

固相萃取 GC-FID 和 GC-MS 分析血浆中碱性药物

邱丰和* 刘力 罗毅 刘峰 卢涌泉

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

摘要 报道了用 X-5固相萃取分离、毛细管 GC-FID 和 GC-MS 定性定量分析人血浆中34种碱性药物的方法。在优化的提取条件下,大部分药物的最低检测浓度在 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 之间,线性范围、定量精密度等满足临床中毒分析的要求。

关键词 碱性药物; 固相萃取; GC-FID; GC-MS

在可能引起中毒的药物中,碱性药物占绝大部分,建立一种体液中碱性药物的系统分离和分析方法,对于中毒病人的及时救治很有意义。近年来文献报道的碱性药物系统分离分析方法已有很多,系统分离主要是用溶剂萃取^[1~3],应用固相萃取的报道较少^[4],X-5大孔树脂固相萃取用于大量碱性药物系统分离未见报道。本文以 X-5固相萃取为基础,建立了血浆中34种碱性药物的毛细管气相色谱和 GC-MS 系统分析方法。

实 验 部 分

仪器和试剂

Trio-1000色质联用仪(英国 VG 公司); GC-9A 气相色谱仪,C-R2AX 积分仪(岛津公司)。

所用局麻类药物由 Sigma 购得,其它各种药物和内标 SKF525A(盐酸丙基解痉素)均由公安部二所购得,先配成 $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的储备液,实验前稀释成 $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的工作液。X-5大孔吸附树脂(40~60目)为南开大学化工厂产品。各种试剂均为分析纯。

pH 9以下的缓冲溶液用 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ 和 KH_2PO_4 配制,pH 9以上的缓冲溶液用 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$ 和 NaHCO_3 配制。

样品准备

萃取柱的装填与处理前文已有描述^[5]。取血浆 0.5 ml ,加入一定量待测药物及内标,用缓冲溶液 2 ml 稀释,以 $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速过柱,用蒸馏水 5 ml 洗去水溶性杂质,药物用洗脱剂 5 ml 洗下,流速同前,旋转蒸发至干, $100 \mu\text{l}$ 甲醇溶解定容,取 $1 \mu\text{l}$ 进入 GC 和 GC-MS。

色谱条件

色谱柱为 SE-54柱($25 \text{ m}\times 0.25 \text{ mm}$,北京石油化工研究院),采用程序升温,起始温度 120°C ,升温速率 $15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,终止温度 260°C ,保持 20 min ;高纯氮作载气,柱前压 150 kPa ;检测器为 FID,温度 280°C ; $1 \mu\text{l}$ 进样,进样口温度 280°C ,分流比 $6:1$ 。

GC-MS BP-5柱($25 \text{ m}\times 0.25 \text{ mm}$,惠普公司),程序升温,起始温度 150°C ,保持 1 min ,升温速率 $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,终止温度 280°C ,保持 20 min ;载气为 He 气,柱前压 50 kPa ;进样口温度 280°C ,无分流进样。

本文于1995年6月30日收到。

*通讯联系人,现在工作单位:军事医学科学院仪器测试中心

结果与讨论

pH 的优化

图1示出了 pH 对不同类别药物回收率的影响。由图可知, pH 超过10以上时, 各类药物的回收率趋于稳定。因此, 以下对各类药物的实验中, 血浆的过柱 pH 统一为10。

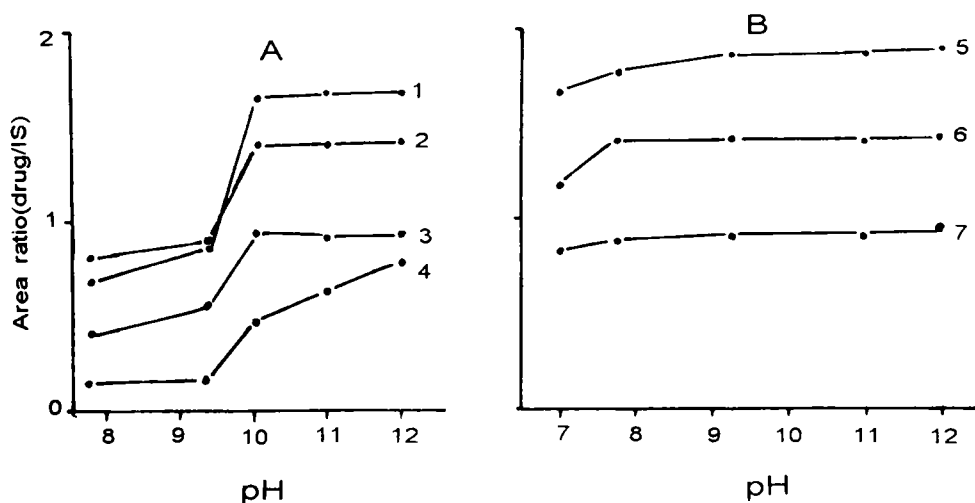


Fig 1 pH effects on recoveries of some basic drugs. A. Phenodiazepines; B. Phenothiazine and tricyclic antidepressants. 1. Diazepam; 2. Clozapine; 3. Chlorpromazine; 4. Alprozolam; 5. Chlorprothixene; 6. Promethazine; 7. Amitriptyline.

定性分析

药物的定性分析结合 GC 和 GC-MS 两种方法, GC 法用保留时间和相对保留时间定性, 方法简便易行, 但需要经常对色谱仪进行校正并进行空白对照^[6]; GC-MS 应用毛细管色谱柱后, 具有同气相色谱法相同的分离能力, 可作为 GC-FID 初筛结果的验证手段, 也可通过检索质谱数据库直接对未知药物进行定性, 方法更为灵敏可靠。图2是吩噻嗪和三环类及8种碱性药物的 GC-MS 总离子流色谱图。

在优化的提取条件下, 大部分药物 GC-FID 的最低检出浓度为 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, 比中性提取方法灵敏度高2~4倍^[6], 但可待因和海洛因等 GC-FID 的灵敏度较低, 用 GC-MS 分析时灵敏度有所改善。

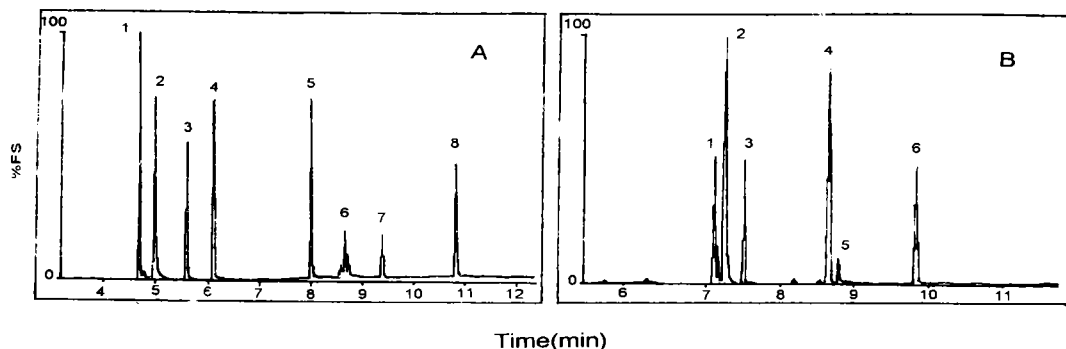


Fig 2 Chromatogram of total ion current of 8 basic drugs (A) and phenothiazines and tricyclic anti-depressants (B). A: 1. Pethidine; 2. Caffeine; 3. Amidopyrine; 4. Chlorphenamine; 5. codeine; 6. Thebaine; 7. Heroin; 8. Papaverine. B: 1. Amitriptyline; 2. Doxepin; 3. Promethazine; 4. Chlorpromazine; 5. Chlorprothixene; 6. Trifluoperazine.

定量分析

标准曲线 分别配制浓度为0~50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的混合药物的血浆溶液,各加入10 μl 内标(1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$),各取0.5 ml,按样品准备方法过柱。以上述条件作色谱分析,以浓度对样品峰面积与内标峰面积比值作线性回归分析,回归方程 $Y=a+bX$, X:药物浓度; Y:药物与内标面积比)。各种药物的标准曲线数据列于表1。

Tab 1 Standard curves of some basic drugs

Drug	Regression equation	r	Linear range($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
Diazepam	$Y = -0.0329 + 0.0875X$	0.9957	0.5~40
Chlordiazepoxide	$Y = 0.0031 + 0.0343X$	0.9967	2~40
Flurazepam	$Y = -0.0764 + 0.0569X$	0.9964	2~40
Clozepam	$Y = 0.0457 + 0.0899X$	0.9926	1~40
Butamben	$Y = -0.0414 + 0.0481X$	0.9996	1~50
Prilocaine	$Y = -0.0267 + 0.0621X$	0.9968	0.5~50
Lidocaine	$Y = -0.0638 + 0.0605X$	0.9972	1~50
Procaine	$Y = -0.0142 + 0.0450X$	0.9967	0.5~50
Pramoxine	$Y = -0.0394 + 0.0489X$	0.9991	1~50
Bupivacaine	$Y = -0.0889 + 0.0704X$	0.9993	1~50
Butacaine	$Y = -0.0193 + 0.0504X$	0.9950	2~50
Dibucaine	$Y = -0.1424 + 0.0599X$	0.9966	2~50
Pethidine	$Y = -0.1080 + 0.0650X$	0.9912	1~50
Caffeine	$Y = 0.0460 + 0.0887X$	0.9978	1~50
Codeine	$Y = 0.0147 + 0.0116X$	0.9965	10~50
Heroin	$Y = 0.0049 + 0.0052X$	0.9982	10~50
Thebaine	$Y = 0.0013 + 0.0090X$	0.9898	10~50
Papaverine	$Y = -0.1044 + 0.0630X$	0.9973	2~50
Amidopyrine	$Y = -0.1627 + 0.0615X$	0.9944	1~50
Chlorpheniramine	$Y = -0.0247 + 0.0674X$	0.9905	1~50

方法精密度

我们以局麻药为例考察了该方法的精密度。配制浓度为20 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 混合药物的血浆,按样品处理方法过柱,测量各种药物的色谱峰面积,分别用回归方程计算方法回收率及相对标准偏差(RSD)。由表2可知大多数药物的RSD都在10%以内。

Tab 2 Relative recovery and precision data of 8 local anesthetics

Drug	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)		Recovery (%)	RSD (%)
	Added	Found		
Butamben	19.96	19.96	100	7.8
Prilocaine	21.00	20.27	96.5	1.1
Lidocaine	19.20	19.82	103.2	7.9
Procaine	18.50	18.88	102.1	4.9
Pramoxine	20.80	17.09	82.2	4.1
Bupivacaine	22.24	17.52	78.8	3.9
Butacaine	20.80	18.27	87.8	2.5
Dibucaine	18.90	18.78	99.4	11.5

参 考 文 献

- 1 Cox RA, Crifasi JA, Dickey RE *et al.* A single-step extraction for screening whole blood for basic drugs by capillary GC/NPD. *J Anal Toxicol*, 1989, **13**:224
- 2 Watts VW, Simonick TF. Screening of basic drugs in biological samples using dual column capillary chromatography and nitrogen-phosphorus detectors. *J Anal Toxicol*, 1986, **10**:198
- 3 Drummer OH, Horomidis S, Kourtis S *et al.* Capillary gas chromatographic drug screen for use in forensic toxicology. *J Anal Toxicol*, 1994, **18**:134
- 4 Chen XH, Franke JP, Wijsbeek J *et al.* Determination of basic drugs extracted from biological matrices by means of solid-phase extraction and widebore capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J Anal Toxicol*, 1994, **18**:150
- 5 邱丰和,刘力,郭励等. 固相萃取结合 GC-FID 和 GC-MS 快速分析血浆中巴比妥类药物. 药理学报, 1995, **30**:372
- 6 邱丰和,刘力,崔柯等. 固相萃取结合 GC-FID 筛选血浆中70余种酸性、中性和碱性毒物. 药物分析杂志, 1995, **15**(增刊):43

SYSTEMATIC ANALYSIS OF BASIC DRUGS IN PLASMA USING X-5 SOLID-PHASE EXTRACTION GC-FID AND GC-MS

FH Qiu, L Liu, Y Luo, F Liu, and YQ Lu

(*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850*)

ABSTRACT A systematic determination method for 34 basic drugs in human plasma is described. Drugs were extracted from plasma at pH 10 using X-5 resin as adsorbent, then identified and quantitated by capillary GC-FID and GC-MS. The detection limits for most drugs are in the range of 0.5~2.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Precision and linearity of the method are satisfactory for clinical toxicological applications.

Key words Basic drugs; Solid-phase extraction; GC-FID; GC-MS