

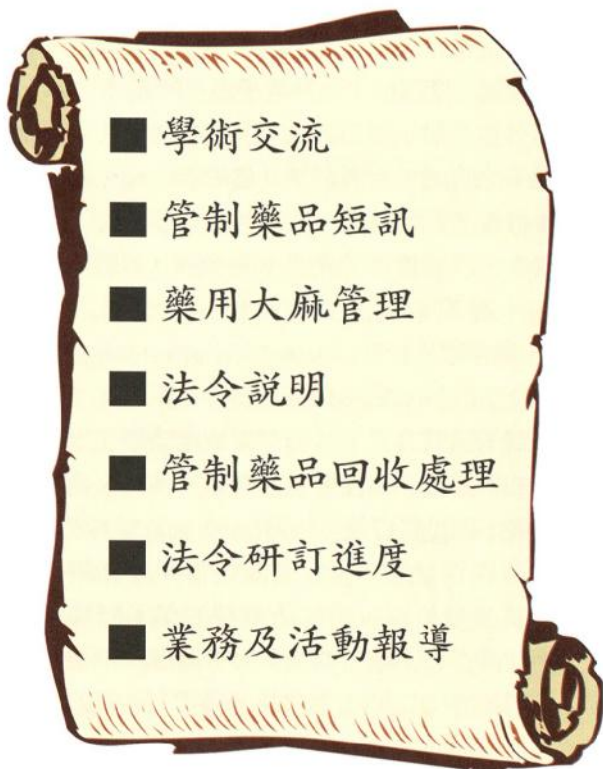


管制藥品簡訊

國內郵資已付
立法院郵局
許可證
北台字第12710號

【季刊】

北台字第5938號
登記為雜誌交寄



發行日期 / 中華民國九十二年十月十日
發行人 / 李志恒
總編輯 / 簡俊生
編審委員 / 洪國雄、邱志彥、柳家瑞、陳美娟、
陳黛娜、郭威中、張嘉葵、蕭建軍
執行編輯 / 翁銘雄
執行單位 / 行政院衛生署管制藥品管理局
地址 / 100台北市林森南路六號
電話 / (02)2397-5006
網址 / www.nbcd.gov.tw
承印商 / 台彩文化事業股份有限公司
電話 / (02)2218-5582



漫談影響質譜於 濫用藥物定量檢測之因素

■ 中興大學化學系 李茂榮教授

為解決問題所採用的分析技術，往往取決於樣品的種類、量的多寡、靈敏度需求、數據可信度、儀器分析能量、分析時間及分析費用等因素。對於尿液中濫用藥物檢測，所採用有效分析方法必須包含 (1) 具有高靈敏度的初篩步驟，能確認陰性樣品，並能篩出須待進一步確認分析的陽性樣品。(2) 具有特一性(specificity)的分析方法，且靈敏度至少與初篩一樣，且能提供藥物確認的結果。因此確認分析方法的選擇將是整個濫用藥物檢測之關鍵，其所得結果對於判決則具有決定性的影響。目前對於尿液中微量濫用藥物檢測方法中，氣相層析連接質

譜(GC/MS)技術則為一般公認值得信賴之技術，也是目前現行使用的分析技術。

質譜技術是利用分析物於真空內形成離子後，經過場力，利用其離子質量不同而具有不同的偏轉曲率特性，予以區別判斷。可作為化合物結構鑑定和成份分析，由於所需樣品量很少，通常只要微克(μg)即足夠分析，因此具有高的靈敏度。而其檢測則以分析物質量作為依據。因此不同藥物，其質量或因化學結構不同，將形成特異之斷裂碎片離子，由此可具有高的選擇性，因此適合於複雜基質檢體中微量藥物之檢測。

利用質譜技術進行藥物定量分析，主要是根據分析物中所含藥物的量相對於形成的訊號，一般是所形成訊號的離子數目與藥品含量成線性關係。而樣品往往於離子源內所形成的離子並非單一離子，尤其是分子量大於200 Da以上，有多種之斷裂離子形成。因此對於作為定量離子的選擇，即顯得相當重要，尤其是於成分複雜的尿液樣品中，欲偵測微量的濫用藥物成分。如何判斷和選擇檢測藥物特定離子，將影響定量之靈敏度和檢測特一性(specificity)。現行利用氣相層析質譜技術確認尿液檢體中濫用藥物之含量，於定量檢測時為增加其特一性，有兩種方式，一是從樣品著手，另一則由質譜儀著手。由樣品處理著手方式以增加偵測特一性，通常由樣品純化開始，例如利用溶劑萃取，酸、鹼分離等，以減少尿液中其他成份的干擾。而質譜儀部份，則選擇藥物不同的特殊離子，或經由衍生化以後，選擇高於藥物分子量的特殊質量較高離子，作為定量分析用。若利用儀器本身增加偵測特一性，則可由增加解析度或改變不同的樣品離子化方式，由此亦可增加其靈敏度。於數據處理模式，亦可使用選擇反應(selected-reaction monitoring, SRM)方式，以增加在複雜基質中，藥物偵測之特一性。

以上所述增加藥物偵測之特一性方式，則可由使用具有分離特性的氣相層析儀和質譜儀連結形成氣相層析質譜儀(GC/MS)同時獲得。若樣品再經適當處理，更能增加偵測之靈敏度。因尿液其他基質存在下，於離子源內將影響到藥物所選擇定量的特殊離子形成量或數目(abundance)，目前進行濫用藥物檢測時，尿液樣品大都經過固相萃取(solid phase extraction, SPE)方式處理，再經過適當的衍生化，最後進行氣相層析質譜(GC/MS)分析，其主要目的亦是增加定量時之靈敏度和特一性，以避免分析結果影響判定。本文主要是針對以質譜技術於尿液檢品中檢測濫用藥物時，對影響定量結果之因素，作一簡單介紹，以提供有興趣者之參考。

(一) 靈敏度(Sensitivity)和偵測極限(Detection Limit)

質譜技術中所謂靈敏度，其定義則隨用於定性分析或定量分析不同而有所差異。定性分析而言，則是能形成可作為解釋之質譜圖(特殊離子/背景離子比率)，所需最少的樣品量。而於定量分析，則是可偵測到分析物最少的量，亦就是其所形成的訊號至少大於或等於三倍或十倍於背景雜訊值，亦即

通稱的偵測極限值(limit of detection, LOD)，或定量極限值(limit of quantitation, LOQ)。因此定量分析時其靈敏度與所偵測離子形成的量(abundance)有關。能使同樣藥物的量，產生較多離子量，則將增加偵測靈敏度及準確度，於質譜技術中，有許多方法可增加偵測分析物之信號，即增加分析物形成的離子數，如改變離子化條件，用較軟性離子化法或分析物先行衍生化等，以盡量增加於離子源形成離子數目或減少對所選擇偵測特殊離子產生斷裂等。

另外偵測離子所得訊號，其積分收集的時間即偵測離子的時間，亦將影響其靈敏度。積分時間越久，所得離子數目越多，則訊號的強度越強，因此質譜儀中，訊號獲得的模式不同，則其靈敏度有所差異。一般質譜儀訊號獲得模式有三種：掃描(scan)、選擇離子偵測(selected-ion monitoring, SIM)和選擇反應偵測(selected-reaction monitoring)，此三種獲得離子訊號方式，其偵測靈敏度依順序增加。掃描方式則是於一小段質量區間來回偵測。而選擇離子偵測，則是將質量分析器(mass analyzer)固定在所選擇特殊質量離子上，若是選擇好幾個離子偵測，則質量分析器設定於所選擇的離子間快速變換，因此其在特定離子的訊號積分時間比掃描方式較久，則將增加其訊號/雜訊比，而得到較高的靈敏度，比掃描模式靈敏度有時可高達1000倍以上。選擇反應偵測模式，則必須為兩部以上質譜儀所形成的串聯質譜儀才可執行。由第一部質譜儀選擇特殊離子經由碰撞感應解離(collisionally induced dissociation, CID)方式產生離子斷裂，於第二部質譜儀選擇特殊斷裂離子偵測，可增加其偵測離子的訊號與雜訊比，而增加其選擇性，靈敏度則與選擇離子偵測模式相當。

(二) 外標準法(External Standard Method)

所謂外標準法即是利用一數學關係，由一定體積內含已知濃度藥物的訊號強度，計算出待測物內藥物的含量，不需要改變分析條件，只要注入相同體積，即可由已知濃度訊號和檢品待測藥物之訊號算出。主要是訊號與濃度必須成線性關係，且不含藥物時，其訊號強度應為零的狀況下，只為注入體積相同，即可應用此方式測量藥物濃度。電子撞擊游離法時，其藥物濃度與訊號大多成線性關係，因此可利用此法計算藥物含量。其他游離法時，則離子的形成及其強度，將受到樣品含量及真空度影響，亦即在高的樣品壓力下，離子的相對強度將有

所改變，此時，可利用不同標準濃度而製成一檢量線(calibration curve)，再計算待測藥物之含量，則將較接近真實含量。

(三) 內標準法(Internal Standard Method)

此種定量測定方式則是選擇一化合物其化學和物理性質與待測藥物相似作為內標準品。內標準品分為三大類：含有穩定同位素元素的異構物，同類化合物或具有化學性質相同之化合物。訊號測定時，標準品與分析物同時進行，比較待測藥物與內標準品或參考物質之訊號即可算出其含量，這種方法可以減少各種誤差。因為無論在樣品處理時的損耗，或衍生化過程之流失，與進入質譜儀分析上所產生之誤差，待測藥物與內標準品均進行相同的損失。整個分析過程中，其相對比值則保持不變。當分析開始時，加入已知量之內標準品，則內標準品與檢體中藥物含量的比值即為固定，因此整個分析過程之流失和誤差，可以忽略。為了得到最大精密度(precision)，內標準品於整個分析步驟，越早加入越好。其檢量線的製作，即加入定量的內標準品於配製不同濃度藥物之溶液偵測而製得。

(四) 同位素稀釋方法(Isotopic Dilution Method)

同位素稀釋方法，實際上是內標準法的一種，此時用的標準品為與欲偵測藥物具有相同結構，只是其含有同位素的元素。一般採用含氘同位素，其化學性質均相同，只是質量上的差異。目前藥物檢測實驗室大多採用含有穩定同位素元素的異構物，作為內標準品。利用含有同位素元素的異構物作為內標準品，其層析分析上滯留時間幾乎相同。只要其同位素異構物含量固定，可以不用檢量線即可偵測不同濃度之藥物。但理論值與實際利用檢量線所求得值，不一定吻合。劉瑞厚教授在2002年，發表於Analytical Chemistry期刊對於不同藥物用不同同位素異構物作為內標準品標定時，其優缺點和影響有詳盡的描述。

(五) 藥物定量誤差來源

於藥物定量誤差來源可分為兩部分，一為樣品處理部份，另外則為儀器分析部分。大部分的誤差均來自藥物的處理步驟，因此樣品處理程序的品質保證(quality assurance, QA)與品質控制(quality control, QC)則更顯得重要。而儀器部分形成定量誤差來源又可分為氣相層析部分，和質譜部分。因為藥物檢測是以所檢測之離子數目來計量，而形成離子數目的多寡，則將影響到偵測靈敏度和精密度，

因此偵測時，產生離子數目越多越好，而影響此結果於層析部分包含以注射針注入時，其注射技巧，而樣品注射部分之內管(liner)乾淨與否，將影響注入樣品流入管柱，而墊片(septum)使用過久將造成漏氣現象，均會影響到質譜偵測靈敏度。質譜儀於離子源部分是產生離子的地方，若受到污染時，將影響到其離子之形成，此部分可由使用電子倍增管(electromultiplier, EM)電壓值判之，若EM值過高，有可能是離子源受到污染，此時很明顯將使質譜儀偵測靈敏度下降。若清洗離子源後，EM值還是過高，則必須考慮更換EM，否則將影響到藥物檢測。一般EM最高值設定值為3000V，若超過2600V以上則EM可能被污染或衰老。

(六) 真空度影響

質譜技術是於真空下操作，真空度不良，即表示有其他成份氣體分子存在，將影響到藥物離子的形成及產生離子與氣體分子碰撞斷裂，而影響到所選擇偵測離子形成的總量，進而影響定量的靈敏度。造成真空度不佳有兩個來源，一為離子源部份受到污染，其污染成分慢慢蒸發出來，另一來源則為系統漏氣，即表示空氣滲入儀器。系統真空度狀況良好與否，可由水分子離子， m/z 18和空氣中氮分子離子， m/z 28相對強度比值而窺知。正常狀況下，真空度良好時，水分子離子， m/z 18強度比氮氣分子離子， m/z 28強。若 m/z 28離子強度比 m/z 18離子稍高時，表示有微漏。若 m/z 28離子強度比 m/z 18離子強度大很多時，可能有較大的漏氣(gross air leak)，因此時離子源有大量空氣將與藥物離子碰撞，而影響其偵測離子形成，則偵測靈敏度將受影響，此時若樣品含藥物濃度為閾值附近，則分析所得結果，將影響最後判定。

藥物定量檢測結果，除了供法院判決依據，亦可提供藥物動力學及臨床醫學上參考。但所用尿液檢體，成分複雜，而所含的分析藥物量又很少，因此所用分析技術必具備高靈敏度和高選擇性之特性。質譜技術兼具此兩種需求，故目前於藥物檢測均非以此技術不可，但質譜技術其定量偵測靈敏度受到許多因素影響，必須了解各種影響因素並調至其最適當條件，使其影響至最低，才能發揮質譜技術特性。此篇謹就質譜於定量檢測時，部分應注意的因素說明，作為對應用此技術於藥物分析有興趣者之參考。