

可的松类药物的 GC/MS 分析进展

徐友宜

(国家体委运动医学研究所兴奋剂检测中心 北京 100029)

[摘要] 可的松类药物在进行 GC/MS 分析时必须进行化学衍生化, 本文综述了进行结构改造的各种化学方法, 如肟化-硅烷化、缩酮-硅烷化等。

关键词: 可的松类药物 衍生化 GC/MS

可的松类药物医学上称为糖皮质激素, 在临床上有着广泛而复杂的用途。这类药物主要影响糖和蛋白质的代谢, 用于抗炎、抗病毒、抗休克及免疫抑制。由于糖皮质激素还有提高中枢神经系统兴奋性的作用, 有时会被运动员使用, 因而国际奥委会限制使用这类药物, 可的松类药物也就成为兴奋剂检测工作的一部分。

可的松类药物的母体结构如图 1 所示, 属甾族化合物。在这类化合物的体液分析中, 可供选择的方法有放射免疫法^[1,2]、竞争蛋白结合分析法^[3~5]、高效液相色谱法^[6~8]、气相色谱法^[12~14]、气相色谱-质谱法(GC/MS)^[9~11]及液相色谱-质谱法(LC/MS)^[15~16]。前四种方法由于不能提供准确的定性分析依据而不能被兴奋剂检测所采用, LC/MS 法由于仪器本身及运行费用昂贵而不能作为常规分析方法。GC/MS 法不仅灵敏度高, 还可提供质谱图以确认化合物, 故此法是可行的。在 GC/MS 分析中, 分离提取不很困难, 但由于 20 位 C=O 的热不稳定性, 在进行气相色谱分析时易在进样口分解, 从而使分析无法进行,

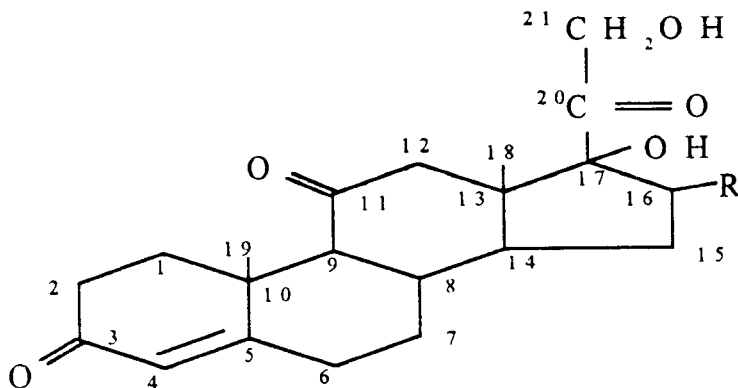
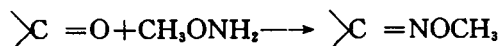


图1 可的松类药物的结构通式

因此必须对 20 位 C=O 进行结构改造,才能使 GC 分析成为可能。本文较详细地讨论这些结构改造方法。

1 肟化-硅烷化

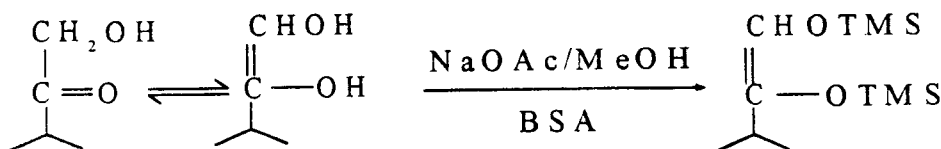
使用甲氧基胺,在吡啶介质中将分子中的各羰基都转化成肟,即



反应所用的甲氧基胺也可用苯氧基胺代替^[17]。反应完毕后,用氮气将吡啶吹干,然后用 TMSIM(Trimethylsilylimidazole)将剩余的羟基进行硅烷化^[18~32,31~37]。这种衍生物具有良好的热稳定性及挥发性,是目前可的松类药物 GC 分析中应用最广的衍生化方法。有些作者进一步使用 SEPHADEX-LH20 柱将多余的衍生化试剂与产物分离,可进一步提高产物的浓度,提高检测的灵敏度,同时也避免了反应试剂对柱子的损害^[22]。多余衍生化试剂的去除还可采用溶剂洗涤法^[20],即将反应产物溶于二氯甲烷中,然后用 0.05mol/L 的硫酸和蒸馏水分别洗涤二氯甲烷溶液,最后将有机相浓缩进样。肟化-硅烷化的缺点在于如果 16 位有取代的甲基(如地塞米松、甲基强的松龙、倍他米松等)时,由于有空间阻碍的影响,要完成这两步反应常常需要近 10 小时,并伴随较强烈的反应条件^[22]。

2 烯醇-硅烷化

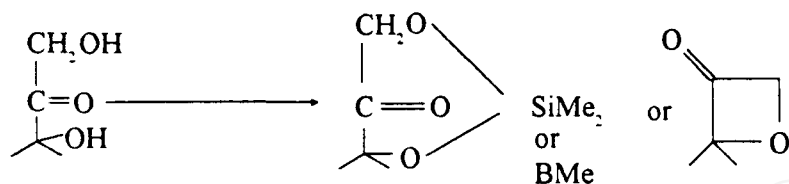
这种方法基于如下的反应机制:



在甲醇介质中,有一定催化剂存在的条件下,使 20 位羰基转化成烯醇式,然后在硅烷化试剂的作用下生成硅醚衍生物。常用的催化剂为醋酸钠^[23]或醋酸钾^[21],硅烷化试剂采用 BSA[N,OBis(trimethylsilyl)acetamide]或 BSTFA[N,O-NBis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide]^[21]。这种衍生化方法比较温和,但适用面窄,常用于地塞米松等的测定^[23,24]。

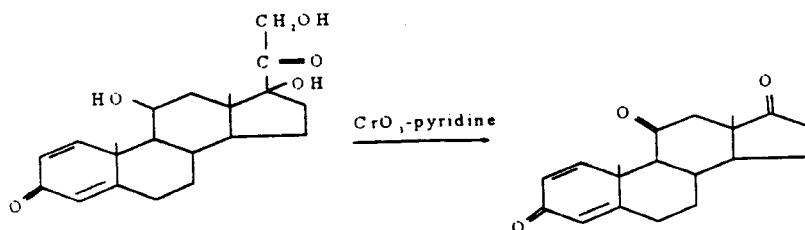
3 环化法

在 17 位有羟基取代基的化合物,可以采用双官能团的衍生化试剂将 17 位及 21 位的羟基在一定条件下环合起来,形成六元环或四元环^[25,26]。所用的环化试剂为 HCl/HCHO、甲基硼酸(丁基硼酸)或二甲基二氯硅烷。这种方法反应条件温和,副产物较少,但操作时常需要增加一些提取步骤,而且生成的产物稳定性较差,灵敏度不高。



4 化学氧化法

利用铈酸盐、氯铬酸或三氧化铬-吡啶等较温和的氧化剂将 17 位侧链断开,再将所有的羟基氧化为羰基^[27]。例如:



由于多种可的松类药物的氧化产物相同,故此方法只能用于此类药物的初步筛选工作,进一步的确认仍然需要采用其它方法,而且反应产率较低,反应后的产物复杂,后处理烦琐。

5 其它

有作者发现^[28],在 $\geq 150^\circ\text{C}$ 的条件下进行硅烷化反应,有 TMCS(三甲基氯硅烷)催化和没有催化剂得到的结果类似,因而在剧烈的条件下进行反应时催化剂似无必要。但是温度过高会产生许多不必要的副产物^[29]。所以一般情况下,人们还是选择在低温和催化剂的条件下完成衍生化反应。

以上各种衍生化反应所得到的产物在进行 GC/MS 分析时所要求的条件也是不一样的。第一种方法虽然适用面广,产物稳定,但所得到的衍生物分子量较大,可达 700 以上,所以分子离子及许多碎片离子也在高质量区,这对常用的四极质谱仪是不太合适的,故有的作者采用化学电离^[20,22,30]来增加准分子离子峰的强度。后几种方法虽然适用面窄,但对某些特定化合物会取得较好的结果。所以在进行这类药物的 GC/MS 分析时,要根据分析对象的特点选用不同方法,才能取得好的结果。

参考文献

- 1 C J Mclean, C W Booth, I Tattersall *et al.* *Eur J Appl Physiol*, 1989, 58 : 341
- 2 P J O'Connor, W P Morgan, J S Raglin *et al.* *Psychoneuroendocrinology*, 1989, 14 : 303
- 3 W A Colburn, R H Buller. *J Pharmacol Biopharm*, 1975, 3: 329
- 4 P V Bertrand, B T Rudd, P H Weller *et al.* *Clin Chem*, 1987, 33: 2047
- 5 C T M Davis, J D Few. *J Appl Physiol*, 1973, 35: 887
- 6 Z Saito, N Mimoh, S Hifumi *et al.* *Clin Chim Acta*, 1983, 131: 329
- 7 R W Kuhn, M E Deyman. *J Chromatogr*, 1987, 421: 123
- 8 S M H Al-Habet, H J Rogers. *J Pharm Sci*, 1989, 78: 660
- 9 S J Gaskell, Sieckmann. *Clin Chem*, 1986, 32: 536
- 10 H Shibasaki, T Furuta, Y Kasuya *et al.* *Biomed Environ Mass Spectrom*, 1990, 19: 225
- 11 M Ishibashi, H Takayama, Y Nakagawa *et al.* *Chem Pharm Bull*, 1988, 36: 845
- 12 C H L Shackleton, J W Honour, N F Taylor. *J Steroid Biochem*, 1979, 11: 523
- 13 N A Schmidt, H J Borburgh, T J Penders *et al.* *Clin Chem*, 1985, 31: 637
- 14 J A Luyten, G A F M Rutten. *J Chromatogr*, 1974, 91: 393
- 15 N V Esteban, A L Yergey. *Steroids*, 1990, 55: 152
- 16 J Park, S Park, D Lho, H P Choo *et al.* *J Anal Toxicol*, 1990, 4: 66
- 17 P G Devaux, M G Horning, E C Horning. *Anal Lett*, 1971, 4: 151
- 18 S Hara, T Watabe, Y Ike. *Chem Pharm Bull*, 1966, 14: 1311
- 19 J P Thenot, E C Horning. *Anal Lett*, 1972, 5: 21
- 20 S B Martin, B Amos. *J Pharm Sci*, 1978, 67: 923
- 21 W L Gardiner, E C Horning. *Biochim Biophys Acta*, 1966, 115: 524
- 22 J M Miegley, D G Wastson, T Healey *et al.* *Biomed Environ Mass Spectrom*, 1988, 15: 479
- 23 L G McLaughlin, J D Henion. *J Chromatogr*, 1990, 529: 1
- 24 K Minagawa, Y Kasuya, S Baba *et al.* *J Chromatogr*, 1985, 343: 231
- 25 H Shibasaki, T Furuta, Y Kasuya. *J Chromatogr*, 1992, 579: 193
- 26 T A Baillie, C J W Brooks, B S Middleditch. *Anal Chem*, 1972, 44: 30
- 27 G R Her, J T Watsn. *Biomed Environ Mass Spectrom*, 1986, 13: 57
- 28 N Sakauchi, E C Horning. *Anal Lett*, 1971, 4: 41
- 29 E M Chambaz, G Maume, B Maume *et al.* *Anal Lett*, 1968, 1: 749
- 30 E Houghton, P Teale, M C Dumasia, J K Wellby. *Biomed Mass Spectrom*, 1982, 9: 459
- 31 G M Rodchenkov, A N Vedenin, V P Uralets *et al.* *J Chromatogr*, 1991, 565: 45
- 32 B K Yap, G A R Johnston, R Kazlauskas. *J Chromatogr*, 1992, 573: 183
- 33 G M Rodchenkov, V P Uralets, V A Semenov *et al.* *Chromatogr*, 1988, 432: 283
- 34 G M Rodchenkov, V P Uralets, V A Semenov. *J Chromatogr*, 1988, 426: 399
- 35 G M Rodchenkov, V P Uralets, V A Semenov. *J Chromatogr*, 1987, 423: 15
- 36 G M Rodchenkov, V P Uralets, V A Semenov *et al.* *J High Res. Chromatogr & Chromatogr Commun*, 1988, 11: 283
- 37 K D Gallicano, R M Y Ng, L M Young. *Steroids*, 1985, 46: 753

Recent Development on GC/MS Analysis of Corticosteroids

Xu Youxuan

(China Doping Control Centre, National Research Institute of
Sports Medicine, Beijing 100029, China)

Received 1996-03-11

Abstract

Corticosteroids must be derivatised prior to GC/MS analysis. Varieties of derivatization methods are discussed in this paper. It involves methoxyamine-trimethylsilylation (MO-TMS), enol-TMS, encirclization and chemical oxidation.

Key Words: corticosteroids, GC/MS, derivatization

更正:本刊上期封2第13行解吸电子电离应为解吸电离,封2第23行LE应为LC,
29页第9行MJ应为 μJ 。