

# 小鼠尿中克仑特罗及其代谢物的 GC/MS 分析

徐友宣\* 王 杉 申 利 吴 筠 张长久 朱绍棠  
(国家体委运动医学研究所兴奋剂检测中心 北京 100029)

[摘要] 本文用 GC/MS 法对小鼠尿中克仑特罗及其代谢物进行鉴定、分析, 检出了一个代谢物并建立了分析方法。

关键词: 克仑特罗 代谢物 GC/MS

克仑特罗(Clenbuterol, CL)是作用极强的  $\beta_2$  受体激动剂, 由于此药还兼有蛋白同化激素的作用, 故国际奥委会从 1992 年开始明确规定禁止使用此药。

此药的 GC/MS 分析有过一些报道<sup>[1-3]</sup>, 但由于人的服用剂量仅几十微克, 要用人体进行此药的代谢研究是比较困难的, 所以我们采用小鼠作为实验对象进行大剂量给药, 为在人尿中进行此药及代谢物的分析打下基础。

## 1 实验

### 1.1 药品与试剂

克仑特罗(加拿大 INRS-Sante 实验室);  
纳多洛尔(汉城兴奋剂中心, 内标物);  
N-甲基-N-三甲基硅基三氟乙酰胺(MSTFA, 美国 Sigma 公司);  
其它均为国产分析纯试剂, 有机溶剂需经重蒸处理。

### 1.2 仪器及操作条件

HP5890-HP5970 气相色谱-质谱联用仪, 25m × 0.22mm × 0.33 $\mu$ m HP-5 交联柔性石英柱, 载气为氦气, 流速 0.98mL/min, 柱温 180 $^{\circ}$ C  $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  220 $^{\circ}$ C  $\xrightarrow{5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  260 $^{\circ}$ C, 进样口温度 250 $^{\circ}$ C, GC/MS 接口温度 290 $^{\circ}$ C, 分流比 1:6。

### 1.3 阳性尿的收取

将 3mg 盐酸克仑特罗溶于 4mL 去离子水中, 分别取 0.5mL 对 8 只小鼠进行灌胃给药, 收取 0、1、2、3、4、6 天的所有尿液, 贮于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中备用。

### 1.4 化学提取及衍生化步骤

1993 年 5 月 5 日收

\* 通讯联系人

2mL 尿中加入 1g 固体缓冲剂( $\text{NaHCO}_3/\text{K}_2\text{CO}_3=3:2$ ),  $2\mu\text{g}$  内标及 4mL 提取液(乙醚/异丙醇=9:1), 在振荡器上振荡 10min, 于 2500rpm 下离心 5min, 取出上层清液, 于  $50^\circ\text{C}$  氮气流下吹干, 然后在残渣中加入  $100\mu\text{L}$  MSTFA/ $\text{NH}_4\text{I}$  溶液(1000:2, V/W), 于  $80^\circ\text{C}$  下加热 10min, 然后取  $2\mu\text{L}$  于 GC/MS 上进样分析。

## 2 结果与讨论

2.1 CL 的体内过程未见文献报道。采用上述化学处理方法分别对空白尿及给药 1 天后的阳性尿进行处理, 然后对其色谱进行比较, 结果在阳性尿得到的总离子流色谱图中除得到 CL 原型峰以外, 还在其后得到一个未知峰, 其色谱及质谱如图 1-3 所示。

按通常的代谢理论, CL 的主要代谢途径应是 N-去烷基化<sup>[4]</sup>, 这个产物的理论裂解途径与我们所得到的未知物质谱图是吻合的(如图 4 所示), 说明得到的未知物很可能就是 N-去烷基克仑特罗, 此外未发现其它未知峰。

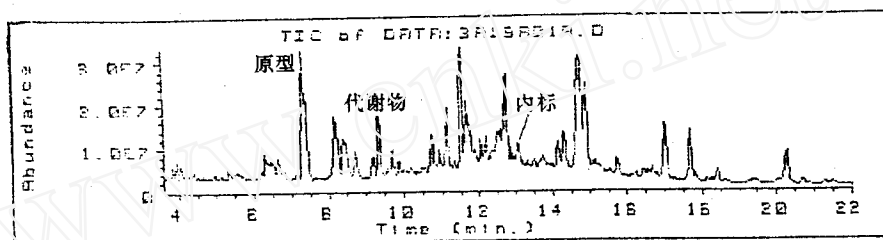


图1 小鼠阳性尿的总离子流图

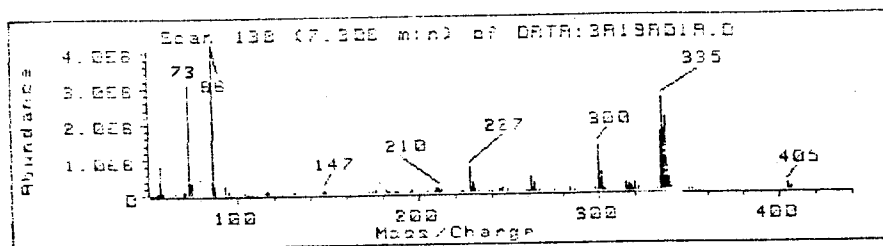


图2 CL-2TMS 衍生物的质谱图

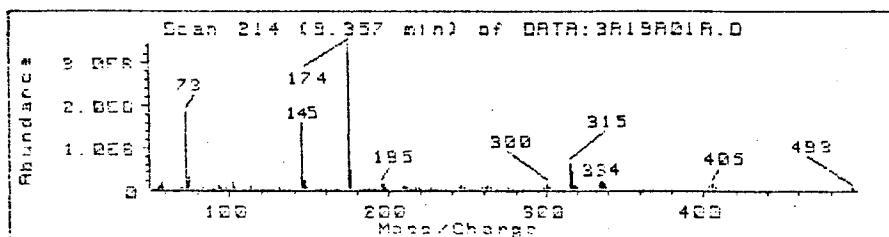


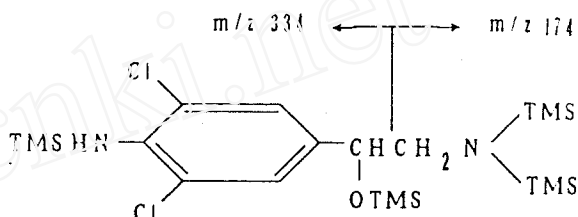
图3 未知峰 TMS 衍生物的质谱图

## 2.2 尿液中药物及代谢物浓度变化

将不同时间收集的阳性尿按上述化学提取方法进行处理,选择干扰较小的  $m/z335$  (原型)及  $m/z174$  (代谢物)作为选择离子进行多离子监测,然后以选择离子的峰面积对时间作图得图5。由图可见,药物原型及代谢物浓度在1天后逐渐降低,至6天时仍能检出。

## 2.3 CL 的回收率及检测限

取6份2mL空白尿,前3份中各加入  $2.0\mu\text{gCL}$ ,然后6份尿一同进行化学处理,在得到的后3份尿的残渣中也加入  $2\mu\text{gCL}$ ,进行硅烷化处理后进样分析,以  $m/z86$  的峰面积进行比较得回收率为  $86.2 \pm 5.3\%$  ( $n=3$ )。配制系列浓度CL标准品溶液,衍生化后进样分析,以2倍噪音为标准得检测限为  $20\text{pg}(m/z86)$ 。



$M^+ - \text{CH}_3 = 493$

$M^+ - \text{NHTMS} - \text{CH}_3 = 405$

$174 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3 = 145$

$M^+ - \text{CH}_3 - \text{HNTMS} - \text{HOTMS} = 315$

图4 代谢物 4TMS 产物的主要裂解途径

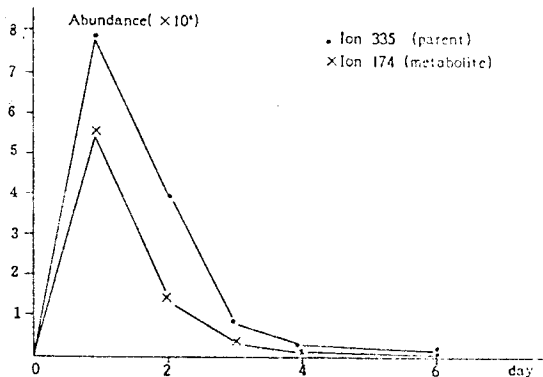


图5 原型及代谢物的峰面积-时间曲线

## 参 考 文 献

- 1 Dumasia M C, Houghton E. J Chromatogr, 1991, 564: 563.
- 2 Leyssens L, Driessen C. J Chromatogr, 1991, 564: 515.
- 3 Pelettini A *et al.* J Chromatogr, 1991, 564: 529.
- 4 刘昌孝. 药物代谢动力学, 长沙: 湖南科学技术出版社, 1979.

## Analysis of Clenbuterol and Its Metabolite in Urine of Rats by GC/MS

Xu Youxuan, Wang Shan, Shen Li,  
Wu Yun, Zhang Changjiu, Zhu Shaotang  
(China Doping Control Center, National  
Research Institute of Sports Medicine,  
Beijing 100029, China)

Received 1993-05-05

### Abstract

The methods were established for the analysis of clenbuterol and its metabolite. 3 mg of clenbuterol hydrochloride to 8 rats, the urine samples were extracted with diethyl-ether-isopropanol and derivatized with MSTFA/NH<sub>4</sub>I. N-dealkylated clenbuterol was identified and the excretion curves of clenbuterol and its metabolite were obtained.

Key Words: clenbuterol, metabolite, GC/MS