

## 气相色谱-质谱联用法检测保健品中 8 种安眠镇静类药物

王占良, 张建丽, 张亦农

(国家体育总局反兴奋剂中心, 北京 100029)

**摘要:** 采用气相色谱-质谱联用法同时检测保健品中的地西洋, 咪达唑仑, 硝基安定, 唑吡坦, 氯硝安定, 艾司唑仑, 阿普唑仑和佐匹克隆。用叔丁基甲醚提取, 甲基睾酮作为内标, HP-1MS 色谱柱 (17 m × 0.2 mm × 0.11 mm) 分离, 程序升温, 质谱检测。该方法的检测限和回收率均满足保健品日常检测的要求, 前处理简单、快速、可靠。

**关键词:** 保健品; 气相色谱-质谱; 安眠镇静

**中图分类号:** O 657.63    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1004-2997(2009)05-0282-05

## Detection of Eight Sedative-Hypnotic Agents in Nutriment Products by GC/MS

WANG Zhan-liang, ZHANG Jian-li, ZHANG Yi-nong

(China Anti-Doping Agency, The State Sport General Administration, Beijing 100029, China)

**Abstract:** Total of 8 sedative-hypnotic agents (diazepam, midazolam, nitrazepam, zolpidem, clonazepam, estazolam, alprazolam and zopiclone) were simultaneously detected by gas chromatography-mass spectrometry coupling with electronic ionization. The sample was extracted with the methyl tert-butyl ether and completely separated by HP-1MS column (17 m × 0.2 mm × 0.11 mm) in linear temperature program, methyltestosterone as internal standard. The method is simple, rapid and reliable. It is suitable for routine analysis in nutriment products.

**Key words:** nutriment; gas chromatography-mass spectrometry; sedative-hypnotic

失眠一直困扰着人类。从几百万年前人类诞生起, 焦虑便一直伴随着人类, 失眠也如影随形, 以至于人类探索以促进睡眠为特性的物质的历史一直没有间断过。安眠药的问世在为人类带来福音的同时, 也给人类的健康带来了很大的问题。苯并二氮杂卓类药物作为中枢神经抑制剂, 是一种常用的安眠镇静药物, 临床医疗上用来治疗焦虑、失眠等病症, 具有镇静、安眠和

抗焦虑作用, 连续用药可产生头晕、嗜睡、乏力等反应, 长效类尤其明显。

近些年来, 保健品市场发展迅速, 种类繁多, 有些保健品的保健功能常吹嘘具有安神、补脑、促进睡眠的功效, 满足了失眠群众的需求, 而为了达到这样的效果, 添加一些安眠镇静类药物成为不法厂商攫取利润的常用手段。这种行为严重威胁到服用者的身体健康, 甚至会危及生命安

全,因此有必要建立一种快速、准确检测保健品中苯并二氮杂卓类安眠镇静类药物的方法。

目前,对此类药物的定性分析主要用 HPLC、GC-MS、LC-MS 方法<sup>[1-3]</sup>。本实验主要是基于 GC/MS 技术和简单快速的样品前处理过程,建立迅速、准确检测保健品中安眠镇静类

药物的方法,主要包括 8 种常见药物:地西洋(1. diazepam)、咪达唑仑(2. midazolam)、硝基安定(3. nitrazepam)、唑吡坦(4. zolpidem)、氯硝安定(5. clonazepam)、艾司唑仑(6. estazolam)、阿普唑仑(7. alprazolam)和佐匹克隆(8. zopiclone),其结构示于图 1。

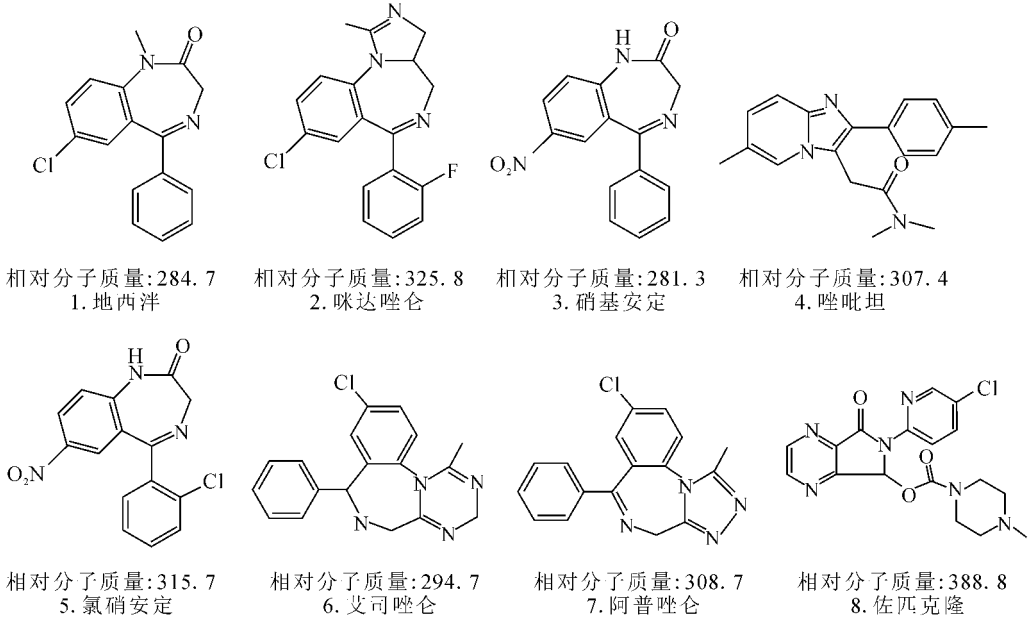


图 1 化合物 1~8 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-8

## 1 试验部分

### 1.1 仪器和试剂

Agilent 7890GC-5975MS 气相色谱-质谱仪;美国安捷伦公司产品;色谱柱 HP-1MS 柱;美国安捷伦公司产品;低温恒温循环液浴两用槽;杭州雪中炭技术公司产品;Legend T 低速离心机;美国热电公司产品;Dri-block DB-3D 氮气吹干装置;美国 Techne 公司产品。

8 种药物制剂均购自药店,根据标示量配制成  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  甲醇溶液;甲基睾酮(Sigma 公司)作为内标( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );叔丁基甲醚、甲醇为色谱纯;磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、盐酸、碳酸氢钠和碳酸钠均为分析纯。 $\text{pH}=6.9, 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸氢二钾/磷酸二氢钾磷酸盐缓冲液;碳酸钠、碳酸氢钠各 10% 碳酸盐缓冲液  $\text{pH}=9.6$ 。

### 1.2 样品前处理

取适量样品(液体 1 mL, 固体 0.2 g), 加入  $50 \mu\text{L}$  内标甲醇溶液, 2 mL 磷酸缓冲液, 0.5 mL

碳酸盐缓冲液, 4 mL 叔丁基甲醚, 涡旋振荡萃取 1 min,  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 3 min,  $-30 \text{ }^\circ\text{C}$  冷冻水相后转移上层有机相,  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  下氮气吹干, 加入  $50 \mu\text{L}$  叔丁基甲醚, 振荡 3 s 后转移至小瓶中, 加盖, 进样  $2 \mu\text{L}$ , GC/MS 分析。

### 1.3 标准溶液的配制

分别准确量取 8 种药物的标准溶液, 并稀释成  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  标准溶液, 然后配制成  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  混合标准溶液。量取  $50 \mu\text{L}$  该溶液, 按 1.2 步骤分析, 结果示于图 2。

### 1.4 实验条件

HP-1MS 色谱柱 ( $17 \text{ m} \times 0.2 \text{ mm} \times 0.11 \text{ mm}$ ); 进样口温度  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 接口温度  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 采用恒压模式, 柱压:  $80 \text{ kPa}$ ; 分流比 10:1; 进样  $2 \mu\text{L}$ ; 程序升温:  $180 \text{ }^\circ\text{C}$  保持 0 min,  $3.3 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至  $231 \text{ }^\circ\text{C}$ , 然后以  $30 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至  $310 \text{ }^\circ\text{C}$ , 保持 2 min。EI 离子源,  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $70 \text{ eV}$ ; 采集模式: SCAN 方式; 溶剂延迟时间 4 min。

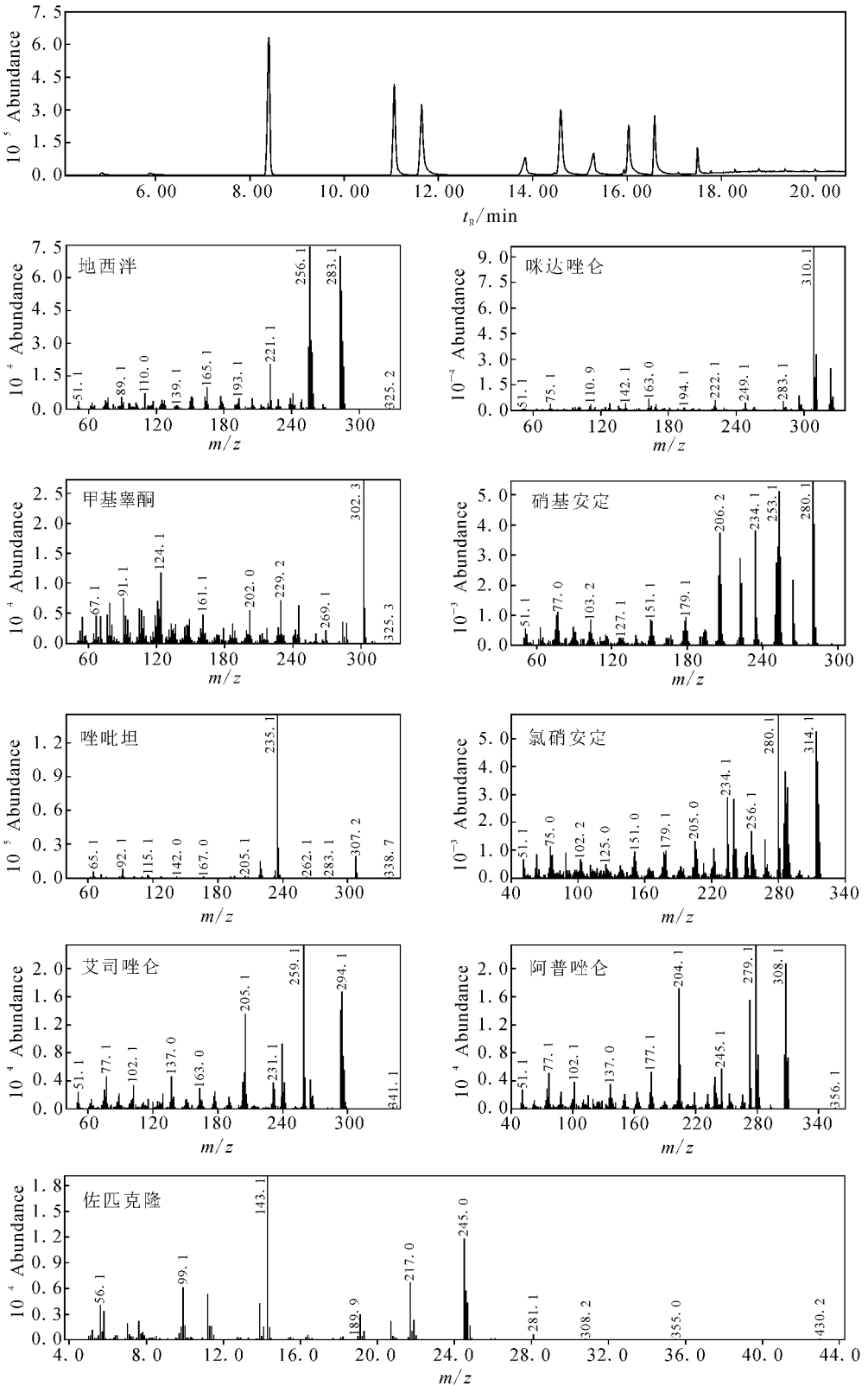


图 2 总离子流图和化合物 1~8 的质谱图

Fig. 2 TIC and mass spectrum of compound 1-8

### 1.5 方法灵敏度

量取 1.3 中的标准溶液,分别配制成 1、2、5、10  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  溶液,采用 1.2 方法处理样品,进样分析,按照  $S/N=6$  的要求,计算检测限。

### 1.6 方法的重现性

取 2 份适量样品(液体 1 mL,固体 0.2 g),分别加入 50  $\mu\text{L}$  和 20  $\mu\text{L}$  混合标准溶液,按照 1.2 方法处理样品,进样分析。根据内标校正后的结果与未经过提取的结果计算回收率。

## 2 结果与讨论

从 GC/MS 总离子流图可以看出,混合标准溶液中的 8 种化合物与内标具有良好的分离度,各化合物的保留时间与内标位置适中,满足色谱分离要求。8 种化合物的确认采用与 CLARKE's Analysis of Drugs and Poisons 2004 版数据库中提供的标准质谱图进行对照,确认结构。化合物 1~7 的质谱结果中均含有准分子离子峰,而化合物 8 的质谱图中没有准分子离子峰,基峰为  $m/z$  143,这是由于化合物 8 的结构中有 1 个酯键,在 EI 源分析中很容易断裂,形成  $m/z$  143、245 的碎片。化合物 4 的结构中有 1 个酮键,这与化合物 8 有相似之处,断裂形成  $m/z$  235、72 的碎片,基峰为  $m/z$  235。化合物 1、2、5、6、7 的结构中均含有氯原子,在 EI 源分析中也会断裂,化合物 1、5、6、7 的谱图中均有  $[M^+ - Cl]$  峰,化合物 2 的谱图中则出现了  $[M^+ - Cl - CH_3]$  ( $m/z$  285) 峰,以上这些离子均可用于保健品中此类药物离子峰度的计算和对照。

化合物的检测限结果示于图 3。从图 3 可以看出,在浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,化合物 1、2 可以检出;在浓度为  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,化合物 4、6、7 可以检出;在浓度为  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,化合物 3、5、8 可以检出,以上结果满足保健品检测的需要。

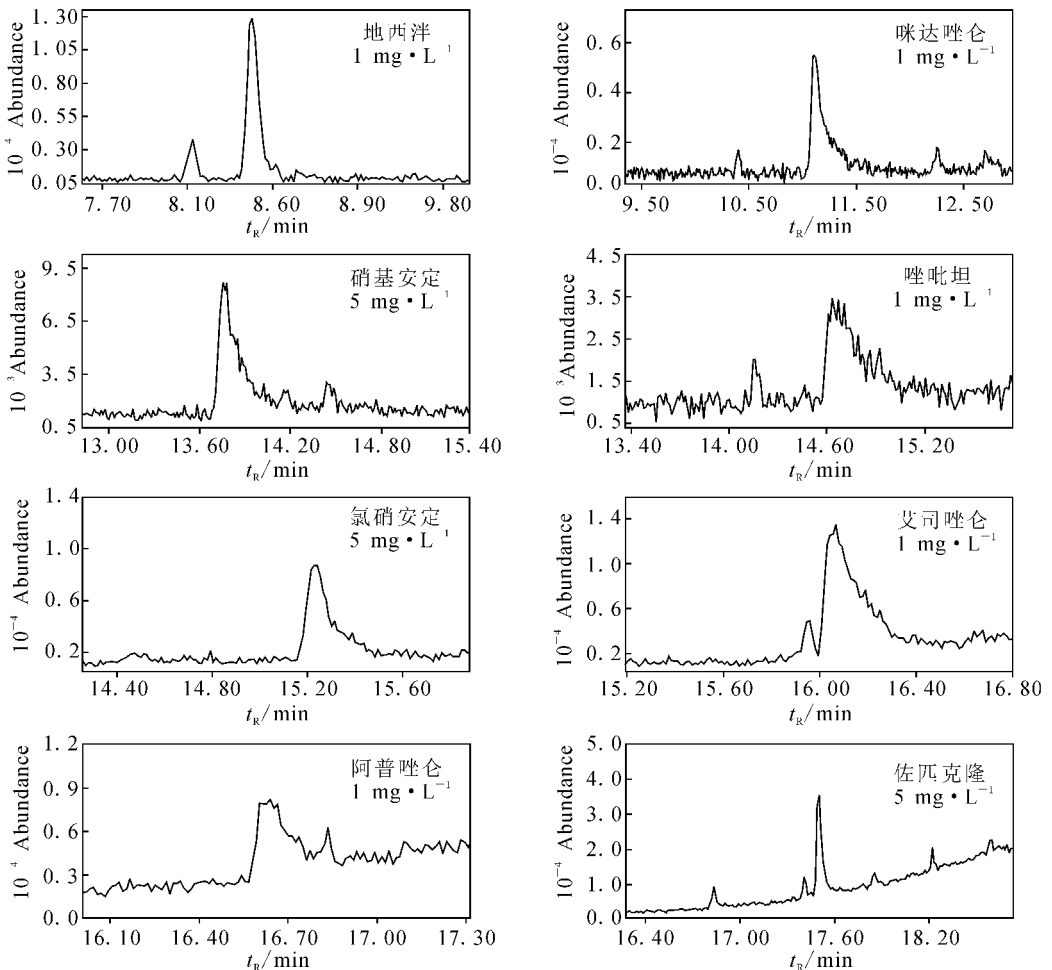


图 3 化合物 1~8 的检测限图

Fig. 3 Detection limit spectrum of compounds 1-8

化合物 1~8 的回收率在 85%~97% 之间,基本满足定性检测要求,证明了本方法的可靠性。

综上所述,采用 GC/MS 联用法分析保健品中的 8 种安眠镇静类药物,具有样品前处理简单、准确可靠的特点,适用于检测保健品中安眠镇静类药物。

#### 参考文献:

[1] JONES C, WIANS F J, MARTINEZ L, et al. Benzodiazepine identified by capillary gas chromatography-mass spectro metry with specific ion

screening used to detect benzophenone derivatives [J]. Clin Chem, 1989, 35 (7): 1 394-1 398.

[2] 顾景凯,夏 荣,钟大放. LC/MS<sup>n</sup>法同时检测人尿液中艾司唑仑、阿普唑仑和三唑仑[J]. 药理学报, 2002, 37(2): 138-140.

[3] FRASER A D, MEATHERALL R. Comparative evaluation of five immunoassays for the analysis of alprazolam and triazolam metabolites in urine; effect of lowering the screening and GC/MS cut-off values [J]. J Anal Toxicol, 1996, 20 (4): 217-223.

## 国家体育总局反兴奋剂中心检测实验室概况

国家体育总局反兴奋剂中心检测实验室(以后简称“检测实验室”),是取得世界反兴奋剂机构(WADA)认可的从事兴奋剂检测的专职机构。从 1989 年通过国际奥委会(IOC)严格考核取得国际检测资格到 2003 年一直连续通过 IOC 每年一度的资格复审,是国际奥委会承认的检测实验室。2004 年开始由世界反兴奋剂机构(WADA)全面取代 IOC 负责该项工作,并同时把实验室的资格复审改为每年四次。从 2004 年到 2009 年实验室均顺利通过 WADA 每年四次的资格复审,保持了 WADA 认可的检测资格。实验室 1997 年 8 月通过国家技术监督局的计量认证,2000 年 11 月通过中国实验室国家认可委员会认可。

实验室自取得国际检测资格至今,承担并完成了包括第 29 届北京奥运会和第 11 届北京亚运会在内的各类大型国际、国内体育比赛的兴奋剂检测任务,以及国内赛外兴奋剂检查(飞行检查)、WADA 及其他国家和地区反兴奋剂组织的送检样品的检测任务等。

国家体育总局反兴奋剂中心已另外组建了单独的食品药品兴奋剂检测实验室,自 1997 年受国家卫生部的委托,承担了保健食品的兴奋剂检测工作,该项工作得到卫生部主管部门的肯定。

实验室目前的科研和测试水平居国际先进,并和国际上许多先进实验室建立了合作关系。现有工作人员 18 人。科技人员 18 人。其中,高级专业人员 13 人,初、中级专业人员 5 人。实验室建筑面积 5 000 m<sup>2</sup>,拥有大型现代化分析测试仪器设备 30 余台。

实验室下设 7 个专业检测组:刺激剂检测组、麻醉剂检测组、利尿剂检测组、甾体检测组、糖皮质激素检测组、血液兴奋剂检测组、EPO 检测组。

#### 实验室业务范围:

1)世界反兴奋剂机构和国际奥委会规定禁用药物的检测,其中包括体育比赛、赛外检查和国外送检尿样的兴奋剂检测;2)兴奋剂检测新方法的研究。

#### 实验室通信资料:

地址:北京市朝阳区安定路一号。国家体育总局反兴奋剂中心检测实验室;邮政编码:100029;  
业务电话:010-64910525、64910526、84376289;传真:010-64910526

编后语:2008 年北京奥运会,国家体育总局反兴奋剂中心承担赛事的兴奋剂检测工作,工作人员及志愿者为此付出了大量的心血。时值一周年之际,策划“兴奋剂检测”专栏来展示他们高水平、高质量的工作。感谢刘咸德老师的约稿,吴侔天老师的组稿,以及反兴奋剂中心工作人员给予的支持。