

LC 与 iCAP RQplus ICPMS 联用测定含钆对比剂中游离钆

叶润 王飞

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

1. 前言：

含钆对比剂（gadolinium-based contrast agents, GBCA），是目前临床上使用最为广泛的用于磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）的静脉内注射药品，可通过缩短组织内质子的弛豫时间来提高病灶与周围组织的对比度，以丰富医学诊断信息，提高 MRI 定位定性诊断能力。钆（ Gd^{3+} ）是一种镧系的重金属元素，含有 7 个未配对的电子，具有极强的顺磁效应，可增加组织中质子 MRI 的信号强度。但游离的 Gd^{3+} 同时也是目前已知最有效的无机钙拮抗剂之一，游离钆的 Gd^{3+} 因为与 Ca^{2+} 具有相似的尺寸，可以抑制各种生理过程中钙离子的作用，即具有很强的生物学毒性，不能直接注入生物体内。因此，临床应用的 GBCA 是 Gd^{3+} 与合适配体结合而形成的稳定的、不易离解的、低毒性的螯合物。为了最大限度地降低含钆对比剂（GBCA）的潜在风险，在药物研发时必须有效控制 GBCA 释放出有害的游离 Gd^{3+} 。2020 年版药典中规定钆贝葡胺注射液中游离钆不得过钆贝葡胺标示量的 0.002%。另一方，大量造影剂经生产、使用等过程释放至环境成为新型的环境污染物，因此，对饮用水及废水中痕量 GBCA 的检测也非常有必要。

电感耦合等离子体发射光谱法（ICP-OES）、电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）、X 射线荧光光谱法是测定 GBCA 中 Gd 元素总量的主要检测方法，但是不能获得 GBCA 的形态转化及代谢等过程信息。GBCA 药物稳定性研发过程中，无需对不同的 GBCA 进行同时分析，只测定游离的 Gd^{3+} ，目标物单一。因此，采用色谱分离方法 HPLC 与高灵敏度元素检测方法 ICP-MS 联用可以改善 GBCA 的中游离 Gd^{3+} 的方法检出限。但是由于游离钆色谱分离方法中，流动相含有较高盐分以及 100% 的乙腈，对联用的 ICP-MS 硬件提出了更高的要求（小内径中心管、有机加氧模块、半导体制冷模块）。本方法尝试采用 LC 与 iCAP RQplus ICP-MS 联用定量测定含钆对比剂（GBCA）中游离的 Gd^{3+} 。液相色谱通过阀切换，在目标峰出峰后通过自动阀切换确保 100% 的乙腈流动相不进样 ICP-MS，降低 ICP-MS 仪器的负载，从而进一步改善测试的长期稳定性。此方法可以在不提高 ICP-MS 硬件成本的基础上轻松应对痕量 GBCA 中游离钆的测定。

2. 实验部分

2.1 仪器

- iCAP RQplus ICP-MS（Thermo Scientific）
- Vanquish HPLC（Thermo Scientific）
- Acclaim 120 C18 色谱柱（Thermo Scientific）

2.2 试剂及标准品

- 乙腈（MS Grade, Thermo Fisher）；
- 乙酸（MS Grade, ACROS ORGANICS）；
- 乙酸铵（HPLC Grade, ACROS ORGANICS）；
- 乙二胺四乙酸二钠（EDTA-2Na）（HPLC Grade, ACROS ORGANICS）；
- 硫酸钆（III）八水合物（ $Gd_2(SO_4)_3 \cdot 8H_2O$ ）（ $\geq 99.99\%$ trace metals basis, sigma）



2.3 样品前处理

- EDTA-2Na 稀释剂 (1.1 mmol/L)：称取 0.37g EDTA-2Na，加入 1L 水溶解并摇匀。
- 样品储备液：精确称取 3.5g 样品置于 5mL 容量瓶中，加水溶解后定容至刻度。
- 样品测试液：移取样品储备液 1mL 置于 20mL 容量瓶中，使用 EDTA-2Na 水溶液定容至刻度，测定不同处理时间样品中游离 Gd³⁺ 的含量。

2.4 仪器参数

采用 Thermo Scientific vanquish 液相色谱分离，以 Thermo Scientific iCAP RQplus ICP-MS 作为高灵敏度元素检测器，色谱及质谱方法分别见表 1 和表 2。ICPMS 所用的进样系统包括旋流石英雾化室，PFA 微流量同心雾化器和可拆卸的石英矩管 (2.5mm 内径，石英中心管)，采样锥和截取锥，该配置与常规 ICPMS 进水相总量分析一致，无需切换。



表 1-1. 色谱方法

色谱柱	Acclaim 120 C18 5um (4.6 mm×150mm)
流动相	A: 1.56 mmol/L 二水合乙二胺四乙酸二钠，10mmol/L 乙酸铵，0.1% 乙酸，2% 乙腈。 B: 100% 乙腈。
洗脱方式	梯度洗脱
流速	1.0 mL/min
进样量	20 uL
柱温度	35°C
持续时间	持续时间 900s

表 2 质谱条件

射频功率	1550 w
等离子体氩气流速	14 L/min
雾化器氩气流速	0.5 L/min
辅助气氩气流速	1.01 L/min
采样深度	5 mm
雾化室温度	2.7 °C
测量模式	碰撞模式 (KED)，He 流速: 4.5 mL/min
检测元素质量数	Gd (157)

3 实验结果和讨论

3.1 标准曲线信息

标准曲线如下图所示，线性相关系数 R² 大于 0.999。

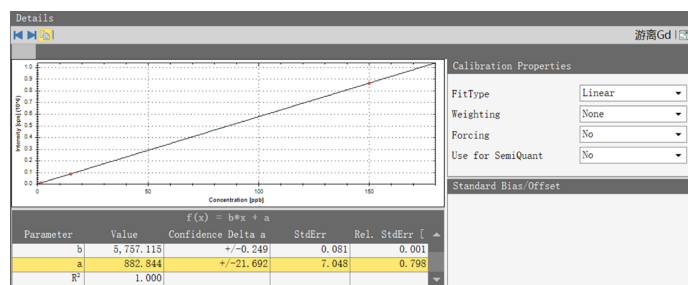


图 1 游离 Gd³⁺ 标准曲线图

3.2 色谱洗脱条件

色谱分离采用反相 C18 色谱柱，流动相梯度见下表，0-5min 进 A 相，A 相中含有 0.058% 的 EDTA-2Na，0.077% 乙酸铵，以及 2% 乙腈，该流动相组成可直接进 ICPMS 分析。从五分钟开始切换进 100% 的乙腈，高有机负载可能导致 ICP-MS 分析信号不稳定，并在锥口形成严重的积碳现象，造成锥口堵塞。因此，ICPMS 在进高比例有机相时通常需要提高其配置，包括小内径中心管、有机加氧模块、半导体制冷模块、铂金锥等。由于游离的 Gd³⁺ 在 3min 时已经可以完全分离洗脱完成，见图 2。因此，可以通过液相双阀切换将 4.5min 以后的洗脱流动相通过阀切换以排废液的形式排出，避免了纯乙腈直接进入 ICPMS，无需使用加氧配置，同时确保色谱峰分离的完成及柱子平衡。

时间 (min)	0	5	5.1	10	10.1	15
A%	100	100	10	10	100	100
B%	0	0	100	100	0	0

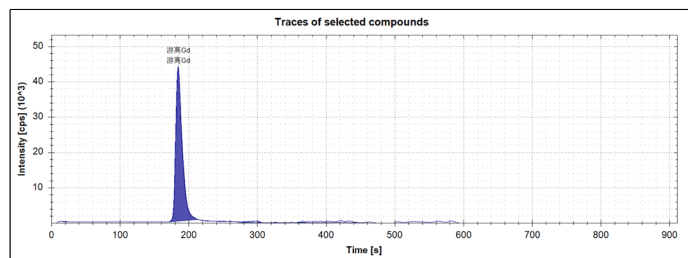


图 2 样品中游离 Gd³⁺ 色谱叠加图

3.3 检出限及重复性

以浓度为 1.5ug/L 游离的 Gd³⁺ 进行七次平行测定，以 3 倍信噪比对应浓度作为检出限，以 4 倍检出限浓度为测定下限。计算七次进样峰面积重复性及保留时间重复性。

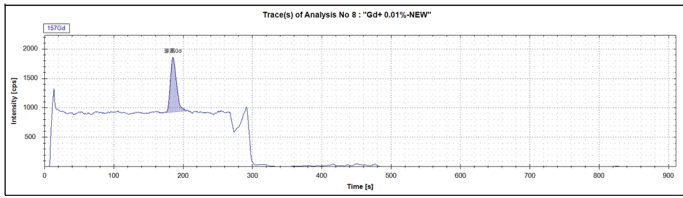


图 3 1.5ppb 游离的 Gd³⁺ 色谱图

表 3 方法检测限及测定下限

化合物名称	方法检出 限(μg/L)	测定下限 (μg/L)	峰面积7次 RSD (%)	保留时间7次 RSD (%)
游离 Gd ³⁺	0.16	0.58	1.1	0.08

4. 结论

本文采用 LC 与 Thermo Scientific 全新推出的 iCAP RQ plus ICPMS 联用测定含钆对比剂中游离钆的含量。iCAP RQ plus ICPMS 具备全新的 AGD 进样系统，具有低、中、高氦气稀释 (AGD) 模式及自定义设定稀释系数配置，可以满足各种复杂基体样品直接进样分析，最高可直接分析 25% 饱和食盐水，在创建方法时由用户进行直观选择，每种 AGD 模式可实现自动参数优化，无需手动调谐。该方法具有操作简单，精密度好、检出限低的特点。为含钆对比剂药物稳定性研究及钆污染环境监测提供有效的分析手段。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

thermo scientific