

化学电离(CI)在 β 阻断剂确证中的应用研究

徐友宣 秦 阳 张长久 朱绍棠

(国家体育总局运动医学研究所兴奋剂检测中心, 北京 100029)

[摘要]在常规检测中,一些 β 阻断剂(或其代谢物)的EI质谱图极其相似,给确证工作带来麻烦。本文采用GC/MS的化学电离功能得到了特征性很强的质谱图,使确证工作简单易行,并满意地应用于实际尿样分析。

关键词: β 阻断剂, 化学电离, 确证

1 引言

兴奋剂检测工作中,当发现阳性可疑的样品时,一般是借助化合物的气相保留时间及质谱图来进行确证分析。但是,有一些 β 阻断剂(或其代谢物)的质谱图极其相似^[1,3],给确证工作带来很大麻烦,甚至造成错误的结果。我们曾使用光气衍生化的方法取得好的结果^[2],但光气的剧毒使操作十分不便,不适合日常分析。为此我们使用GC/MS的化学电离功能(CI)得到特征性很强的质谱图,并用于尿样分析,得到满意结果且无需额外操作。本文涉及的有: acebutolol (ACE, 醋丁酰洛尔), alprenolol (ALP, 烯丙洛尔), atenolol (ATE, 氨酰洛尔), oxprenolol (OXP, 烯丙氧洛尔), practolol (PRA, 醋氨洛尔), propranolol (PRO, 普萘洛尔)。它们的化学结构见图 1。

2 实验部分

2.1 药品、试剂及仪器操作条件

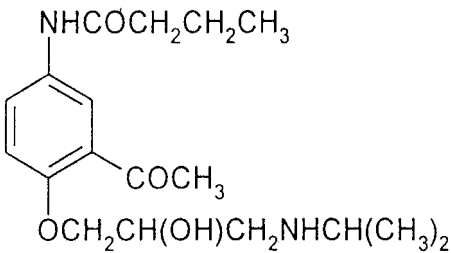
所有药品的标准品、衍生化试剂 MSTFA (N-methyltrimethylsilyl-trifluoroacetamide), MBTFA (N-methyl-bis trifluoroacetamide) 均从 Sigma 公司购买。L-半胱氨酸、乙醚、异丙醇等均为国产 AR 试剂。

HP5890-HP5988 气相色谱-质谱联用仪, 25m x 0.22mm x 0.33 μ m HP-5 交联石英毛细柱载气为氦气流速为 0.98ml/min, 升温程序为: 初始温度 100 $^{\circ}$ C, 以 20 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 180 $^{\circ}$ C, 然后以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 220 $^{\circ}$ C, 最后以 20 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 300 $^{\circ}$ C, 保留 10min。进样口温度 250 $^{\circ}$ C, GC/MS 接口温度 300 $^{\circ}$ C。

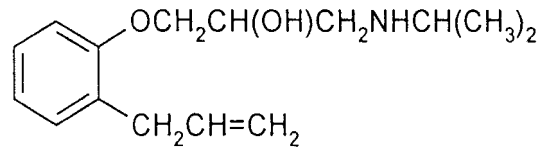
反应气为甲烷, 调节反应气, 使离子源压力为 0.4Torr。

2.2 尿样的萃取和衍生化

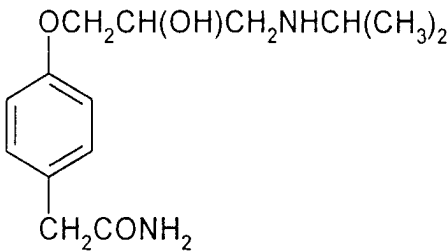
取 5ml 尿样于 10ml 玻璃试管中, 加入 0.5ml 浓盐酸和 100mg L-半胱氨酸, 混匀, 试管口盖上玻璃小球, 在 100 °C 烘箱内水解 30min, 冷却后加入 3ml 乙醚, 在振荡器上振荡 10min, 离心 5min (2500rpm), 抽去上层醚液, 在水相中加入 0.6N NaOH 溶液 (12mol/L), 混合均匀。此样与另一 5ml 尿样分别加入 2g 固体缓冲剂 (NaHCO₃/K₂CO₃= 3:2), 此时溶液的 pH 值约为 9.4。再分别加入 3ml 提取液 (乙醚/异丙醇= 9:1), 振荡 10min, 离心 5min, 将两份有机相吸出、合并, 于 50 °C 氮气流下吹干, 加入 100 μ M STEA, 在 70 °C 下加热 10min, 再加入 30 μ M BTFA, 同样条件下再加热 10min。所得溶液在 GC/MS 上进样 2 μ l。参见文献^[3]。



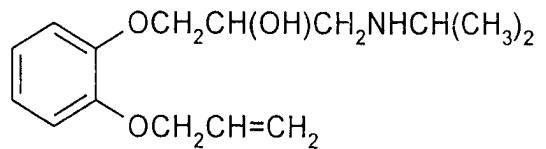
Acebutolol 336.43 (ACE)



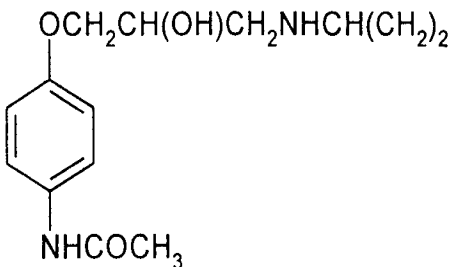
Alprenolol 249.34 (ALP)



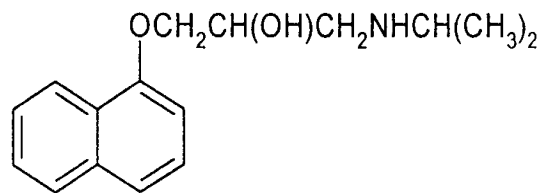
Atenolol 266.34 (ATE)



Oxprenolol 265.34 (OXP)



Practolol 266.34 (PRA)



Propranolol 259.34 (PRO)

图 1 6 种 β 阻断剂的化学结构式

3 结果

依照以上的实验步骤,采用 GC/MS 的 CI 源来分析 EI 质谱图特征性不强的 β 阻断剂,将原型及代谢物的 CI 谱图与相应的 EI 谱图相比较,得出表 1 的结果。并以 ALP 为例列出其原型及代谢物的质谱图(图 2~ 图 4)。

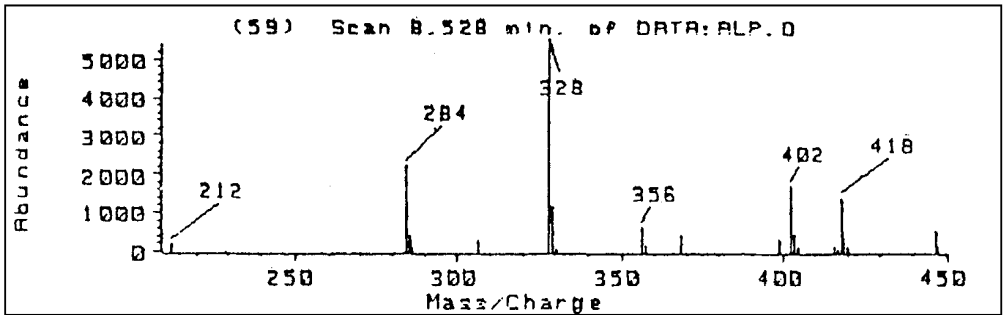
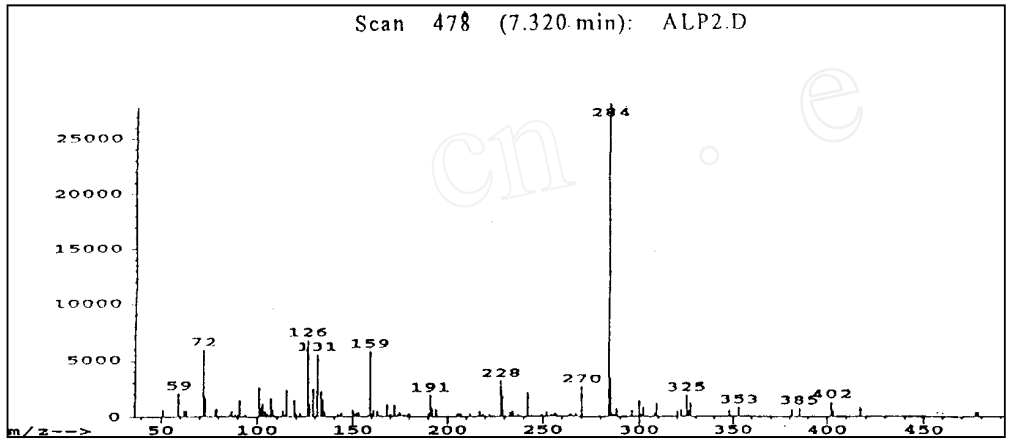


图 2 ALP 原型的 EI(上)、CI(下)质谱比较图

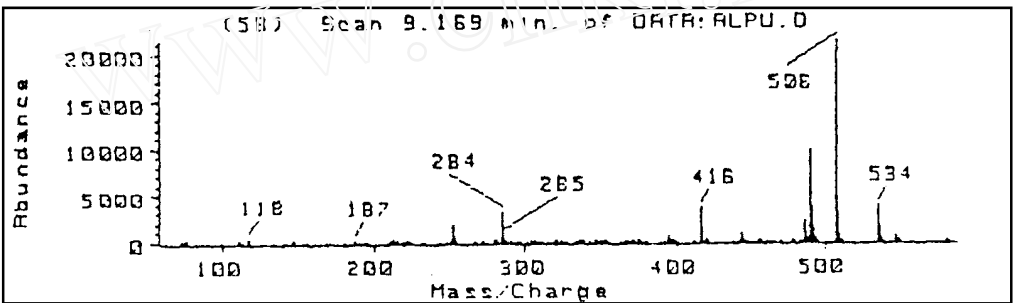
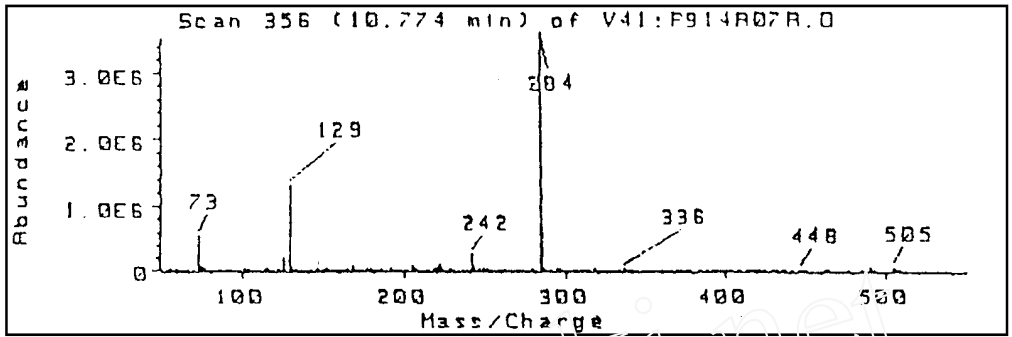


图 3 羟基-ALP 的 EI(上)、CI(下) 质谱比较图

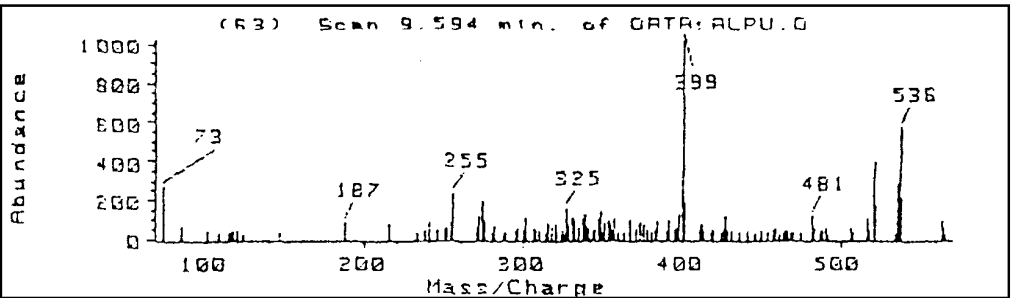
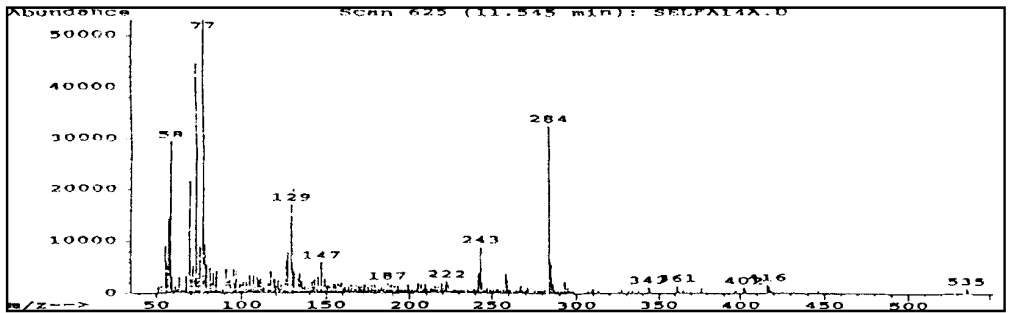


图 4 羟基, 甲氧基-ALP 的 EI(上)、CI(下) 质谱比较图

表 1 β 阻断剂的 EI/CI 质谱数据比较

名 称	分子量 (衍生化后)	EI 质谱特征离子 (百分比)	CI 特征离子 (百分比)
ACE	504	129(50), 242(20), 284(100)	284(86), 415(100), 489(40), 505(96,MH), 533(52)
乙酰-ACE	548	129(46), 242(15), 284(100)	284(100), 459(36), 533(52), 549(84,MH), 577(24)
ALP	417	129(40), 242(16), 284(100)	284(42), 328(100), 402(42), 418(33,MH), 446(14)
羟基-ALP	505	129(37), 242(10), 284(100)	284(15), 416(19), 490(46), 506(100,MH), 534(19)
羟基, 甲氧基-ALP	535	129(48), 242(29), 284(100)	399(100), 520(38), 536(56,MH), 564(12)
ATE	416	129(57), 242(17), 284(100)	327(100), 401(12), 417(27,MH), 445(8)
OMP	433	129(50), 242(14), 284(100)	344(100), 418(23), 434(23,MH), 462(12)
羟基-OMP	521	129(77), 242(17), 284(100)	212(100), 284(90), 432(50), 506(56), 522(60,MH), 550(20)
PRA	506	129(44), 284(100)	417(17), 491(46), 507(100,MH), 535(13)
羟基-PRO	515	129(33), 284(100)	516(100,MH), 403(57.7), 500(61.5), 544(19.2)

4 讨论

对以上的EI和CI质谱图及表1中所列的数据进行分析比较可以看出,各种化合物的EI质谱图非常相似,而每种化合物的CI谱图有以下明显的特征:有较强的准分子离子,有较强的M-CH₃(即M-15)离子,有较强的M-OTMS(即M-89)离子,有较强明显的M+C₂H₅离子。由以上的特点可以非常容易地区别各种化合物。

将上述特点用于尿样的分析检测,得到满意结果。

参 考 文 献

- 1 徐友宣等. 质谱学报, 1992, 13(1): 8
- 2 徐友宣等. 高等学校化学学报, 1995(1): 75
- 3 段宏谨等. 药物分析杂志, 1991, 11(5): 272

Chemical Ionization (CI) Application to the Confirmation of β -blockers

Xu Youxuan, Qin Yang, Zhang Changjiu, Zhu Shaotang
(China Doping Control Centre, National Research Institute of
Sports Medicine, Beijing 100029, China)

Received 1999-11-22

Abstract

In the routine analysis of β -blockers, when some urine were found suspicious, it was very difficult to identify the drug due to the similarities among the mass spectra of the parent drugs and many metabolites. Chemical Ionization (CI) can give more abundant mass peak on the high mass zone. The technique was applied to the confirmation of β -blockers and gave a diagnostic spectrum for each compound and therefore gave definite results.

Key Words: β -blocker, chemical ionization, confirmation