

# 双柱双 pH 固相萃取和毛细管气相色谱法 同时快速测定血浆中酸性和碱性药物

邱丰和\* 刘力 罗毅 卢涌泉

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

**摘要** 报道了一种能同时快速测定血浆中酸性和碱性药物的固相萃取毛细管气相色谱法。在自制的并联双柱萃取装置上,两柱可在不同的 pH 下操作,分别提取酸性和碱性药物。通过对 6 类 8 种酸性和碱性药物的定性和定量实验表明,该法快速、灵敏。

**关键词** 双柱双 pH 固相萃取法;毛细管气相色谱

在临床急性中毒分析中,快速准确地确定是何种药物引起的中毒是挽救病人生命的关键。对未知的中毒样品,文献通常的做法是将药物按酸碱性分为两组,分别建立筛选酸性<sup>[1,2]</sup>和碱性药物<sup>[3~5]</sup>的方法,这种方法有助于提高分析灵敏度,但分析时间较长。为了适应临床中毒急救的要求,需要快速、方便的未知药物筛选方法。我们在本实验室发展的 X-5 大孔高分子树脂固相萃取方法的基础上,设计了半自动并联双柱固相萃取装置,并从临床急性中毒病例中常见的 6 类药物<sup>[6]</sup>:巴比妥类催眠药、安定类镇静药、吩噻嗪类抗精神病药、三环类抗抑郁药、局部麻醉药和镇痛药中选择了 8 种最常见的药物,即速可眠、苯巴比妥、地西洋(安定)、氯丙嗪、三氟拉嗪、丙咪嗪、利多卡因、哌替啶(度冷丁)等(其中速可眠和苯巴比妥为酸性药物,其它为碱性或偏碱性药物)为例探讨了本法在临床毒物分析中的应用。

## 材 料 与 方 法

### 仪器和试剂

配有 FID 的 GC-9A 气相色谱仪,C-R2AX 积分仪(岛津公司),MCH-9 氢气发生器(北京清华仪器厂)。各种药物和内标 SKF525A 均由公安部二所购得,配成  $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  的储备液,实验前稀释成  $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的工作液备用。各种试剂均为分析纯。X-5 大孔吸附树脂(40~60 目)为南开大学化工厂产品。pH 3 缓冲溶液由  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸和  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{HPO}_4$  配制;pH 10 缓冲溶液由  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $\text{NaHCO}_3$  配制。

### 固相萃取

**萃取柱和双柱双 pH 固相萃取装置** 为了提高柱效和改善实验精密度,设计了带有活塞的细长形玻璃萃取柱,柱中装树脂 0.2 g,树脂床上端用一盖有尼龙丝网的聚丙烯塑料圈压紧,

本文于 1995 年 3 月 20 日收到。

\* 通讯联系人,现工作单位:军事医学科学院仪器测试中心,北京 100850

分别用氯仿 5 ml 和甲醇冲洗和活化,然后用蒸馏水 3 ml 冲洗备用。通过一个自制的四通接口,将两只玻璃管萃取柱并联连接,其余两接口分别与一真空装置和接收药物的磨口鸡心瓶连接。含有未知药物的血浆分别在优化的酸性和碱性条件下通过两柱,吸附在两柱上的碱性和酸性药物同时洗脱到鸡心瓶中,实现了对酸性和碱性药物的同时提取。

**萃取** 取 pH 3 和 pH 10 缓冲溶液各 2 ml,分别加入上述装置的萃取柱中,然后在每只萃取柱中加入含有混合药物和内标的血浆 0.5 ml,混匀后以  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  的流速过柱,分别用蒸馏水 5 ml 洗去水溶性杂质,药物各用 4 ml 洗脱剂(乙酸乙酯—甲醇=1:1)同时洗脱到连接在萃取装置上的鸡心瓶中,流速同前,旋转蒸发至干,100  $\mu\text{l}$  甲醇溶解定容,取 1  $\mu\text{l}$  进入 GC。

### 回收率的测定

绝对回收率通过比较药物过柱前和过柱后与内标峰面积的比值测得,以过柱前加到每个萃取柱中药物与内标峰面积的比值为 100% 计算。方法回收率通过比较以回归方程计算出的量与样品中实际加入量获得。

### 分析条件

色谱柱为 SE-54 柱(25 m  $\times$  0.25 mm,北京石油化工科学研究院),采用程序升温,起始温度 150 $^{\circ}\text{C}$ ,升温速率 30 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ,终止温度 280 $^{\circ}\text{C}$ ;高纯氮作载气,柱前压 150 kPa;检测器为 FID,温度 300 $^{\circ}\text{C}$ ,空气和氢气的流量调节在最佳范围内;1  $\mu\text{l}$  进样,进样口温度 300 $^{\circ}\text{C}$ ,分流比 6:1。

## 结 果

### 色谱分析

用上述方法提取后,血浆中 8 种药物的毛细管气相色谱(GC-FID)示于图 1。保留时间和相对保留时间列于表 1。

### 绝对回收率和检测限

由于在优化的 pH 条件下提取酸性和碱性药物,大多数药物的绝对回收率都达到 90% 以上(见表 1),其中哌替啶、利多卡因和地西泮的回收率超过 100%,说明在酸性条件下也有一部分药物被提出。较高的回收率既保证了同时检测酸性和碱性药物,又不损失方法的灵敏度,最低检测浓度除三氟拉嗪为  $1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  左右外,其它药物均可达  $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,完全满足临床中毒检测的要求。

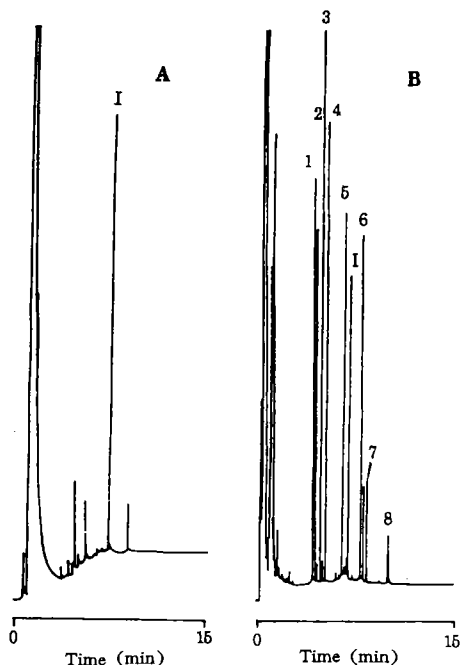


Fig 1 Chromatogram of 8 acidic and basic drugs in plasma. A. Blank plasma; B. Plasma with  $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  mixed drugs.

1. Meperidine; 2. Secobarbital;
3. Iodocaine; 4. Phenobarbital;
5. Imipramine; 6. Diazepam;
7. Chlopromazine; 8. Trifluoperazine;
- I. Internal standard.

Tab 1 Retention time (RT) and regression equation of 8 acidic and basic drugs

Drug	RT (min)	RRT	Regression equation	r	Recovery* (%)
Meperidine	4.78	0.616	$Y = -0.229 + 0.0950X$	0.998	104.8
Secobarbital	4.92	0.634	$Y = 0.0621 + 0.0612X$	0.992	96.1
Lidocaine	5.41	0.697	$Y = -0.0714 + 0.1418X$	0.994	119.5
Phenobarbital	5.81	0.749	$Y = 0.0624 + 0.0860X$	0.990	96.4
Imipramine	7.14	0.920	$Y = 0.0100 + 0.0582X$	0.999	93.0
Diazepam	8.71	1.122	$Y = 0.1799 + 0.0809X$	0.995	111.7
Chlopromazine	9.19	1.184	$Y = 0.0214 + 0.0247X$	0.996	63.1
Trifluoperazine	11.13	1.434	$Y = -0.0342 + 0.0340X$	0.998	92.7

\* 0.5 ml plasma containing 5  $\mu\text{g}$  mixed drugs was added into each column

### 定量分析

急性中毒病人的血药浓度一般较高,为了满足定量分析的需要,我们对药物浓度为 0.5~30.0  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  与响应值的对应关系做回归分析,得到了各种药物的线性方程:  $Y = a + bX$ , 其中 Y 为药物峰面积与内标峰面积之比, X 为药物浓度, 8 种药物的线性相关系数均超过两个 9 (见表 1)。

表 2 列出了用此方法对血浆中加入药物,用线性方程计算出的检出浓度、相对回收率及其精密数据。除哌替啶外,其它药物的 RSD 都小于 10%,可满足定量分析的要求。

Tab 2 Relative recovery and precision of 8 acidic and basic drugs in plasma ( $n = 5$ )

Drug	Concentration ( $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )		Relative recovery (%)	RSD (%)
	Added	Found		
Meperidine	10.0	9.88	98.8	10.9
Secobarbital	10.0	10.60	106.0	3.5
Lidocaine	10.0	9.90	99.0	8.2
Phenobarbital	10.0	10.23	102.3	2.8
Imipramine	10.0	9.80	98.0	3.5
Diazepam	10.0	10.30	103.0	6.5
Chlopromazine	10.0	10.47	104.7	3.4
Trifluoperazine	10.0	10.24	102.4	5.3

### 讨 论

双柱双 pH 固相萃取方法是一全新的思路,解决了同时快速筛选未知中毒样品中可能存在的酸性和碱性药物的问题。

药物的提取和分析时间比文献中常用的方法缩短了一半,但仍保持相当的灵敏度,在使用氢火焰离子化检测器时,处理总量为 1 ml 的血浆仍可检测到低至 0.5  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的药物。

酸性和碱性药物都有较好的定量关系,在样品的处理过程中加入内标,可同时完成对酸性和碱性药物的定性和定量分析。此法在临床中毒分析和法医学方面将有很好的应用前景。

## 参 考 文 献

- 1 Coudore F, Alazard J, Paire M *et al.* Rapid toxicological screening of barbiturates in plasma by wide-bore capillary gas chromatography and nitrogen-phosphorus detection. *J Anal Toxicol*, 1993,17 : 109
- 2 Wallace JE, Hall LR, Harris SC. Determination of pentobarbital and certain other barbiturates by capillary gas-liquid chromatography. *J Anal Toxicol*, 1983,7 : 178
- 3 Chen XH, Franke JP, Wijsbeek J *et al.* Determination of basic drugs extracted from biological matrices by means of solid-phase extraction and widebore capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J Anal Toxicol*, 1994,18 : 150
- 4 Lillsunde P, Korte T. Comprehensive drug screening in urine using solid-phase extraction and combined TLC and GC-MS identification. *J Anal Toxicol*, 1991,5 : 71
- 5 Cox RA, Crifasi JA, Dickey RE *et al.* A single-step extraction for screening whole blood for basic drugs by capillary GC/NPD. *J Anal Toxicol*, 1989,13 : 224
- 6 李焕德,吴红卫,闫小华等. 体液浓度监测下抢救药物中毒病人 101 例. 中国药理学杂志,1994,29 : 435

**A DOUBLE COLUMN DOUBLE pH SOLID PHASE EXTRACTION  
AND CAPILLARY GC/FID METHOD FOR RAPID  
SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ACIDIC  
AND BASIC DRUGS IN HUMAN PLASMA**

FH Qiu, L Liu, Y Luo and YQ Lu

(*Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850*)

**ABSTRACT** A capillary gas chromatographic method for the rapid simultaneous identification and quantitation of acidic and basic drugs in human plasma is presented. A special double column solid phase extraction device was designed, in which two X-5 resin columns can extract drugs at different pH. The detection limits for acidic and basic drugs can reach  $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , while the time needed is only half of that when using commercial solid phase extraction cartridges.

**Key words** Double column double pH solid phase extraction; Capillary GC/FID