

GC-MS法同时检测人尿液中10种常见安眠药物

袁 焯*, 郭巍巍, 李 军, 于天晓, 杨 硕(河北省儿童医院儿科研究所, 石家庄 050011)

中图分类号 R969.1;R971*.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)46-4362-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.46.15

摘要 目的:建立同时检测人尿液中10种常见安眠药物的方法。方法:采用乙醚提取,气-质联用(GC-MS)法检测。系统地对比体系pH值、提取时间等样品预处理条件以及色谱柱等GC-MS分析条件进行考察优化。运用选择离子模式(SIM)进行检测,每种成分选择2~3个特征离子。所选离子分别为:巴比妥 m/z 156、141(定量离子)、185, 苯巴比妥 m/z 204(定量离子)、117, 异戊巴比妥 m/z 156(定量离子)、141、227, 司可巴比妥 m/z 168(定量离子)、195、239, 地西洋 m/z 256(定量离子)、283, 硝西洋 m/z 264、280(定量离子), 阿普唑仑 m/z 273、308(定量离子), 咪达唑仑 m/z 310(定量离子)、325, 氯丙嗪 m/z 58(定量离子)、318, 氯氮平 m/z 326、256(定量离子)。结果:在选定的试验条件下,10种安眠药物在相应范围内线性关系良好,方法回收率在92.6%~97.3%之间, RSD在2.46%~5.19%之间,检出限为0.02~0.30 $\mu\text{g/ml}$ 。结论:本法简便、快速、灵敏、可靠,可应用于患者尿液样品中药物成分的分析检测。

关键词 气-质联用法;尿液;安眠药物

Simultaneous Determination of 10 Kinds of Common Hypnagogues in Human Urine by GC-MS

YUAN Ye, GUO Wei-wei, LI Jun, YU Tian-xiao, YANG Shuo(Institute for Pediatric Research, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for simultaneous determination of 10 kinds of hypnagogues in human urine. METHODS: Drugs were extracted with ethyl ether and detected by GC-MS. The effects of pH and the extraction time were studied and the GC operating conditions were optimized. GC-MS selective ion monitoring (SIM) mode was used to detect the 2-3 characteristic ions. The characteristic ions were: barbital m/z 156, 141 (quantitative ion) and 185; phenobarbitone m/z 204 (quantitative ion), 117; amobarbital m/z 156 (quantitative ion), 141 and 227; secobarbital m/z 168 (quantitative ion), 195 and 239; diazepam m/z 256 (quantitative ion), 283; nitrazepam m/z 264, 280 (quantitative ion); alprazolam m/z 273, 308 (quantitative ion); midazolam m/z 310 (quantitative ion), 325; chlorpromazine m/z 58 (quantitative ion), 318; clozapine m/z 326, 256 (quantitative ion). RESULTS: A good linearity of 10 kinds of hypnagogues was obtained at the corresponding concentration range. The recoveries were between 92.6%~97.3%, and the relative RSD were between 2.64%~5.19%. The detection limits were 0.02~0.30 $\mu\text{g/ml}$. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, sensitive and reliable, and it can be used for the determination of the hypnagogues in human urine.

KEY WORDS GC-MS; Urine; Hypnagogues

安眠药物在临床上广泛应用于镇静、催眠和抗焦虑,但超过正常治疗剂量或长期使用正常治疗剂量可形成对此类药物的依赖^[1]。如不慎过量使用则会出现头昏、嗜睡、注意力下降、记忆减退等现象,而用药量过小又不能达到治疗效果^[2]。因此,在临床上对常见安眠药物进行体内药物浓度监测具有重要意义。目前文献报道的对此类药物的分析检测方法主要有气相色谱(GC)法^[3]、高效液相色谱(HPLC)法^[4]、毛细管电泳(CZE)法^[5]、气-质联用(GC-MS)法^[6]、液-质联用(LC-MS)^[7]法等,但在较短时间内同时检测多种安眠药物的方法却鲜有报道。本研究建立了检测人尿液中10种常见安眠药物的GC-MS法,系统地研究了体系pH值、超声提取时间以及GC-MS分析条件等因素对这10种药物色谱行为的影响,获得了满意的分离效果。10种药物在18 min内即可完成,耗时大大减少,同时灵敏度也有所提高。本试验为医院患者的中毒诊断和药物监测提供了一个新的有效的方法。

1 材料

[4] 姜慧芳,陈斌艳,魏志军,等. 茴拉西坦胶囊在中国健康志愿者体内的生物等效性[J]. 中国临床药学杂志, 2005, 14

* 副主任技师。研究方向:临床检验诊断学。电话:0311-85911389。E-mail:yuanye1389@163.com

1.1 仪器

Agilent 7890A/5975C气相色谱-质谱仪,配有电子轰击离子源(EI)及化学工作站(美国Agilent公司);氮吹仪、离心机、超声波发生器均购于大连依利特分析仪器有限公司。

1.2 药品与试剂

巴比妥对照品、苯巴比妥对照品、异戊巴比妥对照品、司可巴比妥对照品、地西洋对照品、硝西洋对照品、阿普唑仑对照品、咪达唑仑对照品、氯丙嗪对照品、氯氮平对照品购自上海司法部司法鉴定中心。10种药物用无水甲醇均配成1.00 g/L的标准贮备液,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏,使用时再逐级稀释。甲醇、乙醚等均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

色谱柱:HP-5MS型毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度:280 $^{\circ}\text{C}$;色谱柱程序升温:初温100 $^{\circ}\text{C}$ 保持1.5 min,以25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至280 $^{\circ}\text{C}$,保持

(3):155.

[5] 曼鱼,堡兰梦,张霞. 茴拉西坦血药浓度测定及药代动力学研究[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(12):825.

(收稿日期:2013-10-01 修回日期:2013-10-30)

15 min;载气:氮气;流速:1.0 ml/min;恒流模式;1:30分流进样;进样量:1.0 μ l。

EI电子能量:70 eV;离子源温度:230 $^{\circ}$ C;四级杆温度:150 $^{\circ}$ C;电子倍增器电压:1 326 V;扫描范围: m/z 50~500;扫描方式:选择离子扫描(SIM)。

2.2 样品前处理方法

取空白健康人尿样加入“1.2”项下10种标准贮备液,配制各个药物浓度的标准尿样。取尿液样品2 ml置于10 ml离心管中,加1滴1 mol/L HCl溶液使呈酸性($pH=3$),加入乙醚3 ml超声波振荡提取10 min,离心使之分层,转移出乙醚提取液于5 ml试管中;残留液中再滴加10% NaOH溶液2~3滴,使之呈碱性($pH=11$),再次用乙醚3 ml超声波振荡提取残留液5 min,离心使之分层,转移乙醚层;合并乙醚提取液,氮吹仪浓缩至干,残留物加甲醇50 μ l溶解,供检。

2.3 体系pH值对分离的影响

调节提取溶液的pH值可以改变分配比,进而可改变提取效果。本试验将调节体系的pH值分别设定为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12进行比较试验。结果表明,当 $pH=3$ 时,巴比妥、苯巴比妥、异戊巴比妥、司可巴比妥、地西洋、硝西洋的峰面积最大,回收率最高,提取效果最好;当 $pH=11$ 时,阿普唑仑、咪达唑仑、氯丙嗪、氯氮平的峰面积最大,提取效果好。因此,本研究采用酸碱提取法,分别在 pH 为3和11时对10种安眠药物乙醚提取。

2.4 样品超声处理时间的影响

在1~10 min超声振荡时间内,随着超声振荡时间的增加,药物的回收率逐渐提高,超声时间在10 min时提取回收率接近100%,所以选择超声时间为10 min。

2.5 色谱柱的选择

由于这10种药物的沸点高低各异,所以采用0.25 μ m的较薄液膜,在兼顾高、低沸点组分的同时,可以保证在高温的条件下组分出峰较快,柱子流失小,易于组分的分离。同时采用柱长为30 m色谱柱,可以实现各个组分的有效分离。另外,本研究比较了几种不同的色谱柱对分离结果的影响,包括DB-1701(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m), DB-1(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m), HP-5MS(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m),发现使用弱极性的HP-5MS(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m)石英毛细管色谱柱能够实现被检物质与基质的良好分离。

2.6 10种安眠药物色谱图的确认

在空白尿液添加上述10种安眠药物(3 μ g/ml),按“2.2”项方法预处理后采用SIM检测,每种药物均选择2~3个监测离子,样品峰质谱离子的相对丰度与标准品峰质谱离子基本一致,才能确定样品中含有目标物质。空白尿液的选择离子色谱图见图1A,10种药物的混合标样的选择离子色谱图见图1B,色谱保留时间和质谱特征离子见表1。

2.7 标准曲线与检出限考察

取空白尿液加10种药物标准贮备液混合,配成药物质量浓度分别为0.50、1.00、3.00、5.00、10.00、15.00 μ g/ml的标准尿样,按“2.2项”方法操作,记录色谱。以药物峰面积(Y)对药物质量浓度(X)绘制标准曲线并求得直线回归方程和相关系数,以3倍信噪比计算检出限,结果见表2。

2.8 方法回收率与精密度试验

取空白尿液加10种药物标准贮备液混合,按照“2.2”项下方法处理,GC-MS测定条件平行测定5次,计算回收率和精密度,结果见表3。

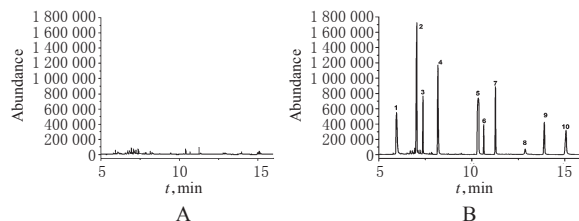


图1 GC-MS选择离子质量色谱图

A.空白尿液;B.10种安眠药物混合标样;1.巴比妥;2.异戊巴比妥;3.司可巴比妥;4.苯巴比妥;5.地西洋;6.氯丙嗪;7.咪达唑仑;8.硝西洋;9.氯氮平;10.阿普唑仑

Fig 1 GC-MS/SIM chromatograms

A. blank urine; B. mixture of 10 kinds of hypnotic drugs; 1. barbital; 2. amobarbital; 3. secobarbital; 4. phenobarbitone; 5. diazepam; 6. chlorpromazine; 7. midazolam; 8. nitrazepam; 9. clozapine; 10. alprazolam

表1 10种药物的色谱保留时间及质谱特征离子

Tab 1 Chromatographic retention time and MS characteristic ions of 10 kinds of drugs

药物	保留时间 t, min	定量离子 (m/z)	选择离子 (m/z)
巴比妥	6.02	141	156, 141, 185
异戊巴比妥	7.10	156	156, 141, 227
司可巴比妥	7.45	168	168, 195
苯巴比妥	8.25	204	204, 117
地西洋	10.42	256	256, 283
氯丙嗪	10.65	58	58, 318
咪达唑仑	11.33	310	310, 325
硝西洋	12.99	280	264, 280
氯氮平	13.99	256	326, 256
阿普唑仑	15.24	308	273, 308

表2 10种药物的线性范围、相关系数和检出限

Tab 2 Linear range, correlation coefficient and detection limit of 10 kinds of drugs

药物	线性范围, μ g/ml	r	最低检出限, μ g/ml
巴比妥	0.5~15	0.997 9	0.10
异戊巴比妥	0.5~15	0.998 8	0.05
司可巴比妥	0.5~15	0.998 4	0.10
苯巴比妥	0.5~15	0.982 7	0.05
地西洋	0.1~10	0.998 8	0.02
氯丙嗪	0.5~15	0.993 2	0.10
咪达唑仑	0.5~15	0.992 8	0.04
硝西洋	1.0~15	0.976 3	0.30
氯氮平	0.5~15	0.994 5	0.05
阿普唑仑	0.5~15	0.994 7	0.05

表3 10种药物的回收率及精密度试验结果

Tab 3 Results of recovery and precision tests of 10 kinds of drugs

药物	加入质量浓度, μ g/ml	测定质量浓度, μ g/ml	平均回收率, %	日内RSD, %	日间RSD, %
巴比妥	2	1.90	95.2	2.75	3.57
异戊巴比妥	2	1.95	97.3	2.46	3.32
司可巴比妥	2	1.90	94.9	3.12	3.89
苯巴比妥	2	1.91	95.5	3.31	3.78
地西洋	2	1.94	97.2	2.87	3.34
氯丙嗪	2	1.89	94.3	3.07	4.12
咪达唑仑	2	1.92	96.1	2.99	3.57
硝西洋	2	1.85	92.6	4.23	5.19
氯氮平	2	1.92	95.8	3.64	4.58
阿普唑仑	2	1.88	94.2	3.57	4.12

3 讨论

齐拉西酮片在健康人体内的药动学研究

朱永坚^{1*}, 陈清霞², 刘伟忠¹, 邱梅¹, 王广发³, 吴曙光^{3#} (1. 广州市脑科医院国家药品临床研究基地, 广州 510370; 2. 中山大学附属第二医院药学部, 广州 510120; 3. 南方医科大学药学院, 广州 510515)

中图分类号 R969.1; R97¹.41 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)46-4364-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.46.16

摘要 目的: 研究齐拉西酮片在健康人体内的药动学。方法: 20名健康志愿者单剂量口服齐拉西酮片40 mg, 分别于服药前及服药后0、0.5、1、2、3、4、5、6、8、12、16、24、36、48 h时采集肘静脉血, 用高效液相色谱法测定受试者血浆中齐拉西酮浓度, 药动学参数用DAS 2.0软件统计处理。结果: 齐拉西酮片药-时曲线经拟合呈一房室模型; 主要药动学参数 c_{max} 为 (167.74 ± 58.43) ng/ml, t_{max} 为 (3.72 ± 1.86) h, $t_{1/2}$ 为 (5.57 ± 1.63) h, $AUC_{0-48 h}$ 为 $(1\ 285 \pm 252.59)$ ng·h/ml, $AUC_{0-\infty}$ 为 $(1\ 396 \pm 276.54)$ ng·h/ml。结论: 齐拉西酮片在健康人体内的药动学呈一房室模型, 本试验可为临床用药提供药动学参数。

关键词 齐拉西酮; 药动学; 高效液相色谱法

Pharmacokinetics Study of Ziprasidone Tablets in Chinese Healthy Volunteers

ZHU You-jian¹, CHEN Qing-xia², LIU Wei-zhong¹, QIU Mei¹, WANG Guang-fa³, WU Shu-guang³ (1. State Base of Drug Clinical Study, Guangzhou Brain Hospital, Guangzhou 510370, China; 2. Dept. of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of Ziprasidone tablets in healthy volunteers. METHODS: 20 healthy subjects received a single oral dose of ziprasidone tablets 40 mg. Blood samples of ulnar vein were taken before medication and 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48 h after medication. The plasma concentrations of ziprasidone were determined by HPLC. Pharmacokinetic parameters were analyzed by DAS 2.0 software. RESULTS: Plasma concentration-time curves of ziprasidone conformed to one-compartment model. Main pharmacokinetics parameters of ziprasidone were as follow: c_{max} was (167.74 ± 58.43) ng/mL, t_{max} was (3.72 ± 1.86) h, $t_{1/2}$ was (5.57 ± 1.63) h, $AUC_{0-48 h}$ was $(1\ 285 \pm 252.59)$ ng·h/ml, $AUC_{0-\infty}$ was $(1\ 396.75 \pm 276.54)$ ng·h/ml, respectively. CONCLUSIONS: The pharmacokinetics of ziprasidone in human volunteers conforms to one-compartment model. The study can provide reference for the clinical application of ziprasidone.

KEY WORDS Ziprasidone; Pharmacokinetics; HPLC

盐酸齐拉西酮 (Ziprasidone hydrochloride), 商品名“力复君安”, 化学名称: 5-[2-[4-(1,2-苯并异噻唑-3-基)-1-哌嗪基]-乙基]-6-氯-1,3-二氢-2(1H)-吡啶-2-酮盐酸盐半水合物。齐拉西酮是由辉瑞制药有限公司研制开发的新的非典型抗精神病药物, 对于5-羟色胺(5-HT₂)受体和多巴胺D₂受体都有拮抗作用, 用于精神分裂或分裂情感性精神障碍患者的治疗, 具

有很好的效果^[1]。它在治疗剂量范围内使用, 具有安全、不良反应较少等特点。在临床用药剂量范围内, 其血药浓度与剂量呈线性关系^[2]。为研究齐拉西酮的药动学特性, 笔者建立了以高效液相色谱法测定人血浆中齐拉西酮的方法, 分析了20名健康志愿者口服齐拉西酮片后的血药浓度, 药动学参数用DAS 2.0软件进行统计分析, 可为临床用药提供有价值的参考。

本文通过对体系pH值、超声处理时间、色谱柱等预处理条件的选择优化以及对GC-MS分析性能的评价, 建立了一种能够同时测定人尿液中10种安眠药物的检测方法。该方法利用质谱的选择离子进行定性, 利用色谱峰面积定量, 操作过程简便, 分析速度快, 成本较低, 灵敏度高, 适用于医院患者的药物中毒诊断和治疗药物监测。

参考文献

- [1] 李本富. 药物治疗的伦理原则与要求[J]. 中国医学伦理学, 2001, 2(1): 6.
- [2] 白云娟, 于晓娟, 王晓媛, 等. 老年住院患者服用安眠药的

- 调查及护理[J]. 中华现代护理杂志, 2010, 16(21): 2494.
- [3] 徐纬, 张爱华, 李军, 等. 快速样品前处理-毛细管柱气相色谱法检测全血中的巴比妥[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(3): 474.
- [4] 王学虎, 袁敏, 张前上, 等. 液质联用仪自动筛选常见安眠镇静药的应用研究[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(6): 420.
- [5] 王瑞, 梁生旺, 卫军波, 等. 高效毛细管电泳及其在中药成分分析中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(1): 61.
- [6] 杨秀岭, 张兰桐, 袁志芳. 色谱联用技术在中药领域的研究应用[J]. 中国药房, 2006, 17(1): 62.
- [7] 戴博, 张华峰, 宋青, 等. 高效液相色谱-质谱联用法同时测定苯巴比妥、丙戊酸钠、苯妥英钠和卡马西平的血药浓度[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(3): 213.

(收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-10-13)

* 主管药师。研究方向: 临床药理学。电话: 020-81268052。E-mail: zhuyj13711@163.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师。研究方向: 药理学。电话: 020-62789416。E-mail: wsg_sh@yahoo.com.cn