

色质联用选择离子检测法 在兴奋剂检测中的应用

张长久 崔凯荣 徐友宣 朱绍棠

(国家体委运动医学研究所兴奋剂检测中心,北京)

[摘要]色质联用(GC/MS)选择离子检测法(SIM)可以快速、准确完成国际奥委会规定的禁用药物及其代谢物的筛选,是一种测定尿中药物含量的理想方法。本文简要报道国外及我们所做的部分工作。

关键词 选择离子检测 兴奋剂

近年来借助服用药物以“提高”体育比赛成绩的现象屡有发生,服用药物的程度也愈加严重,这不仅违反公平竞赛的原则,而且损害运动员的健康,为此国际奥委会规定运动员绝对禁止服用兴奋剂^[1,2],至1989年国际奥委会规定了五类共102种药物为禁用药物(统称兴奋剂),这五类药物分别是刺激剂(41种),麻醉镇痛剂(19种), β -阻断剂(19种),利尿剂(15种)和甾体激素(16种)。

由于在大型比赛中需要检测的尿样数量多达千份以上,加上较苛刻的时间限制,这就要求分析检测方法既要准确,灵敏,又要快速。GC/MS选择离子检测(SIM)是一种理想方法,可以准确、灵敏、快速完成对国际奥委会规定的禁用药物及其代谢物的筛选^[3,4],从而为筛选出的可疑阳性样品作质谱全谱确证提供了依据。SIM检测方法是基于在色谱保留时间范围内选择每个药物原型或其代谢物各自的若干特征离子,进行选择离子扫描。

1. 在兴奋剂检测定性方面的应用

图1A和1C分别是以甲睾和脱氢氯甲睾为例的选择离子扫描的选择离子图,图1B和1C为不含药物的空白尿呈现的图形。图1A和1C十分清楚地显示甲睾和脱氢氯甲睾的特征离子在它们相应的保留时间下同时被检出,且具有相应的丰度比,而空白尿图1B、图1D则无特征离子检出。

中国兴奋剂检测中心成功地运用SIM对国际奥委会规定的麻醉镇痛剂、 β -阻断剂、利尿剂确证和甾体激素^[4]等禁用药物及其代谢物进行筛选,通过了国际奥委会的资格考试和多次复试。采用SIM并结合编辑程序(Macro)完成了亚运会期间大量样品的扫描筛选任务。最近我们又运用SIM成功地解决了甲基麻黄素、麻黄素、伪麻黄素、去甲麻黄素、

1991年6月14日收

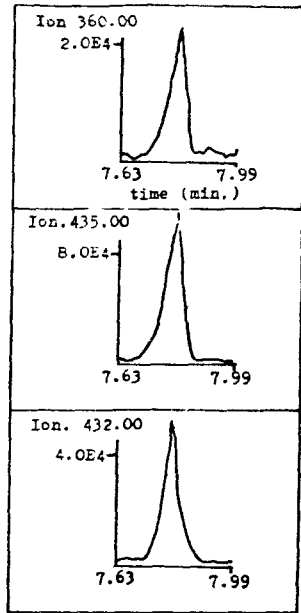


图 1A 甲基阳性尿选择离子

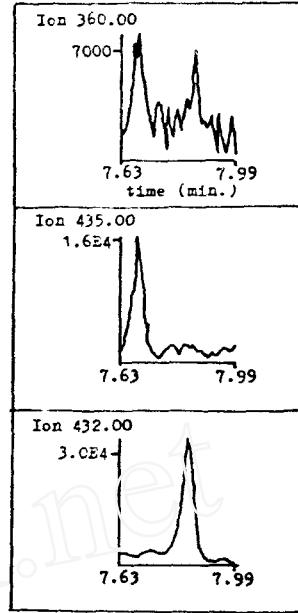


图 1B 空白尿

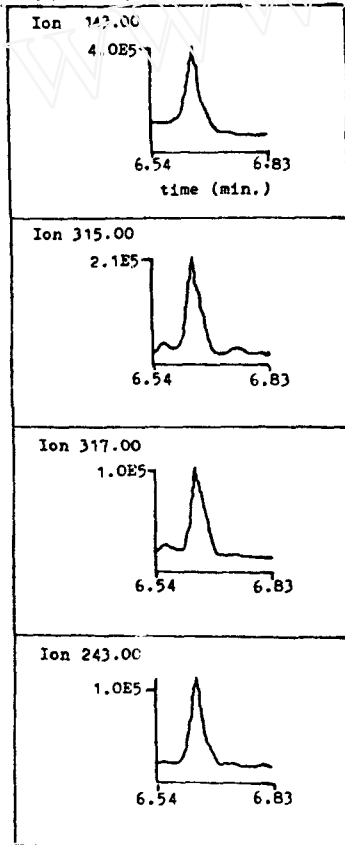


图 1C 脱氢氯甲基阳性尿选择离子

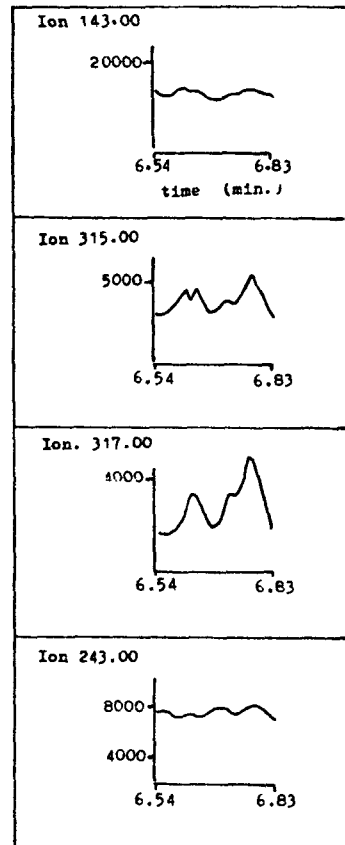


图 1D 空白尿

去甲伪麻黄素等五种麻黄素类混合物的定量测定和吗啡的定量测定^[11]。表 1 列出了国际奥委会规定的禁用甾体激素药物原型及其代谢物的保留时间和特征离子。

表 1 甾体激素药物原型或其代谢物的保留时间和特征离子

甾体激素	保留时间 min	选择离子 m/z
氟羟甲睾(代谢物)	5.15	143, 552, 642
诺龙(代谢物)	5.57	405, 315, 420
氧化甲基双氢睾酮	5.73	143, 308, 321
大力补	5.80	143, 209, 281, 460
脱氢氯甲睾	6.70	143, 315, 317, 243
甲基异睾酮	7.30	432, 431, 446
康力龙	7.2	143, 669, 684
1 α -甲基双氢睾酮	7.69	443, 433
甲睾	7.81	390, 435, 432
去氢睾酮	8.26	430, 415, 206
乙诺酮	8.47	421, 157, 331
氯睾	8.94	466, 451, 468
7 α -17-二甲睾酮	9.91	355, 445, 360
4 羟甲睾	12.40	534, 519, 389
康复龙	13.15	50, 495, 143

2. 在定量方面的应用

(1) 睾酮定量测定^[12]

在兴奋剂检测中,要求对睾酮进行定量,由于睾酮是人体内源性激素,因此不能靠定性来判断运动员是否服用睾酮。在人体激素代谢中,产生睾酮的差向异构体——表睾酮^[13]。尿中睾酮与表睾酮浓度有其固有比例,在男性黄种人中约为 1:1,白种人略高一些^[14]。根据这一情况,国际奥委会规定,人尿中睾酮与表睾酮浓度比不得超过 6:1^[13,14]。我们采用 GC/MS 技术和选择离子检测(SIM)方法,以甲基睾酮为内标,测定睾酮、表睾酮及其比值^[12]。图 2 是 GC/MS 检测尿样的总离子流色谱图,图 3 是睾酮、表睾酮及内标的选择离子色谱图。在绘制标准工作曲线的基础上,由选择离子的峰面积可以定量计算含量及其比值。

(2) 吸毒者尿中吗啡浓度的测定^[11]

使用 SIM 方法定量具有很大优越性,不仅灵敏度高,定量准确,而且具有别的方法无法比拟的另一优点,即抗干扰性。一般来说,只要限制在一定时间窗口内,选择合适的特征离子,就可以在很复杂的混合物中对其中一种或多种组分进行准确定量。

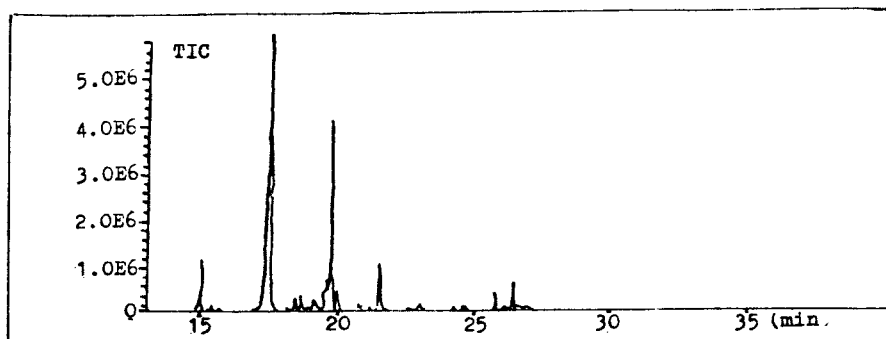


图2 GC/MS 检测尿样的总离子流色谱图

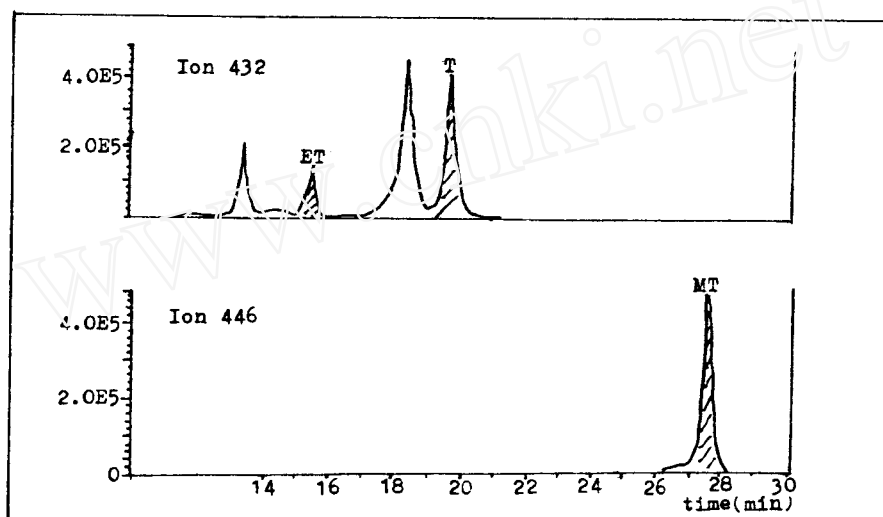


图3 GC/MS 检测咖啡因(T)、表咖啡因(ET)、内标甲睾(MT)的选择离子流图

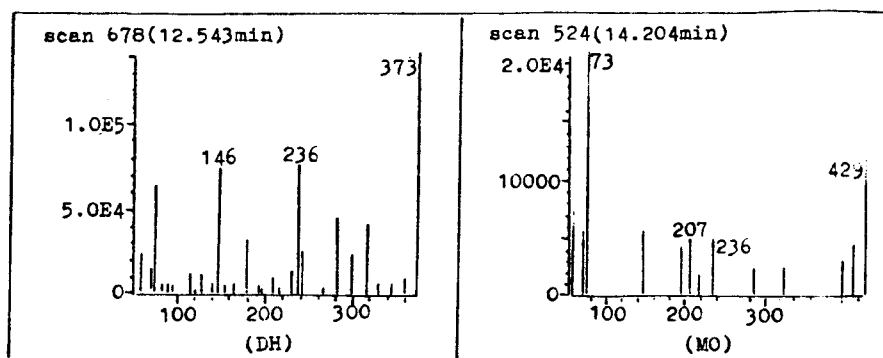


图4 双氢可待因和吗啡 TMS 衍生物质谱图

我们采用 SIM 方法进行了吸毒者尿中吗啡浓度的测定。图 4 是内标双氢可待因

(DH)和玛啡(MO)的质谱图,图5是吗啡阳性尿的总离子流色谱图和SIM图。从图5可以看出由于总离子流图复杂,峰间严重重叠,因而根据此图利用峰高或峰面积定量是很困难的,结果的准确性会很差,而用SIM图可以进行准确的峰高或峰面积测定,实现准确定量。

3. 寻找药物代谢物

利用GC/MSD,选择离子(SIM),易于从十分复杂的全扫描质谱图中找出预期的代谢物。药物诺龙是以代谢物形式排出,尿中并无原型。诺龙的代谢物是19-去甲雄酮和19-去甲表雄酮(两个异构体),见图6。它们的三甲基硅烷(TMS)衍生物的特征离子是 m/z 420(M), m/z 405(M-15)及 m/z 315。对衍生化后的样品进行全扫描,得到非常复杂的总离子流色谱图。但在此基础上选择上述三个特征离子,若在相应于二者衍生物的相对保留时间(以氘代睾酮为内标)0.66、0.74处同时检测到三个特征离子如图7,并进一步确认相应于相对保留时间得到的全质谱图(图8),便可很容易地找出预期的代谢物^[7-9]。

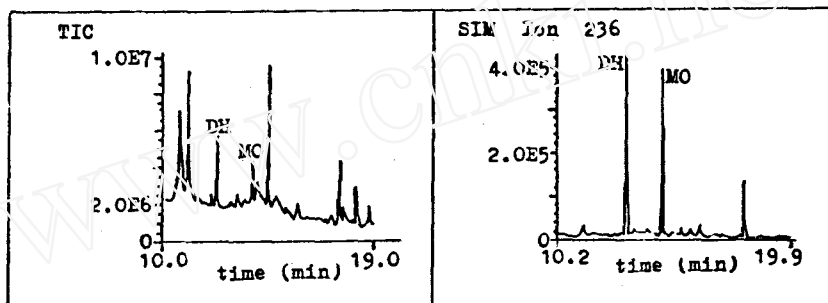


图5 吗啡阳性尿的TIC图和SIM图

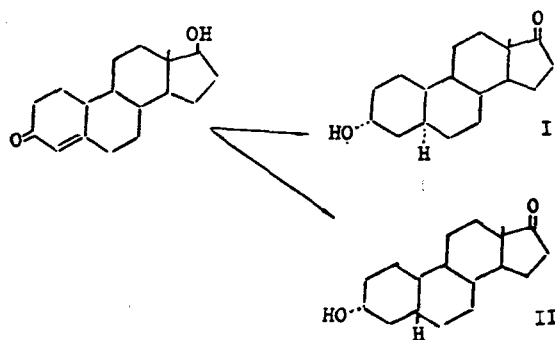


图6 诺龙两个代谢物结构式

(I, cis-Norandrosterone, II, cis-Noretiocholanolone)

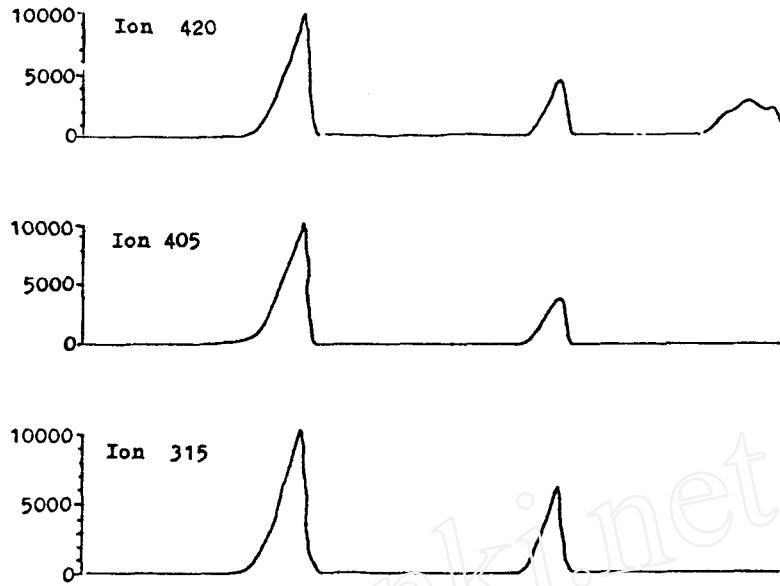


图7 诺龙两个代谢物的选择离子色谱图

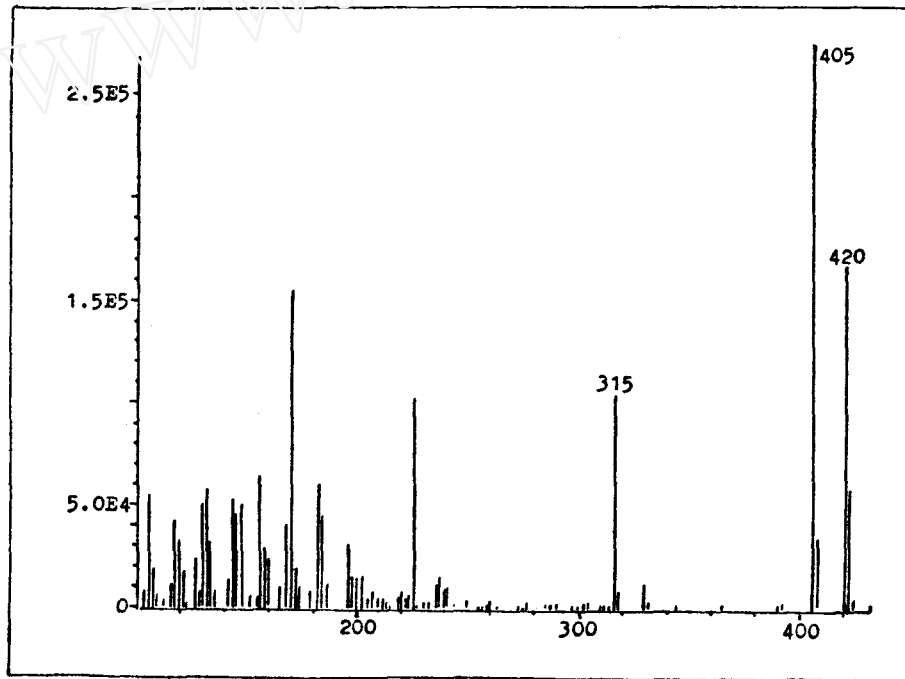


图8 诺龙代谢物 TMS 衍生物的质谱图

参 考 文 献

- [1] Don H. Catlin, R. Craig Kammerer, Caroline K. Hatton, Michael H. Sereka and James L. Merdink, *Clin. Chem.*, 33, 319(1987)
- [2] Bongchul Chung, Hea-Young P. Choo, Manfred Donike, Tae Wook Kim, Khee Dong Eom, OhSeung Kwon, Jawon Suh, Joongsoon Yang and Jongsei Park, *J. Anal. Toxicol.*, 14, 91(1990)
- [3] A. H. Payne, *Br. J. Sports Med.*, 9, 83(1975)
- [4] R. B. Ward, A. M. Lawson and C. H. L. Shackleton, *J. Steroid Biochem.*, 8, 1057(1977)
- [5] J. W. Steele, L. J. Boux and R. C. S. Audette, *Xenobiotica*, 11, 117(1981)
- [6] J. W. Steele and U. P. Schlunegger, *Can. J. Pharm. Sci.*, 14, 50(1979)
- [7] R. J. Ward, C. H. L. Shackleton and A. M. Lawson, *Br. J. Sports Med.*, 9, 93(1975)
- [8] C. H. L. Shackleton, R. J. Ward and A. M. Lawson, *Proc. 26th Ann. Conf. on Mass Spectrometry and Allied Topics St-Louis, Missouri*, 582(1978)
- [9] R. J. Ward, A. M. Lawson and C. H. L. Shackleton, in *Mass Spectrometry in Drug Metabolism* edited by A. Frigerio and E. L. Ghisalbert, Plenum Press, New York, 465-474(1977)
- [10] J. Park, *Journal of Analytical Toxicology*, 14, 66(1990)
- [11] 徐友宣等, 高等学校化学学报, 13(5), 608(1992)
- [12] 张长久等, 高等学校化学学报, 12(7), 918(1991)
- [13] Masse R., Avotte C., Dugal N., *Journal of Chromatography*, 489, 23(1989)
- [14] Donike, The detection of exogenous testosterone sport, 293-300(1983)
- [15] Dorfman R. I., de Nicola A., Gottfried H. and Forchiell E., *Testosterone and epitestosterone in human urine* Testosterone ed Tamm, J., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 216-219(1968)
- [16] Ji Zhang et al., *Chinese Chemical Letters*, Vol. 1, No. 2(1990)

Application of GC/MSD with SIM to Doping Test

Zhang Changjiu Cui Kairong

Xu Youxuan Zhu Shaotang

(National Research Institute of Sports Medicine,

State Physical Culture and Sports Commission, Beijing 100029, PRC)

Received 14, June 1991

Abstract

In this paper the application of GC/MSD with Selected Ion Monitoring (SIM) to doping test is briefly reported. The analytical screening of International Olympic Committee banned drugs can be performed with fast and accuracy by using GC/MSD with SIM. SIM also can be satisfactorily applied to the determination of some drugs in urine.

Keywords: Select Ion Monitoring, doping