

想。采用乙酸乙酯提取剂一次提取,后用流动相复溶进行紫外色谱分析,所取血浆仅为 1.0mL,进样量 10 μ L 便达到实验要求,既提高了灵敏度又减少了样品杂质,保证色谱柱能进行大量样品的连续分析。

参考文献

[1] 钟诗龙,黎曙霞,任斌,等. 用 HPLC 法和 TDx 法测定卡马西平血清浓度的相关性研究[J]. 中国药房,2003,16(6):223.
 [2] 陈妍,陈美娟. 卡马西平在精神分裂症中的研究进展[J]. 神经疾病与精神卫生,2011,11(1):53-85.
 [3] 刘光斌,姜芳宁,高颖. HPLC 法测定卡马西平血药浓度[J]. 中国药事,2012,26(9):991-993.
 [4] 焦正,钟康明,施孝金,等. 抗癫痫药物监测[J]. 中国临床药理学杂志,2004,13(3):386-389.
 [5] 杜青云,陈锦珊,黄惠丽,反相高效液相色谱法同时测定 3 种常用

抗癫痫药血清浓度[J]. 解放军药理学学报,2008,20(5):334.
 [6] 任秀华,杜光,杨惠,等. HPLC-M S 同时测定人血浆中卡马西平和苯妥英钠的血药浓度[J]. 中国现代应用药理学,2013,30(12):1337-1339.
 [7] 朱旭,刘美,刘立民,等. HPLC 法同时测定卡马西平及其主要代谢物的血药浓度[J]. 中国临床药理学杂志,2013,29(11):853-856.
 [8] 林伟萍,丁汀,周慧萍,等. 反相高效液相色谱法同时测定人血清苯巴比妥与卡马西平浓度[J]. 医药导报,2007,26(5):489-491.
 [9] 段舟萍,温金华,魏筱华,等. 高效液相色谱法测定卡马西平血药的浓度[J]. 南昌大学学报(医学版),2013,53(5):15-18.
 [10] 黄璞,陈清霞,黄伟侨. 高效液相色谱法同时测定人血浆中氟氮平、阿立哌唑浓度[J]. 中国医院药理学杂志 2010,30(15):1339-1341.

LC-Q/TOF 法测定全血中百草枯

晏晓军¹,党富生²,吴海¹,高汨¹,徐连生¹(1. 湖南省公安厅物证鉴定中心 长沙 410001;2. 湖南省衡阳市公安局 衡阳 421000)

摘要:目的 建立全血中除草剂百草枯的高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱(LC-Q/TOF)的检验方法。**方法** 用乙腈提取样品中的百草枯,以乙腈(0.1%甲酸)-50mmol·L⁻¹醋酸铵水溶液(甲酸调 pH 3.5)为流动相,梯度洗脱,经 RX-SIL 色谱柱(2.1×100mm,1.8 μ m)分离,以电喷雾离子源正离子模式采集全扫描及 MS/MS 数据进行分析。**结果** 该方法灵敏度达 5.0 μ g·L⁻¹,在 10.0~1000.0 μ g·L⁻¹范围内线性关系良好;低、中、高 3 种浓度的加样回收率分别为 90.5%、91.5%、87.4%,相对标准偏差(RSD)均小于 10%。**结论** 该法操作简单、灵敏度高,结果可靠,完全满足公安机关在办理百草枯中毒案件中的需要。

关键词:百草枯;全血;LC-Q/TOF

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-3765(2015)-12-0255-03

Determination of Paraquat in Whole Blood by LC-Q/TOF

YAN Xiao-jun¹,DANG Fu-sheng²,WU Hai¹,GAO Mi¹,XU Lian-sheng¹(1. Institute of Forensic Science Hunan Provincial Public Security Bureau, Changsha 410001, China; 2. Hengyang Public Security Bureau, Hengyang 421001, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To develop a method for determination of paraquat in whole blood by high performance liquid chromatography Q-TOF tandem mass spectrometry. **METHODS** Paraquat in samples was extracted with acetonitrile for analysis using HPLC-Q/TOF. The paraquat was separated by the RX-SIL column(2.1×100mm,1.8 μ m) and with acetonitrile(add 0.1% formic acid)-50mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution (adjusted to pH 3.5 by formic acid) as the mobile phase. The data was collected under the electrospray ionization in the positive ion mode. Paraquat was determined by both full scan and target MS/MS mode. **RESULTS** The detection limit of this method was 5.0 μ g·L⁻¹. It had a good linear relationship of paraquat in the range of 10.0~1000.0 μ g·L⁻¹. The mean recoveries of low, middle and high concentrations were 90.5%,91.5%,87.4%, and all of the relative standard deviation(RSD) were less than 10%. **CONCLUSION** The method is easy to operate, sensitive and reliable which

作者简介:晏晓军(1981-),男,工程师,主要从事毒物检验鉴定工作。联系电话:0731-84597356,E-mail:latroyan@163.com。

基金项目:湖南省公安厅科研计划项目[2011HN029]

could be applied to forensic identification.

KEY WORDS: Paraquat; Whole blood; LC-Q/TOF

百草枯,又名克芜踪、对草快,英文名 paraquat,化学名 1,1-二甲基-4,4'-联吡啶阳离子,属有机杂环类季铵盐广谱性除草剂,商品多为其氯化物或硫酸盐形式,能迅速被植物绿色组织吸收,使其枯死,在我国农村地区普遍使用。

百草枯对人毒性极大,能引起人肺组织纤维化^[1],且无特效药,口服中毒死亡率达 80% 以上,百草枯常被误服或用来自杀,更有犯罪分子用其投毒杀人、破坏生产经营。快速准确测定生物检材中的百草枯成分对于司法机关在侦查办案过程中确定案(事)件性质、分析作案手段、提供诉讼证据等方面具有不可替代的重要作用。

目前百草枯的检验方法主要有紫外分光光度法^[2]、液相色谱法^[3]、气质联用法^[4]、毛细管电泳法^[5]、液质联用法^[6]等,尚未见采用液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱进行检测的报道。传统的耗时耗力高危险的浓硫酸长时间回流方法不适合于时效性强的公安机关办案需要,采用高浓度缓冲盐体系进行液质联用检验又不可避免的对质谱仪造成损害。同时,飞行时间质谱具有其他质谱无法比拟的高分辨能力。本研究采用乙腈直接提取、较低浓度可挥发性缓冲盐体系组建 LC-Q/TOF 检验生物检材中百草枯的方法,具有操作简单、结果可靠的优点。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 试剂:百草枯标准品(纯度 > 98.5%)购自 TCI 公司,乙酸铵、甲酸(色谱纯)购自 Fluka 公司,乙腈(色谱纯)购自 Fisher Scientific 公司、去离子水由 MilliQ 纯水系统制备。

1.1.2 仪器:Agilent 1200 液相色谱-6520B Q/TOF 串联质谱联用仪、MilliQ 超纯水系统、湘仪 H1850R 高速离心机。

1.2 LC-Q/TOF 条件

1.2.1 色谱条件:Agilent Rx-SIL 色谱柱(2.1mm × 100mm, 1.8μm),柱温:35℃;流动相为 A:50 mmol · L⁻¹ 乙酸铵水溶液(用甲酸调至 pH 3.5),B:乙腈(添加 0.1% 甲酸)。梯度洗脱程序见表 1,进样量:10.0μL。

表 1 百草枯液相色谱洗脱梯度条件

time (min)	flow (mL · min ⁻¹)	A%	B%
	0.2	60	40
3	0.2	95	5
6	0.2	95	5
6.5	0.2	60	40
15	0.2	60	40

1.2.2 质谱条件:电喷雾电离-正离子模式(ESI+),Vcap: +4000V,气体温度:350℃,雾化气:N₂,35psi,干燥气:N₂,10L · min⁻¹. fragmentor: 120V, skimmer: 60V; MS/MS 碰撞气: He,碰撞能:15V,35V。

1.3 实验方法 准确移取 1mL 血液于离心管内,加入 1mL

乙腈,超声 10min,8000rpm 离心 10min,分离上清液,0.22μm 有机膜过滤。在上述分析条件下进样测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化 实验比较了不同流动相、不同 pH 值水相、不同缓冲盐浓度等因素对百草枯进行检测的影响。实验表明,在选定条件下百草枯离子化效果更佳,具有较好的峰形,能与杂质完全分离,其保留时间为 7.890min(见图 1)。

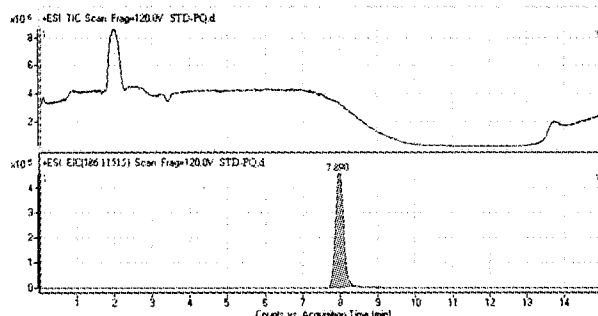


图 1 百草枯 TIC 及 EIC 谱图

2.2 质谱条件优化 研究发现,在施加 20V 以下电压的碰撞能时,百草枯分子仅被脱去一个甲基(-CH₃),而在施加 20V 以上电压时,百草枯分子几乎被完全打碎,质谱检测器可检测到 171.09、155.06 等碎片离子。因此,我们采用 1 个较小的碰撞能(15V)加一个较大的碰撞能(35V)的模式进行二级质谱定性分析(见图 2、图 3)。

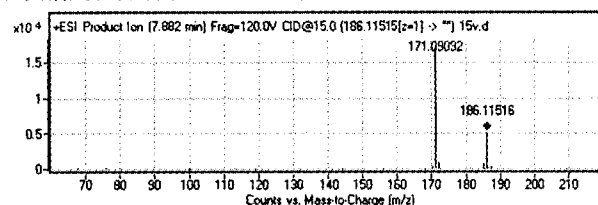


图 2 施加 15V 碰撞能的百草枯 MS/MS 质谱图

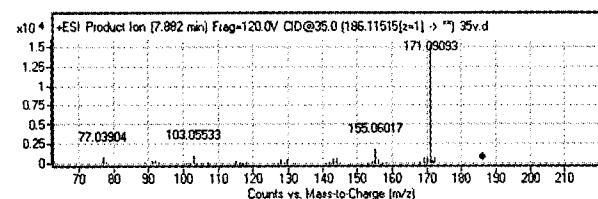


图 3 施加 35V 碰撞能时的百草枯 MS/MS 质谱图

2.3 标准曲线绘制及灵敏度测定 取适量的标准溶液稀释成 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0μg · mL⁻¹ 的百草枯系列标准液进样分析。以标准溶液为横坐标,EIC 峰面积为纵坐标绘制标准线性回归曲线(见图 4),曲线为 y = 3851.3x - 4561.2,相关系数 R² = 0.9987,线性范围为 0.01 ~ 1.0g · mL⁻¹,最低检出限(信噪比 S/N > 3)为 0.005μg · mL⁻¹,定量

限(信噪比 $S/N > 10$)为 $0.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

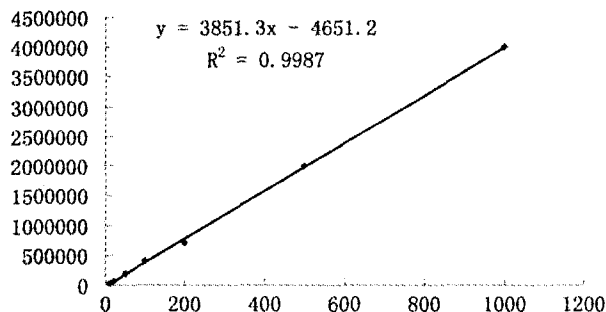


图4 百草枯标准曲线

表2 回收率与精密度

Added ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Found ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Recovery (%)	RSD (%)
0.02	0.0181	90.5	8.6
0.1	0.0915	91.5	5.8
1.0	0.8740	87.4	7.4

2.4 回收率及精密度考察 取空白血 1mL , 分别添加系列标准液, 配置成 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低、中、高3种浓度, 每个浓度平行作5份, 按1.4方法进行提取后供LC-MS分析, 所得峰面积与相应标准的峰面积进行比较, 评价方法的萃取回收率与精密度。三种浓度的回收率分

别为90.5%、91.5%、87.4%, 相对标准偏差(RSD)均小于10%(见表2)。

3 结论

本研究首次建立了血液中百草枯的HPLC-Q/TOF检验方法。方法操作简单、结果可靠, 灵敏度较高, 适合司法机关在办理百草枯相关案事件过程中的检测需要。

参考文献

- [1] Daniela Melchiorri, Russel J. Reiter, Ewa Sewerynek, et al. Paraquat Toxicity and Oxidative Damage[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1996, 51:1095-1099.
- [2] 中华人民共和国进出口商品检验行业标准[S]. SN 0340-95.
- [3] Chiaki Fuke, Tomonori Arao, Yasumasa Morinaga, et al. Analysis of paraquat, diquat and two diquat metabolites in biological materials by high-performance liquid chromatography[J]. *Legal Medicine*, 2002, 4: 156 - 163.
- [4] Norberto C. Posecion, Enrique M, et al. Quantitative determination of paraquat in meconium by sodium borohydride-nickel chloride chemical reduction and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 862:93 - 99.
- [5] E. Mallat, C. Barzen, R. Abuknesha, et al. Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 427:165-171.
- [6] 王朝虹, 王忠, 刘学俊, 等. LC/MS/MS测定生物组织中百草枯[J]. *中国法医学杂志*, 2008, 23(2):114.

· 药物合成 ·

阿格列汀合成路线图解

尚广磊, 唐 奇, 张宝振, 王恩思(吉林大学药学院 长春 130021)

摘要:目的 通过对已有的苯甲酸阿格列汀及其关键中间体(R)-3-氨基吡啶双盐酸盐的合成方法进行分析, 从而找到最适宜于工业化大生产的合成路线。**方法** 对这两种化合物的合成路线进行概括、归纳。**结果与结论** 路线1.2中原材料廉价易得, 反应条件温和, 后处理简单, 更加符合工业化生产的要求。

关键词: 苯甲酸阿格列汀; (R)-3-氨基吡啶双盐酸盐; 合成路线图解

中图分类号: R914.2; R977.1A+5 文献标识码: A 文章编号: 1006-3765(2015)-12-07101-0257-04

Graphical Synthetic Routes of Alogliptin Benzoate

SHANG Guang-lei, TANG Qi, ZHANG Bao-zhen, WANG En-si (College of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To review the existing synthetic routes, and find the most ideal synthetic routes of Alogliptin Benzoate.

作者简介: 尚广磊, 男(1991-), 汉族, 硕士研究生, 从事药物化学的研究, E-mail: shangguanglei666@126.com

通讯作者: 王恩思, 男(1955-), 汉族, 博士, 教授, 博士生导师, 从事天然药物合成及绿色化学研究, E-mail: wangss@jlu.edu.cn