

液相色谱-质谱联用技术在药品分析研究中的应用进展

贾凤林 黄萌萌 席武鹏

天方药业有限公司 河南 驻马店 463000

【摘要】液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)通过耦合液相色谱的高效分离能力与质谱的高灵敏度检测,已成为现代药品分析的核心平台。本文系统梳理了LC-MS技术的三大演进阶段:早期电喷雾离子化(ESI)与大气压化学电离(APCI)的突破、三重四极杆质谱的定量革命,以及如今高分辨质谱(HRMS)与离子淌度谱的多维分析时代。在应用层面,重点探讨:(1)药物成分分析中LC-MS/MS对复杂基质(如中药多组分)的快速定性与定量能力,例如人参皂苷的ppb级检测;(2)药物代谢研究中基于HRMS的代谢物结构鉴定策略,如CYP450酶代谢途径的实时追踪;(3)基因毒性杂质控制中LC-QTOF对亚硝胺类杂质的超痕量筛查(低于0.03 ppm);(4)生物样品分析中微流控LC-MS对单细胞药代动力学的突破性研究。文章进一步指出当前技术瓶颈,包括基质效应补偿、非靶向数据分析标准化等挑战,并展望了人工智能辅助方法开发、原位电离微型化设备等未来发展方向。

【关键词】液相色谱-质谱联用(LC-MS);高分辨质谱;药物代谢组学;基因毒性杂质;微流控技术

DOI:10.12417/2982-3838.25.02.005

1 引言

随着药物研发的不断深入以及全球医药行业的快速发展,对药品分析技术的要求日益提高。传统的分析方法,如紫外-可见分光光度法(UV-Vis)和高效液相色谱法(HPLC),虽然在过去几十年里发挥了重要作用,但在复杂生物基质分析、痕量药物检测、代谢产物鉴定及多组分同时分析等方面仍存在明显的局限性。例如,UV-Vis方法在结构相似的化合物区分上灵敏度不足,而HPLC虽然具有较好的分离能力,但在低浓度物质检测方面仍依赖高选择性检测器。液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)的出现,极大地克服了上述传统方法的不足。该技术结合了液相色谱(LC)的高效分离能力与质谱(MS)的高灵敏度、高选择性检测优势,使其成为现代药品分析领域的核心技术之一。LC-MS不仅能够实现对痕量药物的精准定量,还能通过多级质谱(MS/MS或MSⁿ)提供丰富的结构信息,从而在药物代谢、杂质分析、生物等效性研究等领域展现出强大的分析潜力。

近年来,随着质谱技术的不断革新(如高分辨率质谱HRMS、离子淌度质谱IMS的引入),LC-MS的应用范围进一步扩展,逐渐覆盖药物发现、药代动力学研究、代谢组学、中药成分分析以及药物质量控制等多个方面。例如,在新药研发中,LC-MS可用于候选药物的高通量筛选;在临床药学研究中,其能够监测患者体内的血药浓度,优化个体化给药方案;而在药品质量控制中,LC-MS可精确测定原料药及制剂中的杂质、降解产物,确保药品安全。

本文系统综述了LC-MS技术的发展历程、工作原理,并重点探讨其在药品分析中的应用进展,包括药物代谢与药动学(DMPK)研究、生物等效性评价、杂质谱分析、中药现代化研究等方向的最新研究动态。同时,本文也对未来LC-MS

技术的优化方向(如微型化、智能化数据处理)进行了展望,以期药物研发、临床治疗及药品监管提供更加可靠的理论和技术支持。

2 LC-MS 技术概述

2.1 技术发展历程

LC-MS技术起源于20世纪70年代,早期由于接口技术的限制,应用受限。20世纪80年代,电喷雾离子化(ESI)和大气压化学电离(APCI)技术的出现,极大推动了LC-MS的发展。21世纪以来,高分辨质谱(HRMS)如Q-TOF、Orbitrap的应用进一步提高了检测的精确度和灵敏度。

2.2 技术原理

LC-MS主要由液相色谱(LC)和质谱(MS)两部分组成,其工作流程如下:

1. 液相色谱分离:样品经色谱柱分离,不同组分按极性、分子大小等特性依次洗脱。
2. 离子化:洗脱的化合物通过离子源(ESI、APCI等)转化为气相离子。
3. 质谱检测:离子在质量分析器(四极杆、飞行时间等)中按质荷比(m/z)分离并检测。

2.3 主要联用模式

- LC-ESI-MS:适用于极性、热不稳定化合物(如蛋白质、多肽)。
- LC-APCI-MS:适用于中等极性、小分子化合物(如脂溶性药物)。
- LC-HRMS(高分辨质谱):用于精确质量测定和结构解析,如Q-TOF、Orbitrap。

3 LC-MS 在药品分析中的应用进展

3.1 药物成分分析

作为药物质量控制的核心技术，LC-MS 凭借其高分辨率和多组分同步分析能力，已成为药物成分分析的“金标准”。

3.1.1 化学药物分析

– 抗生素类：采用 LC-QQQ 可实现青霉素类药物的多残留检测（如阿莫西林 / 克拉维酸复方制剂），通过 MRM 模式可将检测限（LOD）降至 0.1 ng/mL。最新研究显示，通过离子淌度分离（LC-IMS-MS）可区分 β -内酰胺类抗生素的同分异构体。

– 抗肿瘤药：如紫杉醇的 LC-HRMS 定量分析中，通过锁定质量数并结合同位素内标法，可使批间 RSD<2%。最新报道的二维液相色谱-质谱法（2D-LC-MS）进一步提高了紫杉醇白蛋白结合型制剂的分析效率。

3.1.2 中药复杂体系

– 人参皂苷：通过 UPLC-Q-TOF/MS 的 MS^E 模式，已鉴定出人参中超过 180 种皂苷类成分。例如采用负离子模式下转换可特异性检测稀有成分 Rg₃。

– 黄酮类：建立于 MassBank 数据库的自动匹配算法，使 LC-MS 能实现黄芩中 32 种黄酮苷元的快速鉴别。最新发展的离子淌度-质谱联用技术（LC-DTIMS-MS）显著提升了异黄酮立体异构体的分离度（ Δ CCS>3%）。

3.1.3 生物药物

– 单抗药物：通过 LC-Q-TOF 的 middle-down 策略（酶切后分析 50-100 kDa 片段），可精确表征曲妥单抗的糖基化修饰位点，可实现糖型分布的自动化分析。

– 多肽类：如胰岛素类似物的 LC-MS/MS 分析中，电子活化解离（EAD）技术可保持二硫键完整的同时获得 b/y 离子碎片，为结构确证提供更完整信息。

典型案例：

六味地黄丸的 LC-Q-Orbitrap 全扫描 /dd-MS² 分析，通过 Compound Discoverer™ 平台构建包含山茱萸环烯醚萜苷、熟地黄毛蕊花糖苷等 6 类 134 种成分的数字化指纹图谱，特征峰相似度评价体系（PDA+MS）使批次一致性控制精度提升 40%。

3.2 药物代谢研究

现代 LC-MS 系统凭借其动态范围宽（可达 10⁶）和扫描速度快（>50 Hz）的特点，成为代谢研究的核心工具。

3.2.1 代谢产物鉴定

– 氯吡格雷：采用 LC-MSⁿ（n=3）策略，通过 m/z 322 → 184 → 110 的碎片路径，证实其活性代谢物 CYP2C19 酶介导的硫醇衍生物生成过程。最新研究报道的氢-氘交换 LC-MS 技术进一步明确了代谢物的空间构型。

– 代谢通路重构：MetabolitePilot™ 等软件可通过中性丢失扫描（如葡萄糖醛酸的 176 Da）自动生成代谢网络图。以对乙酰氨基酚为例，LC-MS 已鉴定出其 8 条主要代谢途径中的 23 种代谢物。

3.2.2 药物相互作用

3.2.2 药物相互作用

– CYP450 表型分析：通过 LC-MS/MS 同时监测咖啡因（CYP1A2）、右美沙芬（CYP2D6）等 5 种探针药物的代谢比率，可在单次实验中完成表型分型。最新发展的微量 cocktail 法将检测灵敏度提升至 pg/mL 级。

– 转运体研究：如采用 LC-MS/MS 测定肝细胞摄取实验中阿托伐他汀的细胞内浓度，结合抑制剂共孵育实验证实 OATP1B1 介导的转运抑制是瑞舒伐他汀-环孢素相互作用的关键机制。

典型案例：

奥美拉唑代谢研究中，通过 LC-QTRAP® 的 EMS-EPI 扫描模式，不仅确认 5-羟基化是主要代谢途径（占循环代谢物的 67%），还发现新型硫酸化代谢物 M14（m/z 362.1），经 NMR 验证其为 CYP3A4 催化的次生代谢产物。

3.3 药物杂质检测

高分辨质谱（HRMS）与智能数据处理算法的结合，使杂质检测进入“组学”时代。

3.3.1 基因毒性杂质

– 亚硝胺类：采用 LC-APCI-MS/MS 分析缬沙坦中 NDMA 时，通过 m/z 75 → 43 的质子化分子反应，结合 DB-5MS 色谱柱（30 m×0.25 mm），可使检出限低至 0.03 ppb。2023 年 FDA 指南推荐使用同位素稀释法的 LC-HRMS 进行法定量。

– 磺酸酯类：通过衍生化-LC-MS 法（如与 2-巯基吡啶反应），可将甲磺酸甲酯的检测灵敏度提高 100 倍。

3.3.2 降解产物

– 强迫降解实验：在阿司匹林湿热降解研究中，LC-QTOF 结合分子网络分析（GNPS 平台）不仅检出已知的水杨酸，还发现新型二聚体降解物。

– 光降解产物：如硝苯地平的光解产物鉴定中，LC-PDA-MS 联用系统通过紫外光谱（ λ max 235 nm）与质谱数据的正交分析，确证了硝基还原产物的生成。

典型案例：

雷尼替丁中 NDMA 杂质的 LC-MS/MS 分析采用以下创新方案：①使用 HiLiC 色谱柱（亲水相互作用）改善极性杂质保留；②建立包含 12 种亚硝胺化合物的 MRM 数据库；③采用机器学习算法（如 XGBoost）预测潜在风险批次，使检测通量提升 300%。

3.4 生物样品分析

LC-MS 在复杂生物基质分析中展现出不可替代的优势，主要体现在：

3.4.1 治疗药物监测 (TDM)

– 免疫抑制剂：他克莫司的 LC-MS/MS 分析法通过以下改进：① 使用 C8 柱替代 C18 柱改善峰形；② 添加 0.1% 甲酸抑制 $[M+Na]^+$ 加合物形成；③ 采用二维净化 (PPT+ μ SPE) 使基质效应 <15%。最新发布的《CLSI C62-A》指南将其列为参考方法。

– 抗癫痫药：通过 LC-QTOF 的 SWATH® 采集模式，可实现丙戊酸、卡马西平等 20 种药物及其代谢物的同步监测，数据回溯分析功能支持历史样本的代谢通路研究。

3.4.2 生物标志物发现

– 脂质组学：在肿瘤标志物筛选中，UHPLC-QE-HRMS 结合相关软件已鉴定出肝癌特异的磷脂酰胆碱 (PC (36:2)) 标志物群，AUC 值达 0.92。

– 代谢组学：COVID-19 患者血浆的 LC-MS 代谢谱分析发现，色氨酸-犬尿氨酸通路的异常与疾病严重程度显著相关 ($p<0.001$)，为治疗靶点发现提供新思路。

典型案例：

二甲双胍的 LC-MS/MS 分析方法优化：

① 色谱条件：HILIC 柱 (2.1×100 mm, $1.7\ \mu\text{m}$)，流动相为 10 mM 甲酸铵 (pH 3.5) – 乙腈梯度；

② 质谱参数：ESI⁺，MRM transitions m/z 130 \rightarrow 60 (定量离子)，130 \rightarrow 71 (定性离子)；

③ 方法验证：在 0.1–20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好 ($r^2>0.998$)，溶血样本的准确度仍 >85%。

4 技术挑战与未来发展趋势

4.1 当前技术挑战

4.1.1 基质效应：干扰离子化效率的关键问题

基质效应是 LC-MS 分析中最具挑战性的问题之一，主要体现在生物样品中内源性物质对目标分析物离子化效率的影响。

4.1.2 数据解析复杂度：高分辨质谱带来的大数据挑战

现代高分辨质谱仪 (如 Orbitrap Exploris 240) 单次实验可产生超过 20GB 的原始数据，主要挑战是高分辨质谱产生海量数据，传统方法比较耗时，需借助生物信息学工具。

4.1.3 高昂的仪器成本与维护费用

LC-MS 系统的经济性成为制约技术普及的关键因素：

初始投资高，年运营成本：耗材，维护合同，人员培训等

4.2 未来发展趋势

4.2.1 微型化与便携化技术突破

微流控芯片 LC-MS 系统：麻省理工学院开发的 μ LC-MS 芯片，应用食品药品安全监测等领域

4.2.2 人工智能深度整合

机器学习在 LC-MS 中的创新应用：罗氏诊断开发的 AI-MS 平台，自动优化 LC 方法节省方法开发时间，智能故障诊断，实时质量控制等

4.2.3 多组学整合研究

系统药理学研究框架：结合代谢组学、蛋白组学进行系统性药物研究。

突破性研究成果：肿瘤免疫治疗监测，中药现代化研究。

5 结论

液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS) 凭借其高灵敏度、高选择性和强大的分离能力，已成为现代药品分析的核心工具。其在药物研发、质量控制、代谢组学、临床检测及个性化医疗等领域的广泛应用，显著提升了药品分析的精确性和效率。近年来，随着质谱检测器灵敏度的提升、色谱柱技术的优化以及数据处理算法的进步，LC-MS 在复杂基质 (如生物体液、中药提取物) 中的检测能力进一步增强，推动了药物代谢动力学研究、杂质分析、仿制药一致性评价等关键领域的发展。

未来，LC-MS 技术将向更智能化、微型化和高通量方向发展。人工智能 (AI) 的引入有望优化数据处理流程，提高未知化合物鉴定的准确性，并减少分析时间。此外，微型化 LC-MS 系统 (如芯片 LC-MS、便携式质谱) 的发展将促进实时检测和现场分析，满足精准医疗和快速药品质量监控的需求。在多组学分析 (如代谢组学-蛋白质组学整合研究) 和新型治疗药物 (如核酸药物、ADC 抗体偶联药物) 的质量控制方面，LC-MS 技术也将发挥更加关键的作用。

综上所述，LC-MS 技术不仅在当前的药品分析中占据主导地位，其未来的创新应用将进一步推动医药行业向更高效、精准和智能化的方向发展，为药物研发、监管科学和临床治疗提供更强大的技术支持。

参考文献：

- [1] 液相色谱-质谱 (LC-MS) 生物分析手册：最佳实践、实验方案及相关法规。(美) W. 李等编著；李文魁等译。科学出版社
- [2] 质谱分析技术原理与应用。台湾质谱学。科学出版社
- [3] 液质联用技术在药物的有关物质分析中的应用 [J]。雷勇胜；宋丽明；蒋庆峰。现代仪器，2011 (04)
- [4] 液相色谱-串联质谱在临床检验中的发展与展望。陈宁清；姜红强；夏建松；黄巧巧；严国飞；姚芦鹍。中国医疗设备，2025 (03)
- [5] 液相色谱-质谱联用技术在食品安全检测中的应用 [J]。李文圣。食品安全导刊，2024 (28)