

## 研究报告

# 氯丙嗪在大鼠体内的代谢研究

张思敏<sup>1</sup>, 黄克建<sup>2</sup>, 李宏森<sup>2</sup>, 刘晓锋<sup>2</sup>, 李璐<sup>2</sup>, 林翠梧<sup>1\*</sup>

(1. 广西大学 化学化工学院, 广西 南宁 530004; 2. 广西壮族自治区公安厅物证鉴定中心, 广西 南宁 530012)

**摘要:** 采用气相色谱-质谱法(GC-MS)检测大鼠尿液中的氯丙嗪及其代谢产物, 并对其进行质谱解析, 推测氯丙嗪在大鼠体内的代谢途径。通过对 Wistar 大鼠进行灌胃服用药物后收集 24 h 内尿样, 经固相萃取(SPE)净化提取后, 采用 GC-MS(EI、PCI)检测。对比空白尿液与阳性尿液萃取液的质谱图, 并根据质谱裂解规律鉴定其结构。实验结果表明: 在大鼠尿液中共检出吩噻嗪、2-氯吩噻嗪、N-(2-丙烯基)-2-氯吩噻嗪、丙嗪、2-羟基吩噻嗪、去甲基氯丙嗪、2-氯-7-羟基吩噻嗪、2-氯吩噻嗪磺、3-羟基丙嗪、丙嗪亚磺、吩噻嗪磺、7-羟基氯丙嗪、氯丙嗪亚磺、去甲基氯丙嗪亚磺、N-乙酰基去甲基氯丙嗪、N-乙酰基-N-去二甲基氯丙嗪等多种代谢物, 其中 2-氯吩噻嗪、丙嗪、去甲基氯丙嗪、7-羟基氯丙嗪和氯丙嗪亚磺为主要代谢产物。推测了氯丙嗪在大鼠体内的氧化、还原等主要代谢途径。

**关键词:** 氯丙嗪; 尿液; 代谢物; 气相色谱-质谱法(GC-MS); 质谱裂解

中图分类号: O657.63; TQ460.72 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2011)10-1088-06

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2011.10.002

## GC-MS Analysis of Chlorpromazine and Its Major Metabolites in Rat Urine

ZHANG Si-min<sup>1</sup>, HUANG Ke-jian<sup>2</sup>, LI Hong-sen<sup>2</sup>, LIU Xiao-feng<sup>2</sup>, LI Lu<sup>2</sup>, LIN Cui-wu<sup>1\*</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. Institute of Forensic Science, Public Security Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530012, China)

**Abstract:** A gas chromatography and mass spectrometric (GC-MS) method was developed for the determination of in vivo metabolism of chlorpromazine, and its mass chromatograms were analyzed. Five female Wistar rats were gavaged with chlorpromazine hydrochloride and the 24-hr urine sample after administration were collected. The sample was hydrolyzed, and extracted by solid phase extraction (SPE). The metabolites were analyzed by GC-MS under EI and PCI mode. The mass chromatograms of the parent drug, blank urine and the sample were compared and identified. Sixteen compounds such as phenothiazine, 2-chlorophenothiazine, N-(2-propenyl)-2-chlorophenothiazine, promazine, 2-hydroxyphenothiazine, demethylchlorpromazine, 3-hydroxypromazine, promazine sulfoxide, 2-chloro-7-hydroxyphenothiazine, chlorphenothiazine sulfone, 7-hydroxychlorpromazine, chlorpromazine sulfoxide, dihydroxychlorpromazine, desmethylchlorpromazine sulfoxide, N-acetyl-demethylchlorpromazine, N-acetyl-dedimethylchlorpromazine were identified as metabolites, in which 2-chlorophenothiazine, promazine, demethylchlorpromazine, 7-hydroxychlorpromazine and chlorpromazine sulfoxide were the main metabolites. The results suggested that at least three metabolic pathways for chlorpromazine, including oxidation, demethylation and dehalogenation, are operative in rats.

**Key words:** chlorpromazine; urine; metabolites; GC-MS; fragmentation pathway

氯丙嗪也称冬眠灵、氯普马嗪, 于 1954 年被美国食物与药物管理局(FDA)批准用于治疗精神分裂症和躁狂症, 是一种常见的抗精神失常药<sup>[1]</sup>。作为第一代抗精神失常药, 氯丙嗪还被用以治疗海洛因

收稿日期: 2011-01-10; 修回日期: 2011-06-17

基金项目: 公安部应用创新计划项目(2007YYCXGXST081)

\* 通讯作者: 林翠梧, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物化学, Tel: 0771-3275878, E-mail: lincuiwu@gxu.edu.cn

依赖, 由于其在人体内的许多代谢产物为常见的催眠镇静药物<sup>[2-3]</sup>, 因此氯丙嗪具有较强的镇静作用, 常被用于麻醉犯罪等刑事案件中; 近年来, 混合药物的滥用现象日趋严重, 氯丙嗪是其中药物之一<sup>[4-5]</sup>; 氯丙嗪在生物体内易代谢<sup>[6]</sup>, 因此, 研究氯丙嗪在生物体内的代谢, 对打击吸食毒品等违法犯罪活动具有重要意义。

目前有关生物体内氯丙嗪代谢产物的研究报道较少, 国内外许多报道还停留在单一的原药检测阶段<sup>[7-8]</sup>, 且由于研究方法的差异, 实验结果也不尽相同。Chetty 等<sup>[9]</sup>测定了 12 例慢性精神分裂症病人血浆中的氯丙嗪及其 6 种代谢物, 代谢物包括氯丙嗪-N-氧化物、氯丙嗪亚砷、7-羟基氯丙嗪、去二甲基氯丙嗪亚砷、去二甲基氯丙嗪和去甲基氯丙嗪; Valoti 等<sup>[10]</sup>使用气相色谱/氮磷检测器(GC/NPD)测定了精神病人血浆中的氯丙嗪、丙嗪、去甲基氯丙嗪和去二甲基氯丙嗪; Muralidharan 等<sup>[11]</sup>研究了奎尼丁药物对氯丙嗪在人体内代谢的影响, 鉴定了 7-羟基去甲基氯丙嗪等 7 种代谢产物; Sato 等<sup>[12]</sup>研究了氯丙嗪在生物体内和体外的代谢差异, 鉴定了氯丙嗪亚砷、氯丙嗪砷、氯丙嗪-N-氧化物等 5 种代谢产物, 并对氯丙嗪亚砷、氯丙嗪-N-氧化物和原药的比例进行了比较; 齐士林等<sup>[13]</sup>采用超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS)对动物源食品中的氯丙嗪及其氯丙嗪亚砷代谢物等进行了测定; 本课题组曾对与氯丙嗪结构相似的异丙嗪药物在大鼠体内的代谢行为进行了研究<sup>[14]</sup>。在此基础上, 本文采用固相萃取(SPE)/气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对灌服氯丙嗪的大鼠尿液进行检测, 通过对检出的代谢物进行质谱解析, 推测了氯丙嗪在大鼠体内的代谢途径。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

QP2010 气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司), 配电子电离轰击源(EI), 正化学电离源(PCI); 3-18R 高速冷冻离心机(美国 TOMOS 公司); 固相萃取仪(美国 SUPELCO 公司); Oasis<sup>®</sup> HLB 3cc 固相萃取柱(美国 Waters 公司); TTL-DC 型氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司)。

盐酸氯丙嗪(公安部二所);  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶(批号: 093 K 8600, 22 mg, 1 134 600 U/g, 美国 Sigma 公司); 临用时用 pH 4.8 的 NaAc 缓冲溶液配制成 5 000 U/mL; 甲醇、异丙醇(美国 Fisher 公司); 乙醚、氯仿等其他试剂均为国产分析纯, 实验用水由 Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)制得。

### 1.2 GC-MS 测定条件

1.2.1 GC 条件 色谱柱: HP-5MS 石英毛细柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m); 柱温: 80  $^{\circ}$ C 保持 1 min, 以 5  $^{\circ}$ C/min 程序升温至 220  $^{\circ}$ C, 保持 1 min, 再以 3  $^{\circ}$ C/min 程序升温至 290  $^{\circ}$ C, 保持 15 min; 进样口温度: 280  $^{\circ}$ C; 载气(He)流速: 1.42 mL/min; 进样方式: 不分流进样, 进样量 1  $\mu$ L。

1.2.2 MS 条件 EI 源和正化学电离源(PCI); 电子能量: 70 eV; 倍增器电压: 1.0 kV; 传输线温度: 250  $^{\circ}$ C; 离子源温度: 200  $^{\circ}$ C; 扫描方式: 全扫描(SCAN); 扫描范围: 40~400 u; PCI 反应气: CH<sub>4</sub>。

### 1.3 样品采集

大鼠空白尿液: 取 5 只雌性 Wistar 大鼠, 各灌胃 7 mL 蒸馏水, 收集 24 h 内尿液; 大鼠阳性尿液: 取 5 只雌性 Wistar 大鼠, 各灌胃 2.5 mg 盐酸氯丙嗪, 收集灌胃后 24 h 内尿液。

### 1.4 样品处理

取 20 mL 阳性大鼠尿液于锥形瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸调节 pH 值至 6.0, 加入 pH 4.8 NaAc 缓冲溶液 5 mL、 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶溶液 0.5 mL, 摇匀, 55  $^{\circ}$ C 下酶解 30 min, 用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 9.0, 以 7 000 r/min 离心 10 min, 上清液过 Oasis<sup>®</sup> HLB 3cc 固相萃取小柱(小柱预先用 3 mL 甲醇、3 mL 超纯水、3 mL pH 9.2 的 Tris-HCl 缓冲液活化), 用 3 mL 5% 甲醇溶液淋洗杂质, 弃去过柱后清液, 将萃取小柱离心除水(7 000 r/min) 5 min, 分别用 3 mL 乙醚、3 mL 氯仿-异丙醇(9:1, 体积比)洗脱待测物, 合并洗脱液, 70  $^{\circ}$ C 下氮气吹干, 残渣用 100  $\mu$ L 甲醇溶解, 供 GC-MS(EI、PCI)检测。同时平行做空白鼠尿。

## 2 结果与讨论

### 2.1 GC-MS 分析结果

按“1.2”所述 GC-MS 条件对大鼠尿液样本提取物进行分析, 阳性大鼠尿液的 GC-MS(EI)分析

结果见图1。与空白样本相比,阳性大鼠尿液样本的色谱图新增了17个色谱峰,分别为M1~M17,保留时间分别为27.14、31.67、32.09、32.86、35.60、37.83、39.04、42.09、43.18、44.00、48.10、48.35、48.64、48.85、49.04、49.41、49.97 min。通过NIST147质谱库检索,检出吩噻嗪(M1)、2-氯吩噻嗪(M2)、丙嗪(M4)、2-羟基吩噻嗪(M5)、氯丙嗪(M6)、2-氯-7-羟基吩噻嗪(M8)、3-羟基丙嗪(M9)、丙嗪亚砷(M10)、7-羟基氯丙嗪(M12)和氯丙嗪亚砷(M13)10种化合物,M3、M7、M11、M14、M15、M16和M177种化合物从谱库中未检索出相匹配的化合物。部分化合物的质谱图见图2。

## 2.2 大鼠尿液中氯丙嗪代谢物的鉴定

丙嗪亚砷(M10)和氯丙嗪亚砷(M13)等亚砷类化合物的EI谱图中,均有[M-16]、[M-17]或[M-18]碎片离子;2-氯-7-羟基吩噻嗪(M8)、7-羟基氯丙嗪(M12)等羟基取代化合物的EI谱图中,可通过脱去CO使母离子与子离子之间出现28、29质量数的差值,而无[M-16]、[M-17]或[M-18]碎片离子出现;丙嗪亚砷(M10)、氯丙嗪亚砷(M13)等亚砷类化合物可以氢转移脱去羟基或水分子得到[M-17]或[M-18]碎片离子,也可通过失去氧得到[M-16]离子,这也是该类化合物与羟基代谢物的主要区别;氯丙嗪、氯丙嗪亚砷、丙嗪等化合物结构中含有二甲氨基丙基基团,其质谱图中的 $m/z$  58基峰碎片离子为 $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2]^+$ ,同理含有甲氨基丙基基团的代谢物质谱图中有 $m/z$  44的基峰碎片离子 $[\text{CH}_2\text{NHCH}_3]^+$ ;氯丙嗪、氯丙嗪亚砷等含有1个氯基团的化合物中,其分子离子峰中存在着相对比例约为3:1的同位素峰;根据上述规律可对未知化合物的结构进行推测。

M3的保留时间为32.09 min,在PCI模式下的分子离子峰为 $m/z$  273,其EI质谱图中分子离子峰存在氯同位素现象,化合物失去稳定性高的烯丙基自由基生成 $m/z$  232碎片离子,其余碎片离子 $m/z$  197、165、153等与2-氯吩噻嗪(M2)类似。参考前期研究<sup>[12]</sup>,推断M3为N-(2-丙烯基)-2-氯吩噻嗪,其结构式和质谱碎裂方式见图3。

M7的保留时间为39.04 min,在PCI模式下给出的分子离子峰为 $m/z$  304,比氯丙嗪原形药分子量少14 u;其EI质谱图与氯丙嗪相比,少了 $m/z$  58碎片离子,增加了 $m/z$  44碎片离子,其余主要碎片离子与氯丙嗪相同; $m/z$  246碎片离子为M7失去N-甲基乙胺自由基后得到,接着失去S中性碎片得到 $m/z$  214,再失去HCN中性分子后得到 $m/z$  187;M7也

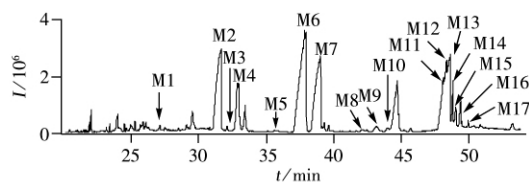


图1 氯丙嗪阳性大鼠尿液的GC-MS(EI)总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of a positive urine sample of chlorpromazine

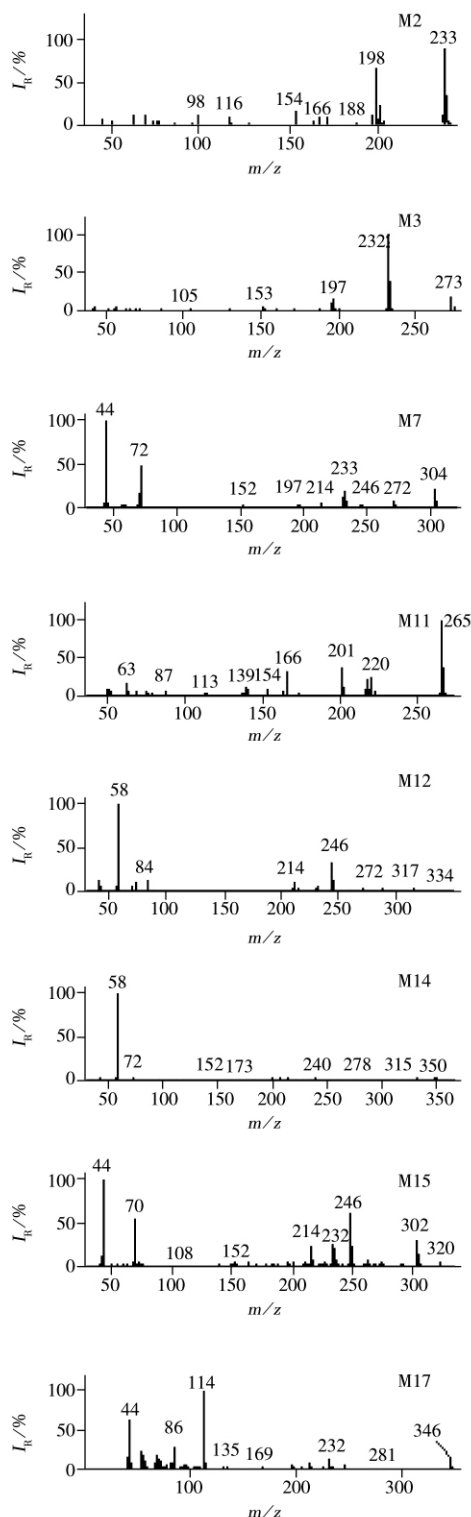


图2 部分化合物的质谱图

Fig. 2 Mass spectra of part of compounds

可失去中性碎片甲胺形成  $m/z$  272 碎片离子, 接着失去丙烯基自由基得到  $m/z$  232, 再失去中性碎片 S 或 Cl 后得到  $m/z$  200 和  $m/z$  197 碎片离子。推测 M7 为去甲基氯丙嗪。其结构式和质谱碎裂方式见图 4。

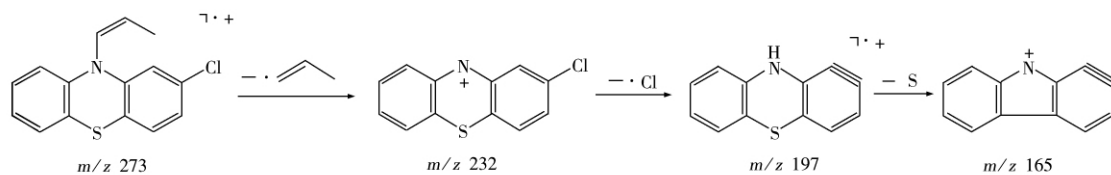


图 3 N-(2-丙烯基)-2-氯吩噻嗪的质谱裂解方式

Fig. 3 Fragmentation pathway of N-(2-propenyl)-2-chlorophenothiazine

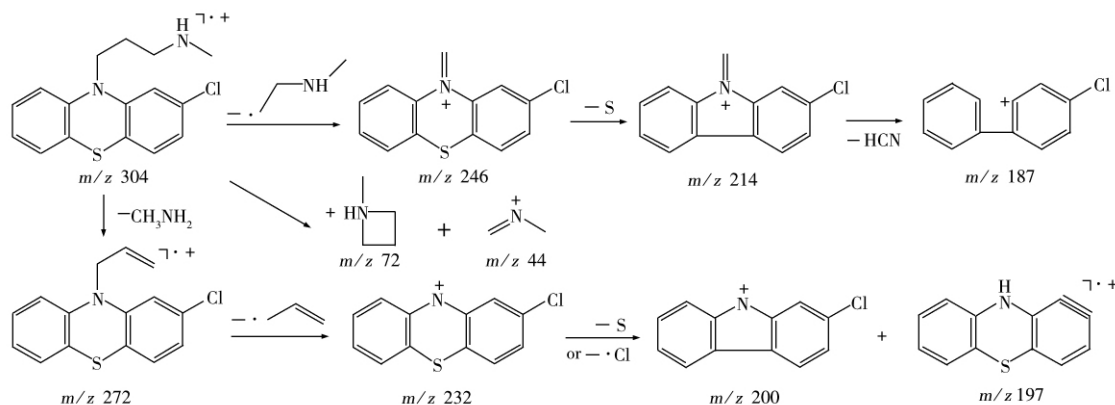


图 4 去甲基氯丙嗪的质谱裂解方式

Fig. 4 Fragmentation pathway of demethylchlorpromazine

M11 在 PCI 模式下的分子量为 265, 比 2-氯吩噻嗪多 32 u, 其主要碎片离子  $m/z$  166、154、139 与 2-氯吩噻嗪相同, M11 谱图中碎片离子  $m/z$  201 的丰度较大, 推断为砷类化合物脱去  $\text{SO}_2$  中性分子后剩下的碎片离子, 判断 M11 可能为 2-氯吩噻嗪砷。

M14 的分子量为 350, 通过 PCI 模式发现分子离子峰存在氯同位素现象,  $m/z$  58 的基峰说明可能存在二甲氨基的烷基结构; 根据其碎片离子  $m/z$  152、173、214 等推断 M14 为氯丙嗪代谢产物。M14 比 M12(7-羟基氯丙嗪)多 16 u, 而图谱中无  $[\text{M} - 16]$ 、 $[\text{M} - 17]$  等碎片离子, 说明不是砷或亚砷类代谢产物, 推断 M14 可能为二羟基氯丙嗪。

M15 的分子量为 320, 保留时间为 49.04 min, 比氯丙嗪亚砷(M13)少 14 u, 其主要碎片离子  $m/z$  289、272、246、197、179 与氯丙嗪亚砷相同, 基峰碎片离子  $m/z$  44 比氯丙嗪亚砷的基峰碎片离子  $m/z$  58 少 14 u, 同时有  $[\text{M} - 16]$ 、 $[\text{M} - 17]$  和  $[\text{M} - 18]$  碎片离子, 推断 M15 为去甲基氯丙嗪亚砷。其结构式和质谱碎裂方式见图 5。

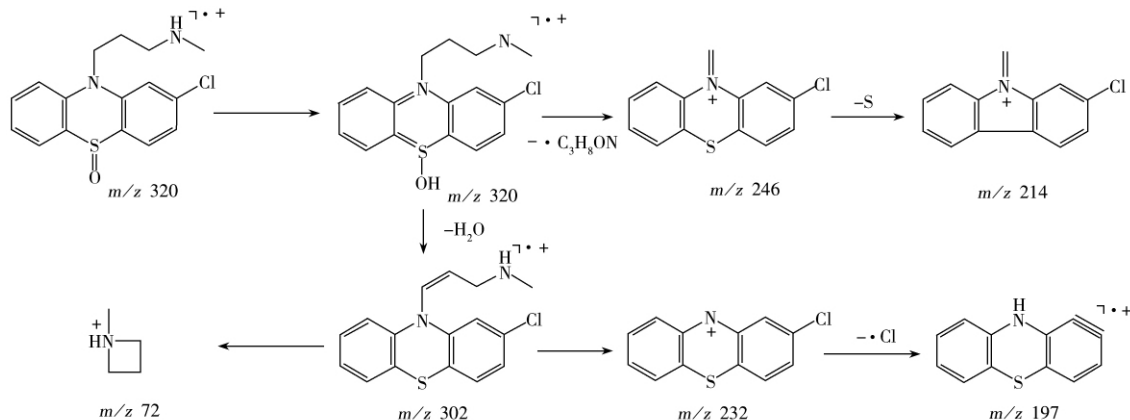


图 5 去甲基氯丙嗪亚砷的质谱裂解方式

Fig. 5 Fragmentation pathway of demethylchlorpromazine sulfoxide

M16 的保留时间为 49.41 min, 分子量为 332, 比去甲基氯丙嗪多 28 u, 其主要碎片离子  $m/z$  246、232、214、197、152 与去甲基氯丙嗪相同, 说明 M16 含有 N-烷基氯吩噻嗪基团; M16 脱去氯吩噻嗪基得到  $m/z$  100 碎片离子, 脱去 N-乙基氯吩噻嗪中性分子得到  $m/z$  72 碎片离子, 推测 M16 的可能结构为 N-乙酰基-N-去二甲基氯丙嗪。

M17 的保留时间为 49.97 min, 分子量为 346, 比 M16 多 14 u, 其主要碎片离子  $m/z$  246、232、214、197、152 与 M16 相同, 说明 M17 含有 N-烷基氯吩噻嗪基团,  $m/z$  114、86 碎片离子比 M16 的  $m/z$  100、72 多 14 u, 推测 M17 的可能结构为 N-乙酰基去甲基氯丙嗪。

### 2.3 氯丙嗪在大鼠体内中的代谢途径

研究结果表明, 氯丙嗪在大鼠体内能生成多种代谢产物, 尿液中主要以代谢物形式存在; 其中 2-氯吩噻嗪、丙嗪、去甲基氯丙嗪、2-氯吩噻嗪砜、7-羟基氯丙嗪和氯丙嗪亚砜为大鼠尿液中的主要代谢产物; 检出的 2-氯吩噻嗪、2-氯吩噻嗪砜、N-(2-丙烯基)-2-氯吩噻嗪、二羟基氯丙嗪、N-乙酰基去甲基氯丙嗪、N-乙酰基-N-去二甲基氯丙嗪等代谢产物尚未见文献报道, 而文献报道的氯丙嗪-N-氧化物、去甲基氯丙嗪砜和 N-去二甲基氯丙嗪未检出, 可能是由于生物体内代谢的途径不同所致<sup>[15-16]</sup>。

根据实验研究结果, 推测氯丙嗪在大鼠体内至少经历以下代谢途径: ①被氧化、羟基化, 生成羟基氯丙嗪与二羟基氯丙嗪; ②N-去甲基化, 之后被氧化或乙酰化; ③脱卤素生成丙嗪, 之后被氧化、羟基化和去烷基化; ④去烷基化, 之后被氧化、羟基化; ⑤去二甲胺生成 N-(2-丙烯基)-2-氯吩噻嗪。氯丙嗪的代谢示意图见图 6。

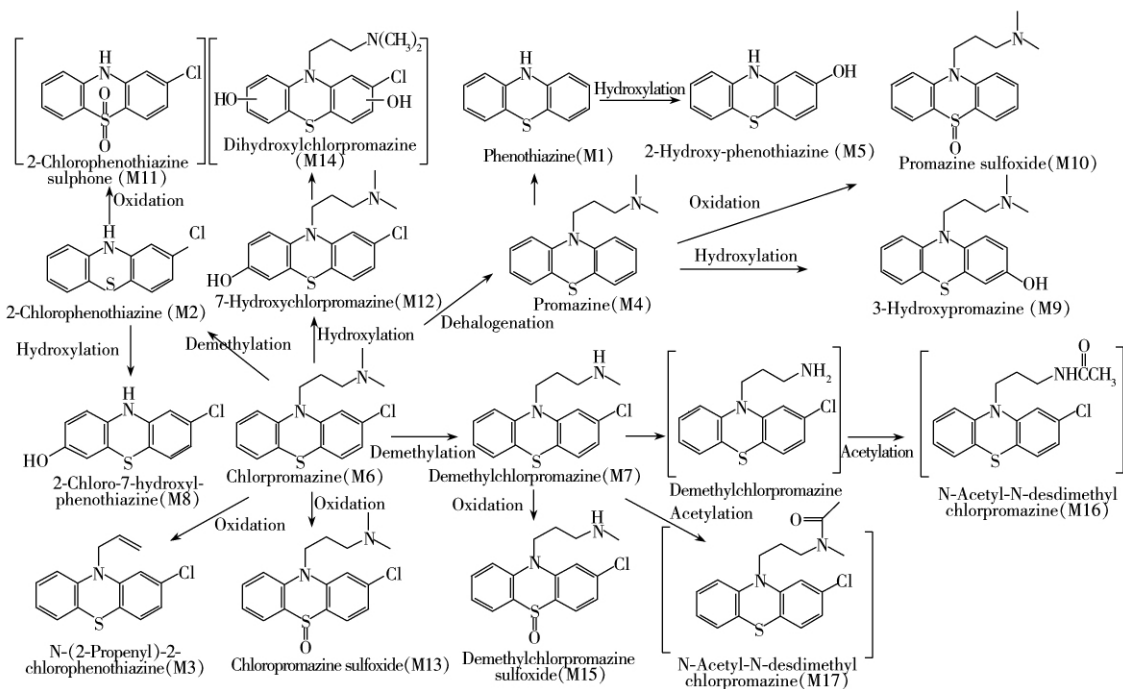


图 6 氯丙嗪在大鼠体内的可能代谢途径示意图

Fig. 6 Main metabolic pathway of chlorpromazine in rat

### 参考文献:

- [1] Wysowski D K, Baum C. *Arch. Gen. Psychiatry*, **1989**, 46(10): 929-932.
- [2] Devane C L. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **1995**, 52(Suppl 1): 15-18.
- [3] Xu M Q, Sun Z M, Ji J L. *J. Clin. Psychiatry*. (徐美勤, 孙正明, 季建林. 临床精神医学杂志), **2001**, 11(5): 261-262.
- [4] Kinoshita H, Nishiguchi M, Kasuda S, Takahashi M, Ouchi H, Minami T, Matsui K, Yamamura T, Motomura H, Ohtsu N, Yoshida S, Adachi N, Ohta T, Komeda M, Ameno K, Hishida S. *Soud. Lek.*, **2008**, 53(3): 28-30.
- [5] Lian Z, Sun G K, Liu R K, Liu Z M. *Chin. J. Drug Dependence* (连智, 孙桂宽, 刘锐克, 刘志民. 中国药物依赖性杂志), **2010**, 19(2): 120-123.

- [6] Liu W, Zhang X W. *Analysis of drugs and toxicant*. Beijing: Chinese People's Public Security University Press (刘文, 张新威. 毒品和毒物检验. 北京: 中国人民公安大学出版社), **2003**: 265 – 276.
- [7] Yang X Y, Wang L S, Mo J Y, Chen Z G, Xie T Y, Xi S F. *Chin. J. Anal. Chem.* (杨晓云, 王立世, 莫金垣, 陈缦光, 谢天尧, 席绍峰. 分析化学), **1999**, 27(8): 991 – 992.
- [8] Bazhdanzadeh S, Talebpour Z, Adib N, Aboul – Enein H Y. *J. Sep. Sci.*, **2011**, 34(1): 90 – 97.
- [9] Chetty M, Moodley S V, Miller R. *Ther. Drug Monit.*, **1994**, 16(1): 30 – 36.
- [10] Valoti M, Palmi M, Della Corte L, Nardini M, Corti P, Sgaragli G P. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, **1992**, 14(6): 445 – 450.
- [11] Muralidharan G, Cooper J K, Hawes E M, Korchinski E D, Midha K K. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **1996**, 50(1 / 2): 121 – 128.
- [12] Sato S, Koshiro A. *Biol. Pharm. Bull.*, **1995**, 18(4): 586 – 592.
- [13] Qi S L, Wu M, Yan L J, Wu S H, Zou W, Lin L Y, Zhou Y. *J. Instrum. Anal.* (齐士林, 吴敏, 严丽娟, 吴抒怀, 邹伟, 林立毅, 周昱. 分析测试学报), **2009**, 28(6): 677 – 681.
- [14] Huang K J, Zhu D J, Li H S, Lin C W, Li L, Liu X F. *J. Instrum. Anal.* (黄克建, 朱定姬, 李宏森, 林翠梧, 李璐, 刘晓锋. 分析测试学报), **2010**, 29(3): 220 – 225.
- [15] Jaworski T J, Hawes E M, M G, Midha K K. *Xenobiotica*, **1990**, 20(1): 107 – 115.
- [16] Kreft H, Breyer – Pfaff U. *Drug Metab Dispos.*, **1979**, 7(6): 404 – 410.

## 《分析测试学报》关于“新仪器、新方法展示专场” 栏目的征稿说明

随着科技的不断进步, 分析技术的进步越来越倚重分析仪器的发展和创新。为促进国内外新型分析仪器的展示与分析方法的交流, 提高我国分析技术研究实力和水平, 《分析测试学报》特新开设了“新仪器、新方法展示专场”栏目。栏目征稿要求及说明如下:

一、征稿内容: 国内外新开发或刚投入市场的分析仪器及其实际应用介绍。具体内容如下: ①仪器装置: 包括设备名称、型号, 仪器照片或仪器结构示意图, 制造厂商等; ②仪器原理简介; ③技术指标; ④应用范围; ⑤实例与应用: 包括特征样品的前处理方法、谱图、分析参数(准确度、精密度、检出限数据及线性范围等)。

二、稿件格式: 标题 3 号黑体, 公司名字小 5 号宋体, 正文 5 号宋体, 一级标题 4 号黑体, 二级标题小 4 号黑体, 表题及图题小 5 号宋体, 表内及图内文字为 6 号宋体。

三、字数要求: 不超过 3000 字/篇, 即不超过本刊 2 个版面。

四、该栏目文章将同时上传到本刊网站, 供广大的读者阅读, 以扩大影响。

五、本刊将定期对该栏目中的新仪器进行汇总、分类, 向广大作者、读者推介, 并将读者对于新仪器的相关意见反馈给仪器厂商。