

UPLC-MS/MS法检测呼出气中的药物

Beck Olof, Sigurd Hermansson, Stefan Lierheimer, Jbeily M, Böttcher M

Waters Corporation

仅适用于法医毒理学应用。

摘要

本应用简报证明，在使用呼出气作为样本的药物检测中，Xevo TQ-XS仪器可提供所需的灵敏度，是一种性能稳定且适合常规应用的系统。

优势

- 样本收集安全、便捷
- 检测时间与服药时间相关
- 样品前处理程序简单
- 方法涵盖大量分析物
- 筛查与鉴定同时进行

简介

自20世纪70年代开发出免疫化学分析技术以来，临床和法医学领域的药物检测一直使用尿液为样本，这是一种低成本方法，能够筛查常见的滥用药物；阳性结果需使用气相色谱-质谱法进行证据确认。现在的质谱技术已经发展到无需实施免疫分析筛查，直接使用证据质谱法开展分析研究¹。

人们在早期的药物检测中就已经开始关注尿液替代基质，但这些替代样本直到最近才开始用于常规应用，例如唾液。这在很大程度上可以归功于，我们基于液相色谱-质谱联用仪器开发出更强大的生物分析技术，树立了全新的方法性能标杆²。

其中一种替代样本是呼出气，这是一种非侵入性样本，非常容易获得³。该样本的取样程序便捷，易于监督，且无需侵犯隐私。除挥发物以外，呼出气还包含气溶胶颗粒，这些颗粒会携带来自肺部深处的非挥发性组分⁴。

2010年发表的一项研究发现，使用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)，可以在违禁药物使用者服药数小时后从中毒状态恢复后的呼出气中检出安非他命和甲基苯丙胺⁵。这项发现再度引发人们关注，并开展了一系列新的研究，旨在探索现代分析技术使用呼出气进行药物检测的可能性。

实验

液相色谱条件

液相色谱系统：	ACQUITY UPLC I-Class PLUS
色谱柱：	ACQUITY UPLC BEH苯基柱（长150 mm x 内径2.1 mm，1.7 μm）
流动相A：	含20 mM甲酸铵 + 0.1%甲酸的水溶液(pH=3)
流动相B：	含0.1%甲酸的甲醇溶液
清洗溶剂：	含0.2%甲酸的甲醇:乙腈:异丙醇:水(25:25:25:25 v/v)
清除溶剂：	水:甲醇(80:20 v/v)

进样体积：3 μ L

梯度洗脱：表1

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	0.5	85.0	15.0	初始
3.00	0.5	45.0	55.0	8
4.00	0.5	45.0	55.0	6
5.00	0.5	0.0	100.0	6
6.00	0.5	0.0	100.0	6
6.50	0.5	85.0	15.0	1

表1.梯度条件。进样周期为7.5 min，使色谱柱有足够的时间重新平衡。

质谱条件

质谱系统：Xevo TQ-XS

数据采集和处理：带TargetLynx的MassLynx

电离模式：UniSpray，正离子模式

撞击器电压：2.2 kV

采集模式：多重反应监测(MRM)，表2

所有分析物均在正离子模式下检测，使用UniSpray电离技术，MRM通道见表2。

内标： α -PVP-d8、安非他命-d5、苯甲酰芽子碱-d3、可卡因-d3、 Δ -9-THC-d3、加巴喷丁-(13C)3、氯胺酮-d4、MDA-d5、MDMA-d5、美沙酮-d9、甲基苯丙胺-d5、哌醋甲酯-d9、奥沙西洋-d5、羟考酮-d3、普瑞巴林-(13C)3、替马西洋-d5、曲马多-13C-d3和佐匹克隆-d4，使用表2中各分析物对应的参数进行分析，但需要将 m/z 分别调整为稳定同位素的数值。对于1-苯基-2-甲氨基-1-戊酮，使用MBDB-d5作为内标，监测通道213.1>136.1。

收集呼吸颗粒

利用碰撞技术收集呼出气中的颗粒。对此，市面上有一款简单的装置，名为BreathExplor，这款装置已通过验证，可收集美沙酮和特征性肺脂质⁶。

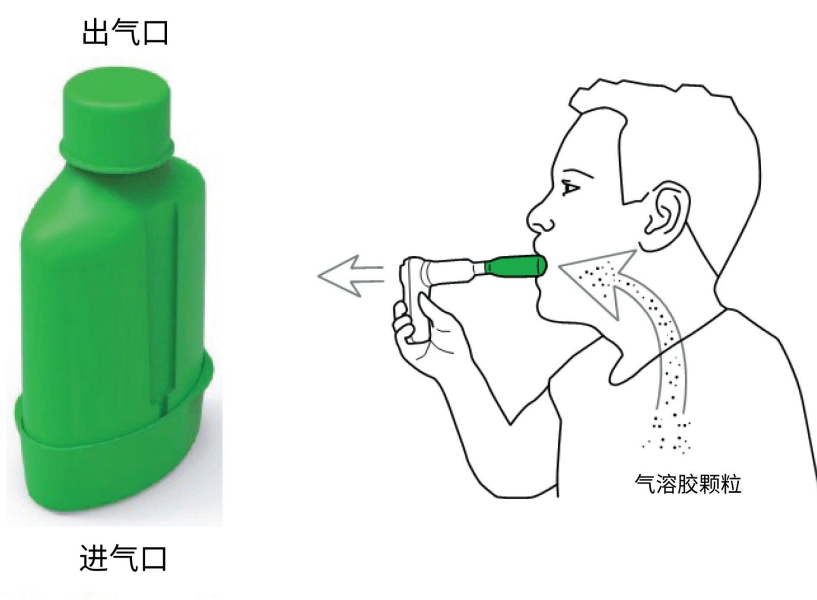


图1. BreathExplor采样装置和采样程序。可使用肺活量计记录采样。

收集十二次呼吸的颗粒。收集装置包含三个平行收集器，提供三个子样品。采样后，将装置加盖、贴标签，然后送至实验室。

样品前处理

拆分装置，取其中一个收集器用于分析，将另外两个储存起来。

将收集器放入试管中，加入2 mL含内标的甲醇和10 μ L乙二醇。

将试管涡旋10 s，然后取出收集器。

使用真空离心机蒸发甲醇，用60 μ L 50%甲醇溶解残余物，然后转移至自动进样器样品瓶中，离心。

通过对空白收集器加标来制备标准品和对照品。

应用

该方法适用于在音乐会、夜总会和庆祝活动中收集呼出气样本的研究。总共研究了1204个未知样品，涵盖47种分析物。

结果与讨论

在4个月内分析了21批未知物，未出现任何重大问题。这段时间内响应值和保留时间的波动很小，可卡因的分析结果如图2所示。证明提取物非常干净，未观察到基质效应对响应的影响。使用同一根色谱柱执行了大约2000次进样，期间未观察到柱压升高。QC样品的数据表明，该方法具有出色的稳定性和良好的性能（表2）。实际样本的示例色谱图见图3。

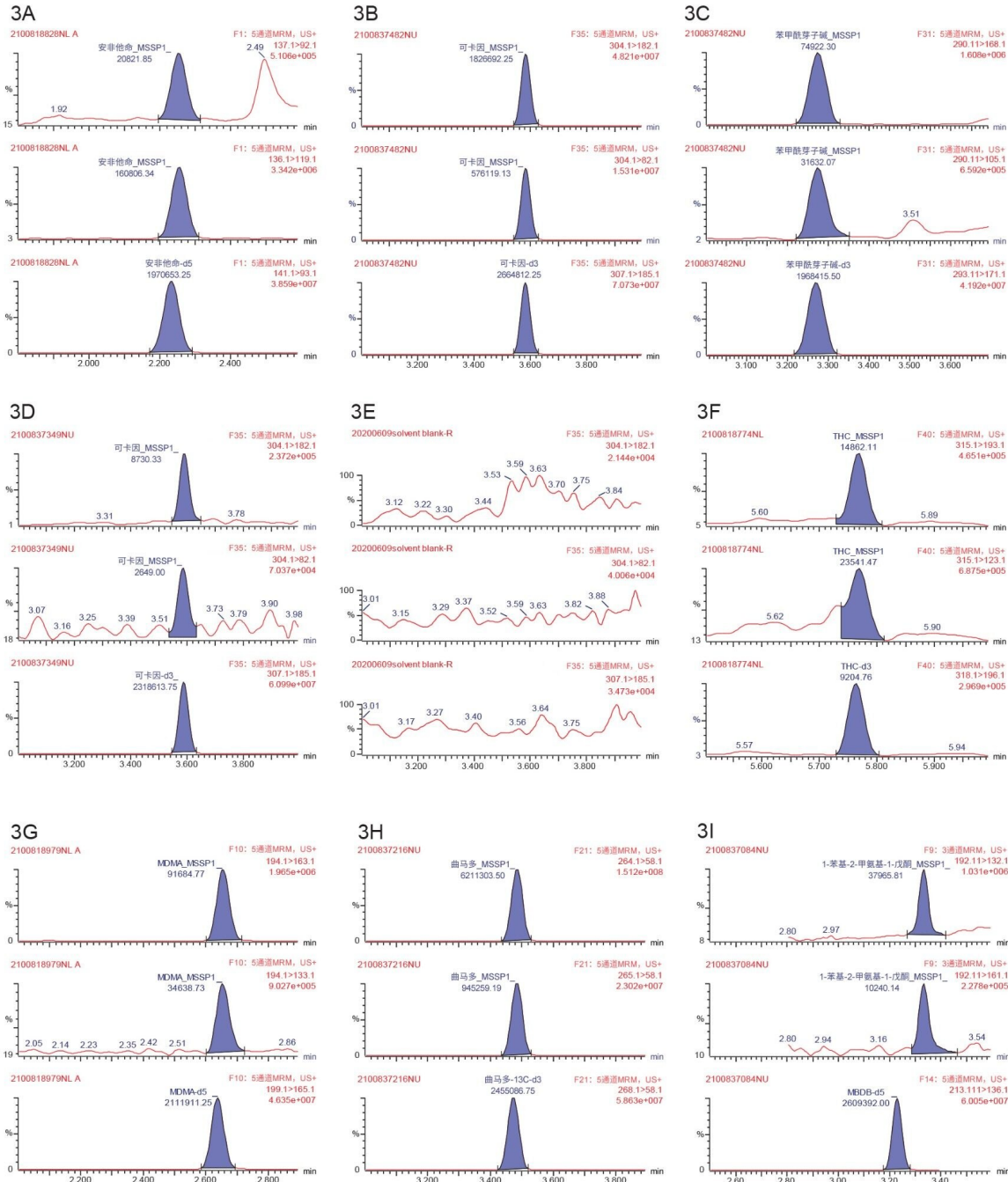


图3.部分研究样品的色谱图。

a) 安非他命，20 pg/收集器

b)可卡因，38 pg/收集器

c)苯甲酰芽子碱，与b)来自同一样品

d)阴性研究样品中的可卡因响应

e)系统空白样中的可卡因响应

f) THC，102 pg/收集器

g) MDMA，2.1 pg/收集器

h)曲马多，163 pg/收集器

i) 1-苯基-2-甲氨基-1-戊酮，3.1 pg/收集器

在该方法所监测的47种分析物中，研究样品中鉴定出了20种（表3）。

物质	阳性样品 数量	%	最低浓度， pg/收集器	最高浓度， pg/收集器
可卡因*	77	6.4	1.0	375
安非他命	46	3.8	1.1	2040
MDMA	22	1.8	1.2	117
THC	10	0.8	1.9	630
哌醋甲酯	7	0.6	1.0	88
曲马多**	5	0.4	1.2	163
1-苯基-2-甲氨基-1-戊酮	2	0.2	1.0	3.0
α-PVP	2	0.2	1.0	2.0
替马西洋	2	0.2	1.0	1.1
普瑞巴林	2	0.2	4.2	5.4
氯胺酮	2	0.2	45	58
甲基苯丙胺	2	0.2	1.0	3.0
MDA	1	0.1	1.0	
奥沙西洋	1	0.1	1.0	
加巴喷丁	1	0.1	3.9	
羟考酮	1	0.1	1.0	
佐匹克隆	1	0.1	2.0	
美沙酮	1	0.1	3.5	

*有时还检出了苯甲酰芽子碱

**有时还检出了O-去甲基曲马多

表3.1204个呼出气样品的分析结果

使用呼出气作为样本，就能在夜生活场景中采集生物样本进行研究，全新认识这种环境中的药物使用情况，对自主报告提供重要补充。

可卡因的出现频率最高，可以看到所有样品中都出现了可卡因的峰，但浓度非常低。背景峰符合鉴定标准，但低

于所应用LLOQ（每个收集器1 pg）的10%。还显示了系统空白样的结果用于比较。这一观察结果可能证明，钞票、污水、饮用水以及大型城市的大气环境中存在可卡因⁷。呼吸样品是在可卡因使用者所生活的环境中采集的，这可能解释了所观察到的可卡因背景。

结论

呼出气中气溶胶颗粒的采集程序快速、简单且安全，不会对被测人员造成任何不便。该采样程序无需任何特殊设施即可执行，非常适合在医疗保健体系之外的场景下使用，例如工作场所、路边。

在使用呼出气作为样本的药物检测中，Xevo TQ-XS仪器可提供所需的灵敏度，是一种性能稳定且适合常规应用的系统。

参考资料

1. Rosano TG, Ohouo PY, LeQue JJ, Freeto SM, Wood M. Definitive Drug and Metabolite Screening in Urine by UPLC-MS-MS Using a Novel Calibration Technique.*J Anal Toxicol*.2016;40(8):628–638.doi:10.1093/jat/bkw050.
2. Takyi-Williams J, Liu CF, Tang K. Ambient ionization MS for Bioanalysis: Recent Developments and Challenges.*Bioanalysis*.2015;7(15):1901-1923.doi:10.4155/bio.15.116.
3. Beck O, Olin AC, Mirgorodskaya E. Potential of Mass Spectrometry in Developing Clinical Laboratory Biomarkers of Nonvolatiles in Exhaled Breath.*Clin Chem*.2016 Jan;62(1):84–91.doi: 10.1373/clinchem.2015.239285. Epub 2015 Nov 17.PMID: 26578691.
4. Beauchamp J, Davis C, Pleil J Eds.Breathborne Biomarkers and the Human Volatilome 2nd ed.Elsevier 2020.
5. Beck O, Leine K, Palmskog G, Franck J. Amphetamines Detected in Exhaled Breath from Drug Addicts: A New Possible Method for Drugs-Of-Abuse Testing.*J Anal Toxicol*.2010 Jun;34(5):233-7.doi: 10.1093/jat/34.5.233. PMID: 20529456.

6. Seferaj S, Ullah S, Tinglev Å, Carlsson S, Winberg J, Stambeck P, Beck O. Evaluation of a New Simple Collection Device for Sampling of Microparticles in Exhaled Breath.*J Breath Res.*2018 Mar 12;12(3):036005.doi: 10.1088/1752.
7. Balducci C, Green DC, Romagnoli P, Perilli M, Johansson C, Panteliadis P, Cecinato A. Cocaine and Cannabinoids in the Atmosphere of Northern Europe Cities, Comparison With Southern Europe and Wastewater Analysis.*Environ Int.*2016 Dec;97:187–194.doi: 10.1016/j.envint.2016.09.010. Epub 2016 Sep 21.PMID: 27665117.

致谢

Beck O - 卡罗林斯卡学院临床神经科学系，瑞典斯德哥尔摩

Lierheimer S, Jbeily M, Böttcher M - MVZ Labor Dessau Kassel GmbH，德国德绍-罗斯劳

Hermansson S - Waters Sverige AB，瑞典索尔纳

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720007522ZH，2022年2月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2 [京公网安备 31011502007476号](#)