

液相色谱-电喷雾串联质谱同时检测尿液和胃液中 12 种有毒生物碱

张春华^{1,2,3} 吴惠勤^{* 2} 黄晓兰² 朱志鑫² 黄芳² 林晓珊² 罗辉泰²

¹(中国科学院广州化学研究所, 广州 510650)

²(中国广州分析测试中心 广东省分析测试技术公共实验室, 广州 510070)

³(中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要 建立了高效液相色谱-电喷雾串联质谱同时检测尿液和胃液中 12 种有毒生物碱的方法。优化了提取条件及色谱-质谱条件,并考察了基质效应的影响,探讨了质谱碎裂机理。尿液和预先调节至中性的胃液经硼砂-NaOH 缓冲液(pH 9.6)碱化,乙酸乙酯液液萃取,采用电喷雾电离(ESI⁺)、多反应监测(MRM)方式,可同时对黄华碱、倒千里光碱、山莨菪碱、钩吻碱、芦竹碱、哈尔碱、吐根碱、血根碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、雷公藤吉碱和雷公藤次碱 12 种有毒生物碱进行定性和定量分析。在优化的条件下,12 种成分分别在 0.5 ~ 200 μ g/L、1 ~ 200 μ g/L 和 5 ~ 200 μ g/L 范围内线性关系良好,尿液中除黄华碱和山莨菪碱外,各生物碱的回收率为 61.9% ~ 119.1%,胃液中各生物碱回收率为 61.0% ~ 110.2%,精密度 RSD < 15%,检出限(LOD)为 0.1 ~ 0.5 μ g/L,定量限(LOQ)为 0.5 ~ 5.0 μ g/L,对回收率不高的生物碱可通过空白基质配制标样校正,满足定量分析的要求。本方法操作简便、快捷、灵敏度高,适用于中毒患者尿液和胃液中有毒生物碱成分的检测。

关键词 高效液相色谱; 电喷雾串联质谱; 同时检测; 有毒生物碱; 胃液; 尿液

1 引 言

生物碱是一类含氮有机化合物,广泛存在于自然界中,是许多中草药的活性成分,但某些生物碱具有很强毒性,常因误食、误服、用药过量甚至蓄意投毒而导致生物碱中毒,如 2001 年邓文龙^[1]统计超过 800 例因服用或误食雷公藤而导致中毒或死亡,梁爱华等^[2]描述了吡咯里西定类生物碱毒性及中毒事件,而倒千里光碱是其中毒性较大的生物碱。含有有毒生物碱的植物分布广,如上面提到的卫矛科的雷公藤含有雷公藤吉碱、雷公藤次碱等,菊科千里光属的千里光含有千里光碱、倒千里光碱,罂粟科植物白屈菜含有血根碱,葫芦科植物的钩吻含有钩吻碱,豆科的披针叶黄华、甘肃棘豆含有黄华碱,芸香科植物吴茱萸、石虎含吴茱萸碱、吴茱萸次碱,茜草科的吐根含吐根碱,蓼科的骆驼蓬有哈尔碱等。当发生有毒生物碱中毒时,因毒性大、会在生物体内代谢等原因,生物碱在体液内的含量低,检测困难。

目前,生物体液中有毒生物碱同时检测的方法有气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[3]、液相色谱-质谱联用法(LC-MS/LC-MS/MS)^[4-13]。由于生物碱一般不易挥发,能用 GC-MS 进行分析检测的生物碱较少,现在更倾向于采用 LC-MS 和 LC-MS/MS。Beyer 等^[4]建立了血浆中常见的 9 种有毒生物碱(包括一个代谢物)的 LC-APCI-MS 和 LC-ESI-MS/MS 方法;文献[5~9]分别研究了尿液和血液中多种有毒生物碱的检测方法;也有同时检测体液中同一植物来源的生物碱的方法^[11~13]的报道,但是这些检测方法所包含的有毒生物碱种类有限。现有检测方法中,除山莨菪碱^[6,9,14]、钩吻碱^[5]和吴茱萸碱^[14]外,黄华碱、倒千里光碱、芦竹碱、哈尔碱、吐根碱、血根碱、吴茱萸次碱、雷公藤吉碱、雷公藤次碱均未见报道。在实际检测中,除血液外,胃液和尿液也是经常送检的样品。本研究采用乙酸乙酯液液萃取尿液和胃液中上述 12 种有毒生物碱、用 LC-MS/MS 在电喷雾电离(ESI⁺)、多反应监测(MRM)模式定性与定量分析,建立了快速检测 12 种有毒生物碱的方法,检出限为 0.1 ~ 0.5 μ g/L,满足痕量分析的要求,为有毒生物碱中毒事故检测、法医毒物分析提供方法。

2011-08-04 收稿;2012-01-15 接受

本文系广东省科技计划项目(No. 2008A030203010),广州市越秀区科技计划项目(No. 2009-PT-005)资助

© 1994-2012 WuChunJin@tom.com Electronic Journal of Analytical Chemistry Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent 1200 RRLC 高分离度快速液相色谱仪、Agilent 6410 Triple Quad 三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司)。XK96-A 快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司);TDZ5-WS 离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);HGC-12 氮吹仪(上海欢奥科贸有限公司)。

吐根碱(Sigma 公司),消旋山莨菪碱(中国药品生物制品检定所),倒千里光碱、血根碱(天津一方科技有限公司),钩吻碱(上海展舒科技有限公司),芦竹碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、哈尔碱(阿拉丁试剂公司),雷公藤吉碱、雷公藤次碱、黄华碱(上海同田生物科技有限公司),除雷公藤吉碱纯度为90%外,其余生物碱纯度均高于97%,均用色谱纯甲醇配成100 mg/L 标准储备液,储存于4℃冰箱中。甲醇、乙腈(色谱纯,Merck 公司);氯仿、乙醚、甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、异丙醇、乙酸铵(分析纯,广州化学试剂厂)。

空白尿液由志愿者提供。

人工胃液的配制:参照中国药典2010版第二部附录X A 中(附录85页)人工胃液的配制方法配制(取16.4 mL 稀 HCl(质量浓度9.5%~10.5%),加水约800 mL 与胃蛋白酶10 g,摇匀后,加水稀释至1000 mL 即得)。

2.2 样品前处理

2.2.1 尿液 取尿液1 mL 于15 mL 离心管中,加入2 mL 硼砂-NaOH 缓冲液(pH 9.6),充分混匀,加入5 mL 乙酸乙酯,振摇10 min,以4000 r/min 离心5 min,取有机层;重复提取一次,合并有机层,在45℃水浴中以氮气吹至干,加入1 mL 甲醇溶解,过0.22 μm 微孔滤膜,待LC-MS/MS 分析。

2.2.2 胃液 取人工胃液1 mL 于15 mL 离心管中,加入50 μL 1 mol/L NaOH 溶液,参照2.2.1 项处理。

2.3 色谱与质谱条件 Thermo Scientific BDS HYPERSIL-C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm×2.4 μm);流动相:0.2% 甲酸溶液(A)-乙腈(B);流速:0.3 mL/min;梯度:0~2.0 min,45% B;2.0~4.5 min,45%~80% B;4.5~7.5 min,80% B;柱温:30℃;进样量:5 μL。

电喷雾离子源(ESI),正离子扫描,多反应监测模式(MRM),干燥气温度:350℃,干燥气流速:10 L/min,雾化气压力:275.8 kPa,毛细管电压:4 kV。

3 结果与讨论

3.1 提取条件的选择

生物碱一般具有一定的碱性,在酸性条件下,能形成盐而易溶于水,不易溶于有机溶剂。所以在用有机溶剂提取前,要先将样品调至碱性,转化为游离态生物碱,使其易溶于有机溶剂。经实验,提取胃液(pH 1~2)中生物碱时,先加入50 μL 1 mol/L NaOH 溶液,调节样品至pH 7,再加入硼砂-NaOH 缓冲液(pH 9.6);而尿液则直接加入硼砂-NaOH 缓冲液(pH 9.6)。

12 种目标生物碱其结构多样,极性相差较大,如黄华碱极性较大,能溶于水;雷公藤次碱、雷公藤吉碱,极性相对较小。为了使12 种生物碱均能从生物体液中提取出来,达到满意的回收率,考察了胃液为基质时,氯仿-异丙醇(95:5,V/V)、二氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯进行液-液萃取的提取效果。结果表明,4 种提取剂均能不同程度地提取出体液中的生物碱,其中钩吻碱、哈尔碱和芦竹碱回收率均大于90%;用乙醚萃取时,黄华碱、山莨菪碱、血根碱和吴茱萸次碱的回收率较低,为20.2%~50.8%,其余为61.1%~97.1%;用二氯甲烷萃取时,血根碱和吴茱萸次碱的回收率为32.8%~37.2%,其余为63.0%~104.3%;用乙酸乙酯提取时,各生物碱回收率为65.3%~118.4%;用氯仿-异丙醇(95:5,V/V)提取时,血根碱的回收率为30.5%,其余各生物碱的回收率为61.5%~113.3%;其中吐根碱、雷公藤次碱、雷公藤吉碱、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的回收率为乙酸乙酯略大于氯仿-异丙醇(95:5,V/V),山莨菪碱、倒千里光碱用氯仿-异丙醇(95:5,V/V)提取优于乙酸乙酯。综合提取效果,并考虑到氯仿毒性较大,选择用乙酸乙酯作为萃取剂较为理想。

3.2 色谱条件的优化

考察了在流动相 A 为 0.2% 甲酸溶液、10 mmol/L 乙酸铵(流动相 B 均为乙腈)中各组分的分离效果。当流动相 A 为 10 mmol/L 乙酸铵时,吐根碱响应差,色谱峰扁而宽,且血根碱拖尾严重;当流动相 A 为 0.2% 甲酸溶液时各生物碱响应较好,主要是因为各生物碱在酸性条件下,有利于电喷雾正离子模式下电离。流动相 A 的起始比例从 30% 上升到 45% 时,吐根碱的保留时间增大,而哈尔碱和血根碱的出峰时间前移,且血根碱的峰形有所改善。故流动相 A 选择 0.2% 甲酸溶液,起始比例为 45%,经优化梯度洗脱程序后,得到的 12 种生物碱的 MRM 色谱图如图 1 所示。色谱峰 2(倒千里光碱)和色谱峰 3(山莨菪碱)没有很好分离,但是在 MRM 的模式下不影响这两种生物碱的定性与定量分析。

3.3 质谱条件优化

3.3.1 定性与定量分析 血根碱为季铵盐生物碱,在 ESI 源正离子模式下易形成 $[M]^+$ 分子离子峰,其余 11 种生物碱均易得到一个质子形成 $[M+H]^+$ 准分子离子峰。在选定的质谱条件下,优化碎裂电压,使准分子离子响应达到最佳,再进行二级质谱分析(图 2);优化碰撞能量,选择碎片离子中丰度较大的 2 个子离子为定性离子对,其中响应值较高的离子对作为定量离子对。各组分的保留时间、定性及定量离子对、碎裂电压和碰撞能量见表 1。

表 1 正离子模式下 12 种有毒生物碱的保留时间、定性离子对、定量离子对、碎裂电压和碰撞能量
Table 1 Retention time, qualitative ion, quantitative ion, fragmentor and collision energy of 12 toxic alkaloids in positive ion mode

化合物 Compounds	保留时间 Retention time (t_R /min)	定性离子对 Qualitative ion (m/z)	碎裂电压 Fragmentor (V)	碰撞能量 Collision energy (eV)	化合物 Compounds	保留时间 Retention time (t_R /min)	定性离子对 Qualitative ion (m/z)	碎裂电压 Fragmentor (V)	碰撞能量 Collision energy (eV)
黄华碱 Thermopsine	1.71	245.2/98.1* 245.2/70.1	165	25 32	吐根碱 Emetine	3.66	481.3/274.2 481.3/246.2*	190	38 38
倒千里光碱 Retrorsine	1.90	352.2/138.1 352.2/120.1*	175	30 30	血根碱 Sanguinarine	4.68	332.1/317.1 332.1/274.1*	185	32 36
山莨菪碱 Anisodamine	1.95	306.2/140.0* 306.2/122.0	150	24 40	吴茱萸碱 Evodiamine	5.90	304.1/161.0 304.1/134.0*	113	20 20
钩吻碱 Gelsemine	2.14	323.2/236.2* 323.2/195.1	157	28 44	吴茱萸次碱 Ruteacarpine	6.19	288.1/273.1* 288.1/115.0	152	35 50
芦竹碱 Gramine	2.25	175.1/130.0* 175.1/103.0	70	6 38	雷公藤吉碱 Wilforgine	6.52	858.3/206.1 858.3/178.1*	210	48 70
哈尔碱 Harmine	2.72	213.1/198.1 213.1/169.1*	143	22 44	雷公藤次碱 Wilforine	7.02	868.3/206.1 868.3/178.1*	220	51 44

注 [Note]: *为定量离子对 (Means quantitative ion)。

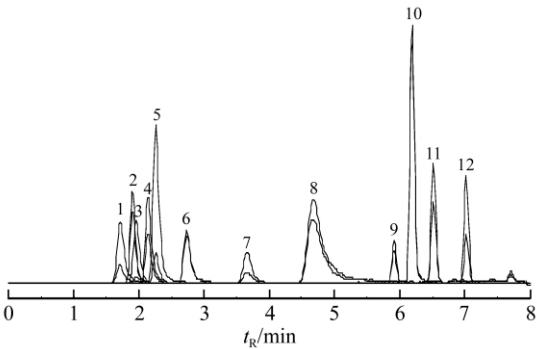


图 1 12 种有毒生物碱的 MRM 色谱图(其中 1、3、5 和 9 浓度为 10 $\mu\text{g/L}$,其余浓度为 50 $\mu\text{g/L}$)
Fig. 1 MRM chromatogram of 12 toxic alkaloids (Concentration: 1, 3, 5 and 9: 10 $\mu\text{g/L}$; others: 50 $\mu\text{g/L}$)
峰 (Peak): 1. 黄华碱 (Thermopsine); 2. 倒千里光碱 (Retrorsine); 3. 山莨菪碱 (Anisodamine); 4. 钩吻碱 (Gelsemine); 5. 芦竹碱 (Gramine); 6. 哈尔碱 (Harmine); 7. 吐根碱 (Emetine); 8. 血根碱 (Sanguinarine); 9. 吴茱萸碱 (Evodiamine); 10. 吴茱萸次碱 (Ruteacarpine); 11. 雷公藤吉碱 (Wilforgine); 12. 雷公藤次碱 (Wilforine)。

3.3.2 质谱碎裂特征 探讨了各生物碱的二级质谱碎裂机理,如倒千里光碱(图 3A)在电喷雾过程中得到一个质子,形成准分子离子 m/z 352.2,准分子离子中存在 2 个内酯键,可丢失 CO,得到 m/z 324.2;也可 2 个内酯键均断裂,丢失 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_5$,形成 m/z 138.0;后者失去 H_2O ,得到 m/z 120.1,再失去 C_2H_2 ,产生碎片离子 m/z 93.9。

各生物碱的裂解特点有:(1)生物碱分子主体结构中有酯键时易发生断裂,且正电荷保留在含氮部分,如倒千里光碱中 m/z 138.1(图 3A),雷公藤吉碱中 m/z 206.1,雷公藤次碱中 m/z 206.1 的碎片离子均为主体结构中酯键断裂产生;当酯键为侧链结构时,易发生氢转移而失去中性酸分子,如山莨菪碱中托品酸(图 3B)、雷公藤吉碱中乙酸和 3-呋喃甲酸、雷公藤次碱中乙酸和苯甲酸的丢失。(2)生物碱的

苯环连有甲氧基时,先失去甲基,再失去 CO,例如吐根碱中 m/z 274.0 的碎片丢失 CO 产生 m/z 246.1; 哈尔碱准分子离子 m/z 213.1 失去甲基而产生 m/z 198.1 的碎片,继续丢失 CO 产生 m/z 170.2 (图 3C)。(3) 吲哚生物碱的 α 键易断裂,如芦竹碱 α 断裂后产生 m/z 130.0 的碎片(图 3D)。

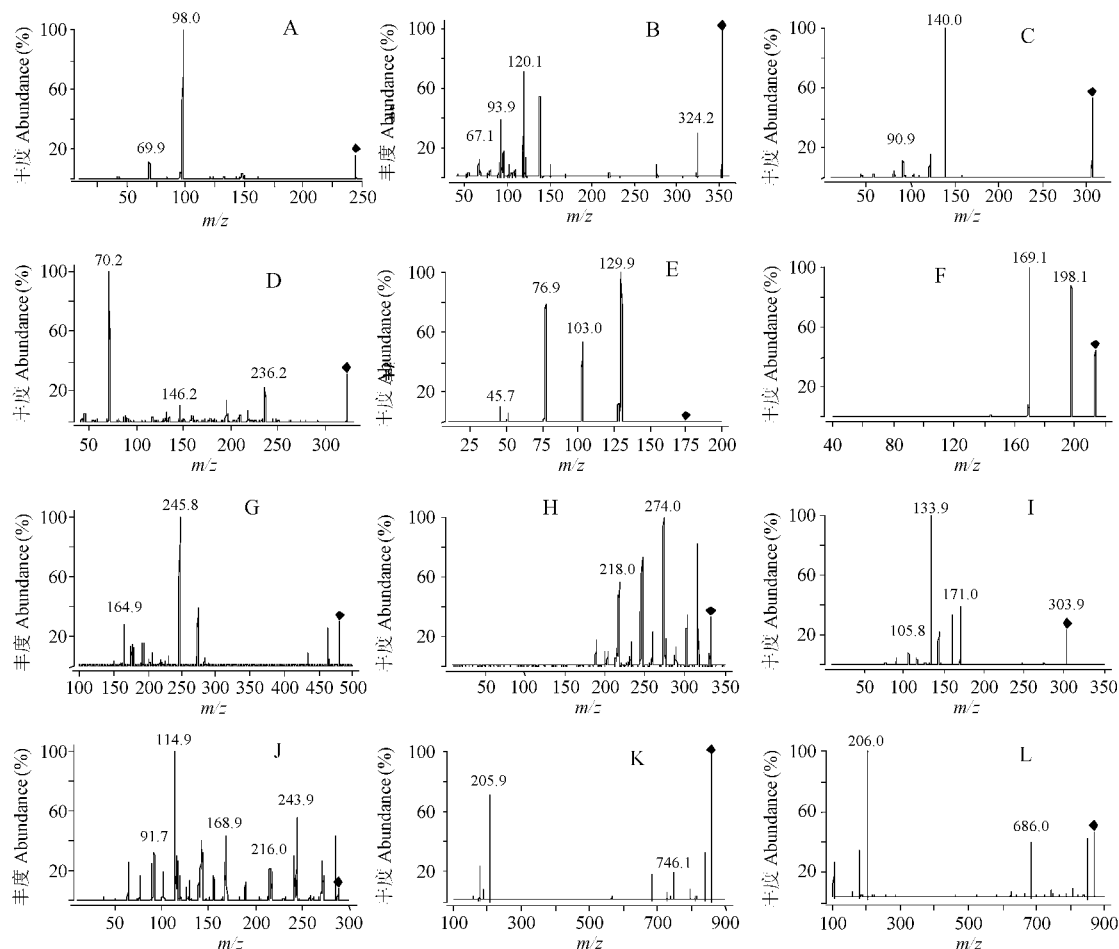


图2 12种生物碱的二级扫描质谱图

Fig.2 Mass spectra of 12 toxic alkaloids in product ion mode

A. 黄华碱(Thermopsine); B. 倒千里光碱(Retrorsine); C. 山莨菪碱(Anisodamine); D. 钩吻碱(Gelsemine); E. 芦竹碱(Gramine); F. 哈尔碱(Harimine); G. 吐根碱(Emetine); H. 血根碱(Sanguinarine); I. 吴茱萸碱(Evodiamine); J. 吴茱萸次碱(Rutaecarpine); K. 雷公藤吉碱(Wilforgine); L. 雷公藤次碱(Wilforine)。

3.4 基质效应

分别取3种不同来源的空白尿液及胃液,每种来源各6份,按3种不同来源各取2份合为1组,共3组,按2.2项方法处理,氮气吹干,残渣分别用1 mL高、中、低的混合标准溶液(纯甲醇配制)复溶,以其色谱峰面积与相应浓度标准溶液(纯甲醇配制)的色谱峰面积的比值为基质效应^[8,14]。高、中、低3种浓度水平下,各生物碱的平均基质效应($n=6$)见表2:尿液和胃液为基质时,12种生物碱的基质效应分别为50.2%~118.3%和81.1%~118.6%,其中尿液中提取黄华碱和山莨菪碱存在较明显基质效应,分别为51.9%~54.3%和50.2%~62.8%,可能是这2个生物碱极性相对大,保留时间小,在电喷雾电离过程中,与共提取物中极性大的组分,存在电荷竞争使这两生物碱的电离受到抑制,产生基质效应;不同来源的尿液(或胃液)中同一生物碱的RSD<15%($n=6$),表明该生物碱以不同来源的尿液(或胃液)为基质时,基质效应相差不大。同时,表2也表明,分别在尿液和胃液中提取同一生物碱,其基质效应可能不同。

3.5 方法回收率和精密度

分别取不同来源的空白尿液及胃液(同3.4项),添加高、中、低3种不同浓度的混合标准溶液,按2.2项方法提取并分析,回收率(6个平行样品的峰面积与以纯甲醇配制标准溶液的峰面积相比的平均值)和精密度结果见表2。尿液中黄华碱和山莨菪碱回收率为40.1%~48.1%,其余生物碱的回收

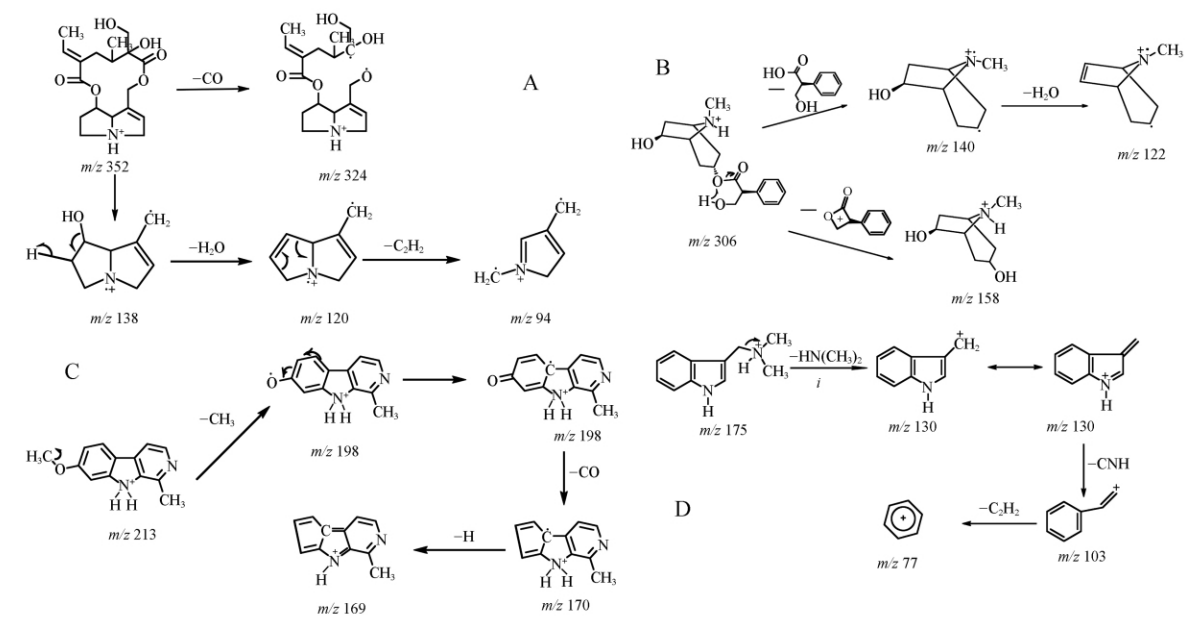


图 3 倒千里光碱 (A)、山莨菪碱 (B)、哈尔碱 (C) 和芦竹碱 (D) 的质谱裂解机理

Fig. 3 Fragmentation mechanism of retrorsine (A), anisodamine (B), harmine (C) and gramine (D)

率为 61.0% ~ 119.1%，精密度 RSD<15% (n=6)。尿液中黄华碱和山莨菪碱的回收率不高，主要是因为其在电喷雾电离过程中存在基质抑制效应，但是其精密度能满足方法的要求 (RSD<15%)，在定量检测时，可以通过空白基质配制标样的方式，使检测结果准确。

表 2 方法的回收率、精密度和基质效应 (n=6)

Table 2 Recovery, relative standard deviation (RSD) and matrix effects of method (n=6)

化合物 Compounds	加入量 Concentration added (μg/L)	尿液 Urine			胃液 Gastric juice		
		基质效应 Matrix effects (%)	回收率 Recoveries (%)	RSD (%)	基质效应 Matrix effects (%)	回收率 Recoveries (%)	RSD (%)
黄华碱 Thermopsine	5	53.8	41.7	14.9	91.8	65.1	15.0
	50	54.3	48.1	15.0	92.1	64.1	13.4
	200	51.9	42.0	10.9	94.8	80.4	11.2
倒千里光碱 Retrorsine	5	88.0	75.2	13.3	84.9	89.5	13.5
	50	78.5	86.2	12.0	89.9	86.2	6.3
	200	82.9	79.5	4.0	87.2	82.7	13.5
山莨菪碱 Anisodamine	5	62.8	43.9	14.3	97.2	61.5	11.1
	50	50.2	40.1	10.7	85.5	61.0	14.7
	200	55.7	44.9	10.5	83.8	61.9	14.3
钩吻碱 Gelsemine	5	84.0	83.3	5.8	113.8	106.9	9.1
	50	91.1	83.6	9.5	116.2	103.4	7.2
	200	86.1	84.1	5.9	105.3	96.0	2.1
芦竹碱 Gramine	5	95.9	111.3	7.7	118.6	96.9	4.1
	50	106.6	92.1	10.3	111.9	107.6	10.6
	200	100.9	87.7	9.9	103.7	92.1	5.3
吐根碱 Emetine	5	100.0	102.3	3.7	112.5	107.7	3.8
	50	111.7	99.7	9.1	111.1	110.2	4.4
	200	104.2	93.2	7.7	109.8	101.9	0.7
血根碱 Sanguinarine	5	71.5	71.0	9.2	104.4	68.1	8.1
	50	61.9	66.4	14.2	82.1	85.2	14.9
	200	61.0	68.1	12.7	81.1	75.5	15.0
哈尔碱 Harmine	5	97.3	69.3	12.8	98.0	62.8	12.3
	50	108.5	64.1	4.1	115.9	75.0	6.8
	200	89.3	61.9	11.7	114.2	82.7	5.7

续表 2(Continued the Table 2)

化合物 Compounds	加入量 Concentration added ($\mu\text{g/L}$)	尿液 Urine			胃液 Gastric juice		
		基质效应 Matrix effects (%)	回收率 Recoveries (%)	RSD (%)	基质效应 Matrix effects (%)	回收率 Recoveries (%)	RSD (%)
吴茱萸碱 Evodiamine	5	97.2	78.7	11.3	87.9	71.9	7.6
	50	97.8	84.0	11.4	89.4	86.4	5.3
	200	96.8	81.9	12.9	93.5	93.3	1.3
吴茱萸次碱 Ruteacarpine	5	85.6	72.9	7.7	95.8	74.5	5.7
	50	98.7	72.7	8.1	97.2	70.5	8.4
	200	85.3	75.9	8.4	93.1	76.4	2.7
雷公藤吉碱 Wilforgine	5	112.5	118.4	14.1	95.45	85.3	14.8
	50	112.4	100.2	14.3	101.0	93.4	5.8
	200	90.8	88.9	14.4	116.2	86.2	10.9
雷公藤次碱 Wilforine	5	98.1	105.3	13.3	94.4	90.4	11.6
	50	118.3	119.1	10.2	108.0	93.4	14.2
	200	84.1	80.0	14.8	111.9	77.9	4.4

3.6 线性方程、线性范围、相关系数、定量限(LOQ)和检出限(LOD)

取空白尿液及胃液 1 mL,加入 12 种生物碱标准液混合,分别配制尿液和胃液中各生物碱的浓度为 0.100, 0.200, 0.500, 1.00, 5.00, 10.0, 50.0, 100 和 200 $\mu\text{g/L}$,再按 2.2 项进行提取,在优化的色谱-质谱条件下,测定各生物碱。分别以各生物碱的峰面积(y)对浓度(x , $\mu\text{g/L}$),以 $1/x$ 为权重进行线性拟合。各生物碱的线性方程、线性范围、相关系数、定量限(LOQ) (以 $S/N\geq 10$ 计)、检出限(LOD) (以 $S/N\geq 3$ 计) 结果如表 3 所示。12 种生物碱分别在 0.5 ~ 200 $\mu\text{g/L}$, 1 ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 和 5 ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好,相关系数为 0.9900 ~ 0.9993; 检出限为 0.1 ~ 0.5 $\mu\text{g/L}$; 定量限(LOQ) 为 0.5 ~ 5.0 $\mu\text{g/L}$ 。结果表明,本方法适用于有毒生物碱中毒事故检测、法医毒物分析。

表 3 尿液和胃液中 12 种有毒生物碱的线性方程、线性范围、相关系数、定量限和检出限(LOD)
Table 3 Linear equations, linear range, correlation coefficient, limits of quantification (LOQ) and limits of detection (LOD) of 12 toxic alkaloids in urine and gastric juice

化合物 Compounds	尿液 Urine			胃液 Gastric juice			定量限 LOQ ($\mu\text{g/L}$)	检出限 LOD ($\mu\text{g/L}$)
	线性方程 Linear equation	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 Correlation coefficient	线性方程 Linear equation	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 Correlation coefficient		
黄华碱 Thermopsine	$y=1241.40x-33.60$	1 ~ 200	0.9900	$y=1797.66x+539.09$	1 ~ 200	0.9979	1.0	0.2
倒千里光碱 Retrorsine	$y=46.84x-13.24$	1 ~ 200	0.9968	$y=85.17x+71.23$	1 ~ 200	0.9984	1.0	0.5
山莨菪碱 Anisodamine	$y=489.79x-236.34$	1 ~ 200	0.9953	$y=787.16x+368.29$	1 ~ 200	0.9981	1.0	0.2
钩吻碱 Gelsemine	$y=215.65x+140.96$	1 ~ 200	0.9928	$y=280.07x+106.89$	1 ~ 200	0.9984	1.0	0.2
芦竹碱 Gramine	$y=2197.46x-1195.85$	1 ~ 200	0.9932	$y=2704.88x+475.71$	1 ~ 200	0.9986	1.0	0.1
哈尔碱 Harmine	$y=3462.91x+1238.27$	0.5 ~ 200	0.9944	$y=3674.64x+405.10$	0.5 ~ 200	0.9993	0.5	0.1
吐根碱 Emetine	$y=44.99x+7.99$	5 ~ 200	0.9922	$y=49.16x+1.09$	5 ~ 200	0.9901	5.0	0.5
血根碱 Sanguinarine	$y=913.36x-78.69$	5 ~ 200	0.9966	$y=1399.24x-156.13$	5 ~ 200	0.9929	5.0	0.5
吴茱萸碱 Evodiamine	$y=499.30x+404.29$	1 ~ 200	0.9959	$y=552.13x+574.96$	1 ~ 200	0.9946	1.0	0.2
吴茱萸次碱 Ruteacarpine	$y=543.06x+2421.36$	1 ~ 200	0.9966	$y=644.73x+1390.82$	1 ~ 200	0.9967	1.0	0.2
雷公藤吉碱 Wilforgine	$y=120.80x+29.89$	1 ~ 200	0.9918	$y=108.91x+62.85$	1 ~ 200	0.9977	1.0	0.2
雷公藤次碱 Wilforine	$y=130.44x+5.16$	1 ~ 200	0.9958	$y=96.13x+35.06$	1 ~ 200	0.9968	1.0	0.2

References

- 1 DENG Wen-Long. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, **2001**, 17(3): 42 ~ 47
邓文龙. 中药药理与临床, **2001**, 17(3): 42 ~ 47
- 2 LIANG Ai-Hua, YE Zu-Guan. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **2006**, 31(2): 93 ~ 97
梁爱华, 叶祖关. 中国中药杂志, **2006**, 31(2): 93 ~ 97
- 3 YAN Yu-Ling, WEN Yi-Min, RUI Zhen-Rong, SHEN Zhao-Ye. *Chinese J. Health Lab. Tech.*, **2004**, 14(3): 272 ~ 273
杨玉林, 温忆敏, 芮振荣, 沈朝烨. 中国卫生检验杂志, **2004**, 14(3): 272 ~ 273
- 4 Beyer J, Peters F T, Kraemer T, Maurer H. *J. Mass Spectrom.*, **2007**, 42(5): 621 ~ 633
- 5 XIONG Xiao-Ting, WU Hui-Qin, HUANG Xiao-Lan. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2009**, 37(10): 1433 ~ 1438
熊小婷, 吴惠勤, 黄晓兰. 分析化学, **2009**, 37(10): 1433 ~ 1438
- 6 LIU Wei, SHEN Min, SHEN Bao-Hua, XIANG Ping, WU He-Jian. *Journal of Forensic Medicine*, **2007**, 23(5): 349 ~ 352
刘伟, 沈敏, 沈保华, 向平, 吴何坚. 法医学杂志, **2007**, 23(5): 349 ~ 352
- 7 CHEN Xiao-Hong, LI Xiao-Ping, YAO Xun-Ping. *Chinese J. Health Lab. Tech.*, **2006**, 16(6): 691 ~ 762
陈晓红, 李小平, 姚浔平. 中国卫生检验杂志, **2006**, 16(6): 691 ~ 762
- 8 Qiu P H, Chen X H, Chen X, Lin L, Ai C C. *J. Chromatogr. B*, **2008**, 875(2): 471 ~ 477
- 9 Wu X M, Huang W X, Lu L, Lin L, Yang X F. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 398(3): 1319 ~ 1327
- 10 WANG Xue-Hu, YUAN Min, ZHANG Qian-Shang, ZHAO Wu-Sheng, GU Yue-Bao. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, **2011**, 47(4): 427 ~ 432
王学虎, 袁敏, 张前上, 赵武生, 顾月保. 理化检验(化学分册), **2011**, 47(4): 427 ~ 432
- 11 Beyer J, Peters F T, Kraemer T, Maurer H. *J. Mass Spectrom.*, **2007**, 42(2): 150 ~ 160
- 12 DU Zhen-Xia, SUN Shu-Qi. *Journal of Instrumental Analysis*, **2007**, 26(8): 61 ~ 63
杜振霞, 孙姝琦. 分析测试学报, **2007**, 26(8): 61 ~ 63
- 13 WANG Zhao-Hong, XING Jun-Bo, WANG Zhi-Ping. *Chinese J. Forensic Med.*, **2008**, 23(5): 226 ~ 228
王朝虹, 邢俊波, 王志萍. 中国法医学杂志, **2008**, 23(5): 226 ~ 228
- 14 Matuszewski B K, Constanzer M L, Chave-Eng C M. *Anal. Chem.*, **2003**, 75(13): 3019 ~ 3030

Simultaneous Determination of 12 Toxic Alkaloids in Urine and Gastric Juice Using Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Chun-Hua^{1,2,3}, WU Hui-Qin^{*2}, HUANG Xiao-Lan²,
ZHU Zhi-Xin², HUANG Fang², LIN Xiao-Shan², LUO Hui-Tai²

¹(Guangzhou Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

²(Guangdong Provincial Public Laboratory of Analysis and Testing Technology,
China National Analytical Center, Guangzhou 510070, China)

³(Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract A new method has been established for the rapid and simultaneous analysis of 12 alkaloids, thermopsine, retrorsine, anisodamine, gelsemine, gramine, harmine, emetine, sanguinarine, evodiamine, rutacarpine, wilforine and wilforgine in urine and gastric juice samples. The conditions of extraction, chromatography and mass spectrometry were optimized, and the matrix effects and fragmentation mechanism of the alkaloids were also examined. The samples were first treated with Na₂B₄O₇-NaOH buffer solution (pH 9.6), then extracted by ethyl acetate twice. After evaporation, the residues were reconstituted in methanol, from which 5 μ L was used for detecting by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry in positive ionization mode (ESI⁺). The linear range was 5–200 μ g/L for emetine and sanguinarine, 0.5–200 μ g/L

L for harmine and 1–200 $\mu\text{g/L}$ for other alkaloids. The mean recoveries ranged from 61.0% to 119.1% in urine samples except thermopsine and anisodamine, and 61.0% to 110.2% in gastric juice samples. The relative standard deviations (RSDs) were less than 15%, and the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) varied from 0.1 to 0.5 $\mu\text{g/L}$ and 0.5 to 5 $\mu\text{g/L}$. The method, proved to be rapid, sensitive and easy to handle, was suitable for the determination of trace alkaloids in urine and gastric juice samples of poisonous patients.

Keywords Liquid chromatography; Electrospray ionization tandem mass spectrometry; Simultaneous determination; Toxic alkaloids; Gastric juice; Urine

(Received 4 August 2011; accepted 15 January 2012)

中国化学会第十一届全国分析化学年会 (第二轮通知)

由中国化学会、青岛科技大学承办的第十一届全国分析化学年会,定于2012年10月26~29日在青岛召开,10月26日报到。会议将就我国自上届学术会议以来分析化学学科的新成就、新进展进行学术交流和讨论,会议邀请国内外从事分析化学研究的著名科学家、中青年学者、技术人员和仪器生产厂商参加,热忱欢迎踊跃投稿并到会交流。

一、征文要求

征文范围详见第一轮通知(可访问会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/>)。投稿论文要求主题明确、数据可靠、逻辑严密、文字精炼。文稿必须包括题名、作者姓名和单位、中文摘要和关键词(3~6个)、中图分类号、正文、参考文献、英文题名和作者姓名及单位。请严格按照论文模板投稿。模板见会议网站(<http://ac.qust.edu.cn/>)。

在首页页脚处写明第一作者简介(出生年、性别、职称、学位)以及基金资助情况(标出项目批准号)。请同时提供稿件联系人的电话、传真、详细通讯地址和 E-mail。论文用 Word 文件,通过会议网站网上投稿系统提交会议论文。

本次会议将增设青年论坛及仪器专场报告会。

二、会议注册和回执

1、注册费标准、要求和汇款方式可登录本会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/> 查询。中国化学会会员和学生注册后需提交有效证件以享受注册费优惠。

2、2012年6月在会议网站上公布宾馆住宿标准及预订事项。请拟参加会议的代表请在线填写会议回执。

三、其它事项

会议相关事宜请与青岛科技大学化学与分子工程学院张书圣教授、丁彩凤教授联系。筹备组联系电话: 0532-84022750 (张书圣), 0532-84022946 (丁彩凤), 传真: 0532-84022750。

论文相关事宜请与接桂芬老师联系,电话: 15166038289

厂商赞助参展等相关事宜请与本次会议指定展览招商筹备组联系,联系人: 梅振华,电话: 13730932176。会议网站: <http://ac.qust.edu.cn/>。

会议第三轮通知包括具体会议日程安排、报到地点等事宜将在会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/> 上发布。