

# LC-MS/MS 法检测人血浆中 5 种减肥药

LCMSMS-1021

**摘要：** 本文利用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱系统，建立了人血浆中 5 种减肥药检测方法。血浆样品经乙腈蛋白沉淀，离心取上清后直接进样分析。经线性、重复性及准确度方法学评价，结果显示该方法性关系良好，相关系数  $r > 0.997$ ，加标样品的重复性 ( $n=3$ ) 相对标准偏差 RSD 小于 5%，加标回收率在 80% ~ 120% 之间，准确度良好。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 血浆样品 减肥药

## 技术特点：

- ❖ 直接蛋白沉淀法提取样品，操作简单，耗时短，易于高通量检测。
- ❖ 方法稳定可靠，外标法即可快速实现 5 种药物的准确定性定量。

近年来，随着经济的发展和水平的提高，我国肥胖人口在持续增加。据最新数据显示，我国有超过一半的成年居民超重或肥胖。目前，我国只有 5 种药物（奥利司他、利拉鲁肽、贝那鲁肽、司美格鲁肽及替尔泊肽）获得国家药监局批准，用于成年原发性肥胖症患者减重治疗。然而，市场上各种减肥食品琳琅满目，让消费者眼花缭乱。这些产品是否真的有效？

对身体健康又有哪些影响，普通消费者难分辨。在医院接诊的患者中，经血液检测，发现有不少患者是因为使用了成分不明的减肥食品，造成身体不适或中毒。

本文应用液相色谱串联质谱仪，建立 5 种非法减肥药物的快速定性定量筛查方法，该方法有利于快速检测患者中毒原因，为精准治疗提供有利证据。

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8060NX，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40A	脱气机：	DGU-40S
输液泵：	LC-40D XS×2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XS	质谱仪：	LCMS-8060NX
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.124		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST HP (100 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04)

流动相：A-0.1% 甲酸 2mM 乙酸铵水溶液；B- 甲醇

进样体积：2 μL

流速：0.4 mL/min 柱温：45°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 10%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.0	泵	B Conc	10
5.0	泵	B Conc	35

6.5	泵	B Conc	35
10.0	泵	B Conc	80
10.1	泵	B Conc	95
12.0	泵	B Conc	95
12.1	泵	B Conc	10
14.0	控制器	STOP	

#### 质谱条件

离子化模式：	ESI±	雾化气流速：	3.0 L/min
接口温度：	300°C	干燥气流速：	3.0 L/min
D L 温度：	150°C	加热气流速：	15.0 L/min
加热模块温度：	400°C	碰撞气：	氦气
扫描模式：	多反应监测 (MRM)	喷针位置：	+1.5 mm
MRM 参数：	见表 2		

表 2 化合物信息及 MRM 参数

ID	化合物名	CAS 号	保留时间 (min)	离子化模式	MRM 离子对	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	氯噻嗪	58-94-6	2.417	(-)	293.90>214.00*	21	28	20
					293.90>179.10	20	45	16
2	甲氯噻嗪	135-07-9	6.826	(-)	358.10>322.10*	26	14	14
					358.10>258.00	18	18	10
3	吲达帕胺	26807-65-8	9.077	(+)	366.10>132.10*	-16	-15	-15
					366.10>91.10	-30	-41	-19
4	氟西汀	54910-89-3	9.078	(+)	310.40>44.00*	-15	-12	-20
					310.40>148.20	-15	-9	-28
5	布美他尼	28395-03-1	10.312	(-)	363.00>80.00*	25	27	10
					363.00>207.00	26	21	21

\* 代表定量离子对。

### 1.3 标准品溶液的配制

取 5 种非法添加药物标准品各适量，用甲醇配制成 10 µg/mL 的混合标准品储备液。用空白血浆配制成 1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0 ng/mL 的基质混合标准系列溶液。

### 1.4 样品前处理

取基质混合标准系列溶液或血浆样品 100 µL，置于 1.5 mL 离心管中，加 300 µL 乙腈，涡旋混匀后，12000 r/min，离心 5 min，取上清液进样检测。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 基质混合标准溶液色谱图

基质混合标准溶液 (10 ng/mL) 经处理后，进样检测，获得如下 5 种非法减肥药的色谱图。

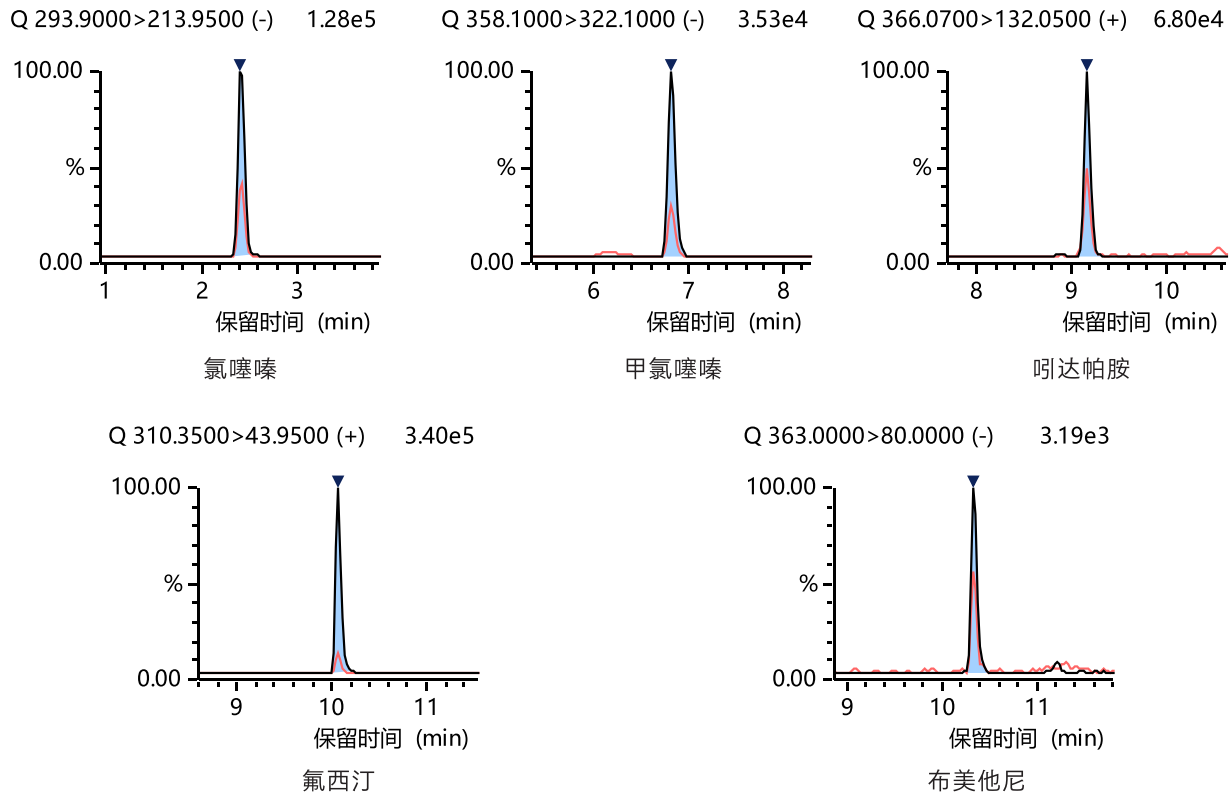
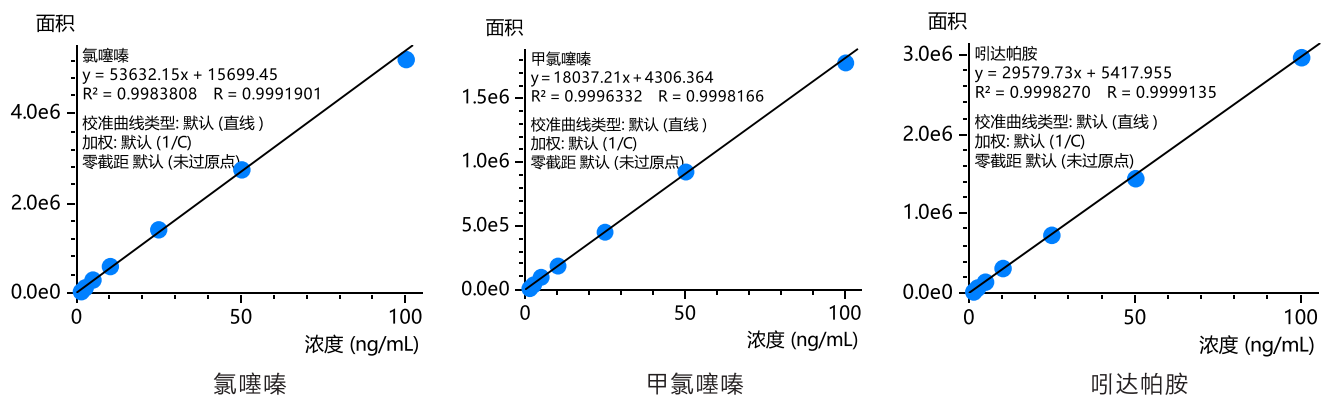


图 1 定量定性离子对色谱图 (蓝色: 定量离子对, 红色: 定性离子对)

## 2.2 检出限与校准曲线

按照 1.2 项下分析条件, 基质混合标准系列溶液经处理后, 按浓度从低到高的顺序依次上机测定, 以待测物的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线, 图 2 所示。5 种非法减肥药物在校准曲线浓度范围内线性关系良好, 相关系数  $r$  均大于 0.997, 各校准点准确度均在 85% - 115% 之间。以 3 倍信噪比计算检出限, 各化合物检出限及线性相关系数如表 3 所示。



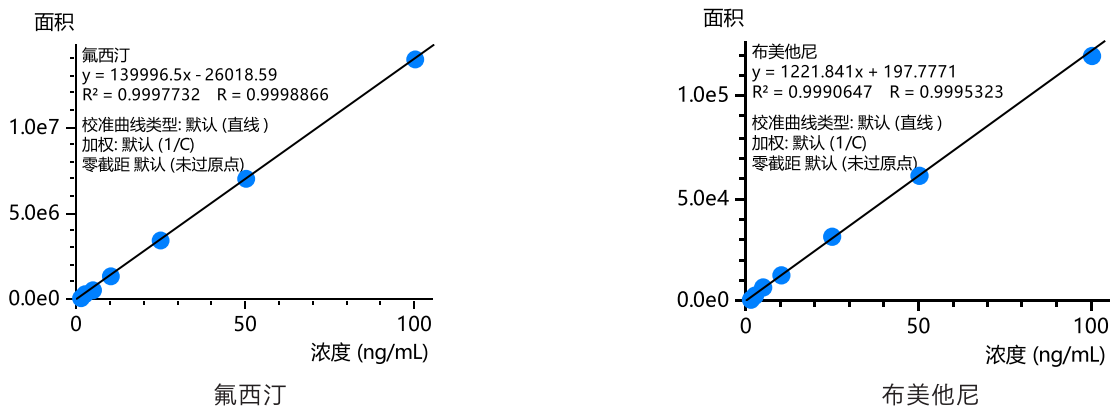


图 2 校准曲线

表 3 线性相关系数及检出限

ID	组分名称	相关系数 (r)	检出限 (ng/mL)	ID	组分名称	相关系数 (r)	检出限 (ng/mL)
1	氯喹啉	0.9992	0.05	4	氟西汀	0.9999	0.05
2	甲氯喹啉	0.9998	0.10	5	布美他尼	0.9995	0.42
3	吲达帕胺	0.9999	0.40				

### 2.3 精密度

取 10 ng/mL 标准品溶液, 连续进样 6 次, 保留时间的 RSD% 均小于 1%, 峰面积的 RSD% 均小于 5%, 结果见表 4。

表 4 精密度结果

ID	组分名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%	ID	组分名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	氯喹啉	0.06	1.52	4	氟西汀	0.03	0.89
2	甲氯喹啉	0.04	1.58	5	布美他尼	0.03	2.78
3	吲达帕胺	0.03	1.66				

### 2.4 准确度与样品检测

平行制备 6 份加标浓度为 2.5 ng/mL 的血浆样品进行测试, 平均回收率均在 85% - 115% 之间, 重复性 RSD% 小于 10%, 定量准确可靠, 详细结果见表 5、图 3 所示。

表 5 加标回收率及重复性结果

ID	组分名称	平均回收率 %	RSD%	ID	组分名称	平均回收率 %	RSD%
1	氯喹啉	108.0	2.00	4	氟西汀	96.5	0.70
2	甲氯喹啉	100.9	3.17	5	布美他尼	96.6	6.09
3	吲达帕胺	109.3	2.74				

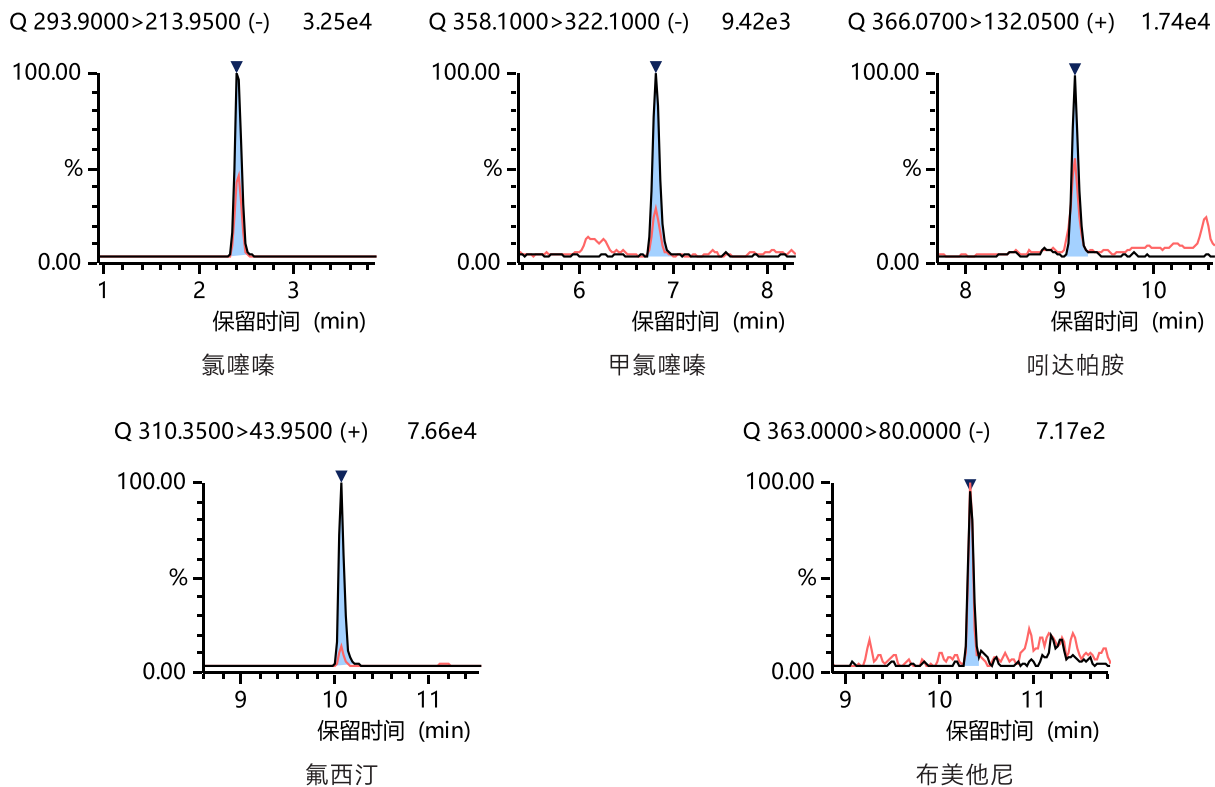


图3 血浆样品检测结果 (2.5 ng/mL)

## ■ 结论

本文利用 LCMS-8060NX 超高效液相色谱三重四极杆质谱系统，建立了人血浆中 5 种非法减肥药物的筛查方法。样品经蛋白沉淀处理后即可上机检测，结合高效快速的检测方法，易于实现高通量筛查。方法学评价结果显示该方案快速、稳定、可靠，可供临床毒物检测行业人员参考。

岛津应用云

