

# 吲满速尿的 GC/MS 测定方法 及其在尿中代谢的研究

秦 旻\* 王小兵 杨树民 朱绍棠

(国家体委运动医学研究所 北京 100029)

[摘要] 本文研究了吲满速尿的 GC/MS 检测方法, 比较了不同的衍生化方法和提取方法, 优化了条件, 并对吲满速尿的阳性尿的代谢进行探讨, 建立了人尿中测定吲满速尿的实用方法。

关键词: 吲满速尿 GC/MS 检测 尿 代谢

Indapamide, 吲满速尿<sup>[1]</sup>, 是一种广泛应用于治疗高血压、水肿的药物, 在 1994 年国际奥委会的禁用表中首次明确作为利尿剂被禁用。利尿剂由于能够在涉及重量级别的体育项目(如举重、拳击)中降低体重, 并且可用来稀释其他禁用药物而躲避检查, 因此利尿剂一直被作为一大类药物为 IOC 所禁用。目前虽然对吲满速尿的测定国外有一些报道<sup>[2,3]</sup>, 但大都是用 HPLC 进行测定, 而作为兴奋剂的测定, 需有 GC/MS 作为最后的确证手段, 因此我们系统地研究了吲满速尿的测定方法及其在尿中的代谢情况, 较成功地完成了吲满速尿的 GC/MS 测定方法的建立。

## 1 实验部分

### 1.1 药品试剂

吲满速尿由加拿大 INRS-Sante 实验室提供, 硅烷化试剂 BSTFA/1%TMCS 为 REGIS 化学公司出品, 乙酰化试剂 MSTFA 为 Sigma 出品, 丙酮、碘甲烷等其他试剂均为国产分析纯试剂。实验前, 丙酮加无水碳酸钾干燥 24 小时后重蒸, 碘甲烷在 42℃ 重蒸后收集备用。

### 1.2 仪器条件:

Fisons GC8000/MD800, HP-1 石英毛细管柱(18m×0.2mm×0.33μm, 固定相为含苯基的交联甲基聚氧硅烷)。升温程序: 从 100℃ 起以 20℃/min 升至 280℃, 停留 5min, 然后以 10℃/min 升至 290℃, 保持 5min。进样口温度 280℃, 接口温度 290℃。

### 1.3 样品提取及衍生化

1996 年 4 月 4 日收

\* 通讯联系人

取尿样 3mL 于试管中,加入固体缓冲剂 0.5g,摇匀后加乙酸乙酯 4mL,密封,振荡提取 15min,离心 5min(4000rpm),分出有机相,并于 40℃以氮气吹干。上述残渣用丙酮溶解转移至 1mL 的小瓶,用氮气吹干,加丙酮 100 $\mu$ L,碘甲烷 100 $\mu$ L 和 50mg 无水碳酸钾。密封后于 60℃加热 3 小时。反应液用于 GC/MS 分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吲满速尿的衍生化结果

我们分别对吲满速尿的标准品进行了甲基化、硅烷化和乙酰化<sup>[5]</sup>,发现吲满速尿的硅烷化和甲基化的效率均比乙酰化的效率高,而硅烷化和甲基化的灵敏度相近,考虑到利尿剂的常规分析方法<sup>[4]</sup>主要采用甲基化,因此我们在实验中采用了甲基化作为吲满速尿的衍生化方式,吲满速尿标准品的甲基化的质谱见图 1,  $m/z$  407 为分子离子峰,是吲满速尿的三甲甲基化产物,其中  $m/z$  161 为吲满速尿的两个环中间-NH-CO-键断裂产生的碎片,  $m/z$  161 很强而分子离子峰很弱也充分证明了肽键的不稳定性。

### 2.2 吲满速尿的提取方法及回收率

我们分别用酸性 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 : \text{NaH}_2\text{OPO}_4 = 99 : 1 \text{ W/W}$ ) 和碱性的固体缓冲剂 ( $\text{NaHCO}_3 : \text{K}_2\text{CO}_3 = 3 : 2 \text{ W/W}$ ) 调整 PH 以乙酸乙酯对吲满速尿的标准品进行了酸性提取和碱性提取,并测定了它们的回收率,其中碱提的收率为 95.4%,酸提的收率为 76.1%,因此我们的实际的工作中采取碱提。

### 2.3 对吲满速尿的阳性尿的研究

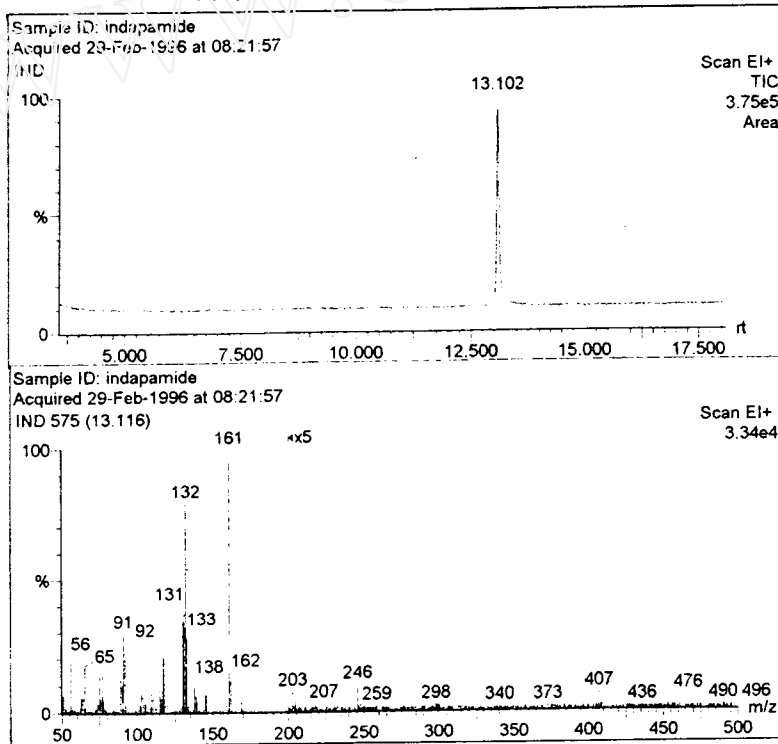


图 1 Indapamide 甲基化衍生物的 TIC 及质谱图

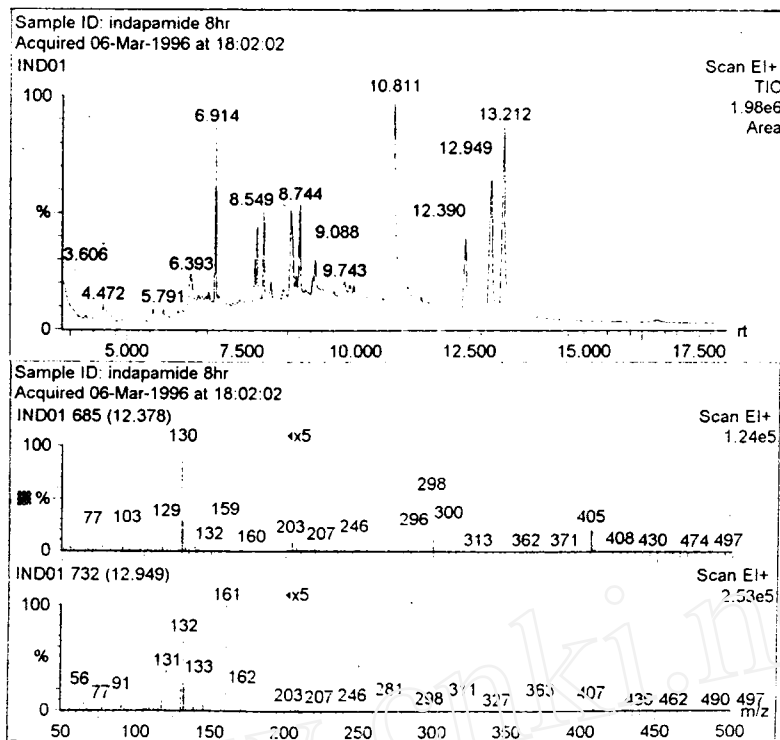


图 2 Indapamide 阳性尿甲基化的 TIC 及质谱图

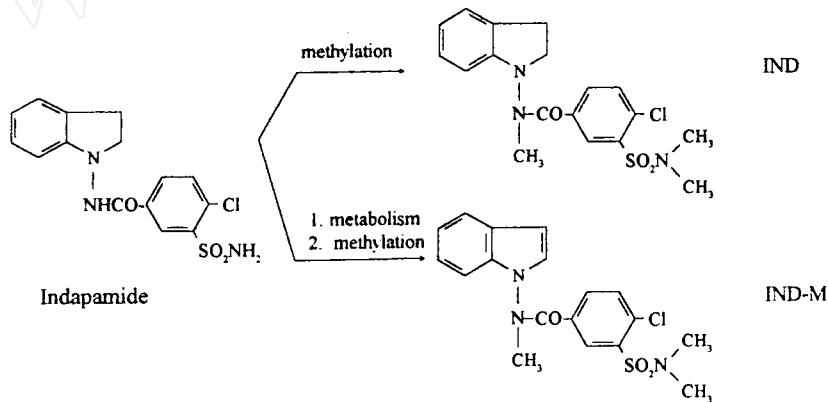


图 3 Indapamide 甲基化产物及其代谢物的结构

在对吲哚美辛的阳性尿的研究中发现,吲哚美辛(IND)并不如大多数利尿剂那样以大分数的原型药物的形式从体内排出,而是在排出大量原型药物的同时,还形成了一种更稳定的变构体,经所得质谱推测该变构体是在吲哚美辛原有的杂环的基础上脱去了两个氢,从而形成了更稳定的吲哚环,其衍生化后的分子离子峰为  $m/z$  405,见图 2。从该药的原型及其变构体的质谱图中也可以看出,吲哚美辛(IND)的分子离子峰  $m/z$  407 比其脱氢化合物(NID-M)的分子离子峰  $m/z$  405 要弱,并且更容易碎裂成小分子(图 3)。我们对

服药 5mg 的健康男性的尿进行了研究,并以尿中所含该药的原型及其脱氢代谢物的丰度对相应的阳性尿收集时间作图得到该药物的消除曲线,如图 4。发现吲满速尿的原型一般在 5 小时左右浓度达到最大,并且在服药 39 小时还能检出原型药物。其代谢物 IND-M 始终伴随原型排出,且浓度稍低,排出曲线与原型相类似,IND-M 在服药 32 小时后依然可检出。

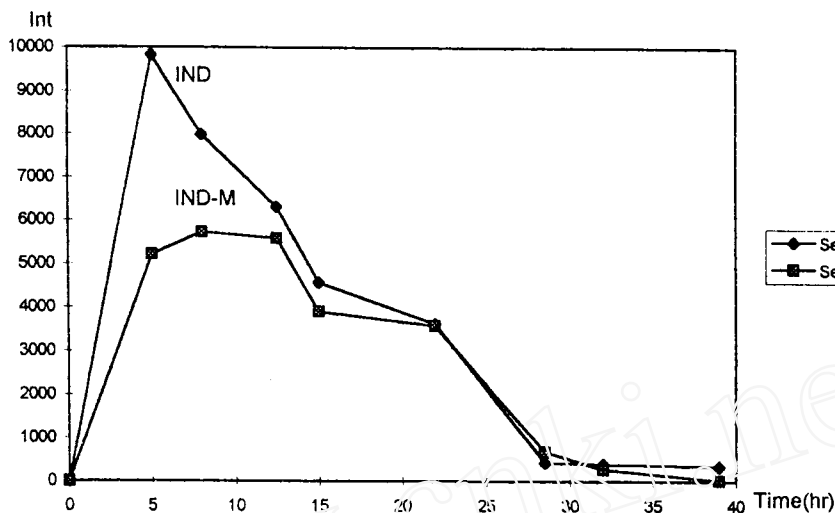


图 4 阳性尿中 Indapamide 原型及脱氢化物的消除曲线

### 参 考 文 献

- 1 中国药典大辞典,中国医药科技出版社,1991 年
- 2 R LESLIE CHOI, MARC ROSENBERG, PETER E GREBOW. J Chromatogra, 1982; 230: 181-187
- 3 PIERGIO PIETTA, ALMA CALATRONI. J Chromatogra, 1982; 228: 377-381
- 4 Yawei Li, Shaotang Zhu, Tonghui Zhou. Chinese Chemical Letters, 1990 1(3): 225-228
- 5 吴筠, 方洪矩, 段宏瑾等. 药物分析杂志, 1991; 11(4): 195

## GC/MS Study on Indapamide in Human Urine

Qin Yang\*, Wang Xiaobin, Yang Shuming, Zhu Shaotang

(National Institute of Sport Medicine, Beijing 100029, China)

Received 1996-04-04

### Abstract

A reliable method is described for detection of indapamide in human urine using GC/MS analysis. The derivatization and extraction of indapamide are discussed and an important metabolite of the positive urine is found. The extraction profile of indapamide is investigated by GC/MS.

Key Words: indapamide, GC/MS, detection, urine, metabolite

\* To whom the response should be addressed.