

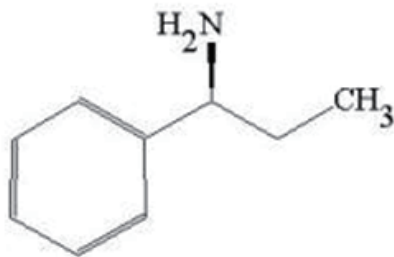
超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定中药中非法添加的苯丙胺

LCMSMS-010

摘要： 本文使用岛津LCMS-8030液质联用系统建立了中药中非法添加的苯丙胺的快速检测方法。本方法采用C18色谱柱，甲酸铵/乙酸水+乙腈为流动相，格列齐特为内标物，多反应监测模式进行检测，样品由甲醇作为萃取剂。在5.08-405.68 ng/mL的浓度范围内标准品的线性相关系数 $r=0.9998$ ，曲线线性关系良好。对浓度为50.72 ng/mL的标准品进行6次重复进样，标准品和内标物峰面积的RSD在1.5%以内，保留时间的RSD在0.035%之内，结果的重复性良好。方法的检测限为0.05 $\mu\text{g/g}$ ，具有较高的检测灵敏度。

关键词： 超高效液相色谱 三重四极杆质谱 中药 苯丙胺 非法添加

苯丙胺(Amphetamine)是一种中枢兴奋药及抗抑郁症药。但它具有药物依赖性、中枢神经兴奋、致幻、食欲抑制等药理和毒理学特性，长期大量滥用可导致神经系统永久性的损伤。是联合国精神药物公约严格管制的精神活性物质，也是我国严格管制的精神药品品种目录中的种类。某些中药或保健品本身并没有治疗作用，加入了苯丙胺后看似短期内取得疗效，实则可能对患者产生极大的副作用。因此，建立中药中非法添加的苯丙胺的测定方法具有很重要的现实意义。本文采用岛津LCMS-8030系统，建立了快速、高灵敏地检测中药中苯丙胺的方法。



苯丙胺的化学结构式

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A与三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用系统，具体配置LC-30AD×2输液泵，DGU-20A5在线脱气机，SIL-30

AC自动进样器，CTO-30AC柱温箱，CBM-20A系统控制器，LCMS-8030三重四级杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41 色谱工作站。

1.2 分析条件

1.2.1 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A

色谱柱：Shim-Pack XR-ODSII 2.0×100 mm，2.2 μm

流动相：(A相)10 mM甲酸铵、0.1%乙酸水溶液 (B相) 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B初始浓度为5%，时间程序见表1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	5
3.00	Pumps	Pump B Conc.	50
7.00	Pumps	Pump B Conc.	50
7.1	Pumps	Pump B Conc.	5
10.1	Controller	stop	

1.2.2 质谱条件

分析仪器: LCMS-8030

离子源: ESI(+)

离子源接口电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氦气

脱溶剂管温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM)

驻留时间: 20 ms

延迟时间: 2 ms

MRM参数: 见表2

表2 三重四极杆离子对及相关电压参数设定表

No.	Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q1 Pre Bias (V)
1	苯丙胺酒石酸盐	136.10	91.10	-15.0	-20.0	-18.0
			65.10*	-15.0	-40.0	-25.0
2	IS (格列齐特)	324.10	127.15	-16.0	-20.0	-13.0
			110.15*	-16.0	-20.0	-23.0

*表示定性离子

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制

分别精密称取酒石酸苯丙胺、内标物格列齐特约2 mg(精确到0.01 mg), 其中, 酒石酸苯丙胺准确称取4.22 mg(相当于苯丙胺2 mg); 置10 mL容量瓶中, 加甲醇使溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为200 µg/mL的苯丙胺、格列齐特的标准储备溶液。甲醇依次稀释得内标格列齐特溶液1 µg/mL。最终配制成标准混合溶液, 各化合物实际浓度如表3所示。

1.3.2 样品溶液制备

取空白样品约0.2 g(精确至1 mg)于10 mL塑料离心管中, 加入5 mL甲醇后, 称重。涡旋60 s后, 超声15 min, 放冷后, 再称重, 用甲醇补足减失的重量。4500 rpm离心10 min。取样品溶液20 µL, 分别加入1 µg/mL 内标溶液及系列浓度标准溶液各20 µL后, 加甲醇稀释至0.4 mL, 涡旋30 s后, 13000 转离心10 min。取上清液转入液相小瓶中, 进样5 µL, 进行LC-MS/MS分析。同时做空白基质样品实验。

表2 三重四极杆离子对及相关电压参数设定表

Conc.(1)	Conc.(2)	Conc.(3)	Conc.(4)	Conc.(5)	Conc.(6)	Conc.(7)
5.08	10.14	20.28	50.72	101.42	324.54	405.68

结果讨论

2.1 标准溶液的MRM色谱图

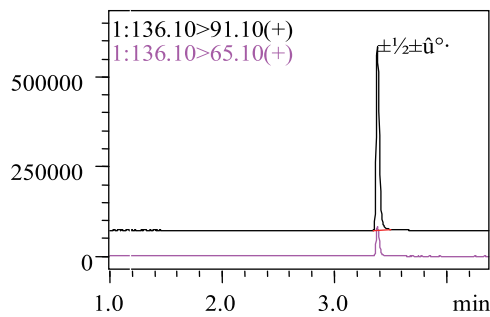


图1 50 ng/mL标准品溶液的MRM色谱图

2.2空白基质的MRM色谱图

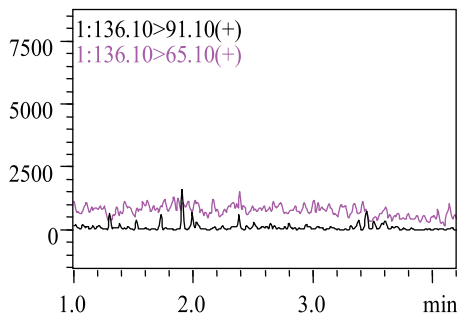


图2 空白基质的MRM色谱图

2.3线性关系

各化合物浓度如表3的标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标(内标物浓度当作1)，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线见图3。所得校准曲线线性关系良好。

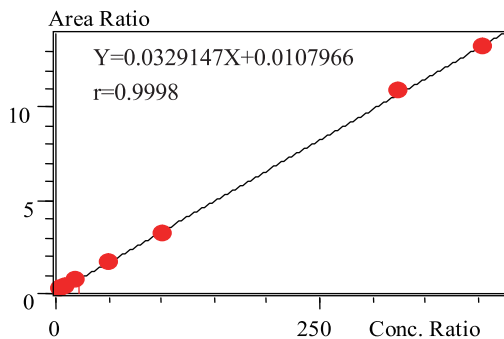


图3 校准曲线

2.4精密度试验

对浓度(4)的标准工作液连续测定6次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表4所示。结果显示：标准品和内标物峰面积的RSD%在1.5%以内，保留时间的RSD%在0.035%之内，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	苯丙胺		格列齐特	
	Area	R.T (min)	Area	R.T (min)
1	347,118	3.378	254,248	5.432
2	339,099	3.377	258,152	5.434
3	353,971	3.376	263,251	5.432
4	348,318	3.376	258,325	5.433
5	343,668	3.376	257,940	5.431
6	343,386	3.375	260,900	5.430
Average	345,927	3.376	258,803	5.432
RSD%	1.47	0.035	1.18	0.025

2.5方法的灵敏度

图4为空白基质谱图及加标后相当于样品含量为2.5 μg/g时的谱图，由此计算得到方法的检测限见表5。

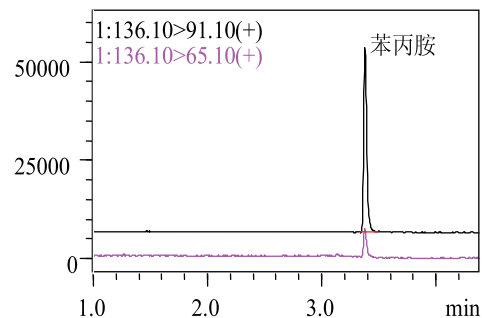


图4 空白添加的MRM色谱图

表5 方法的检测限结果

最终样品溶液浓度 (ng/mL)	样品含量 (μg/g)
0.10	0.05

结论

本实验中使用LCMS-8030系统，开发了中药中非法添加药物苯丙胺的检测方法。本法具有快速便捷，重复性好和灵敏度高等优点。