多信息,
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家, 我们很乐意为您提供帮助!

