

钩吻素甲的气相色谱-质谱分析

张春水^{1,2}, 郑 琿^{1,2}, 何 毅², 刘克林², 欧阳津^{1,*}

(1. 公安部物证鉴定中心, 北京 100038; 2. 北京师范大学化学系, 北京 100857)

摘要: 取5 g生物组织绞成均浆状, 用甲醇、水和盐酸混合液进行溶解和液-液提取生物碱中的钩吻素甲。用急速升温法减少了样品中杂质对色谱-质谱测量的影响。在最优化的GC/MS条件下获得了钩吻素甲的主要特征峰为 m/z 108(基峰)、 m/z 251、 m/z 279和 m/z 322(分子离子 M^+ 峰)。由此确定了钩吻素甲的分子式 $C_{20}H_{22}N_2O_2$ 、分子量322 Da和分子结构。提供了适合司法检验该类毒物的提取和分析方法。

关键词: 质谱学; 钩吻素甲分析; 气相色谱-质谱(GC/MS); 生物碱

中图分类号: O 657. 63; Q 949. 776. 3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2004)03-172-03

Determination of Gelsemium by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHANG Chun-shui^{1,2}, ZHENG Hui^{1,2}, LIU Ke-lin², HE Yi, CHANG Jing^{1,*}

(1. Institute of Forensic Science of Public Security Ministry of China, Beijing 100038, China;

2. Department of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100857, China)

Abstract: Biological tissue was weighed 5g, and was whisked to become the jam-like and was prepared the solution sample with use of the mixture of methanol, water and hydrochloric acid. Gelsemium was extracted from the solution sample by liquid-liquid extractive method. The effect of the impurity in biological sample for the gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) measuring was minimized by fast rising temperature. The main characteristic peaks m/z 108(basic peak), m/z 251, m/z 279 and m/z 322(M^+) were detected by the selective ion monitoring (SIM) mode under the optimizing GC/MS parameters. Therefore, the molecular formula ($C_{20}H_{22}N_2O_2$), molecular weight (322Da) and molecular structure were determined. Therewith, a extraction and analysis method of this poison was found for the judicial identify.

Key words: mass spectrometry; determination of gelsemium; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); alkaloid

钩吻(Gelsemium elegans)又名大茶叶、大茶药、断肠草等,为马钱科(Loganiaceae)植物断

肠草(Gelsemium elegans Benth)(胡蔓藤)的根、叶^[1]。可外用治疗皮肤湿疹、麻风等疾病,近20

收稿日期: 2003-08-01; 修回日期: 2004-01-15

作者简介: 张春水(1974~),男(汉族),辽宁抚顺人,助理研究员,从事毒物毒品的司法鉴定工作。

E-mail: zhangchunshui@163.net

* 通讯作者: 欧阳津

年来, 试用于治疗鼻咽癌、肝癌等。主要生长地点为我国两广、云南、贵州等地的丘陵、灌丛地带。产地不同, 钩吻植物中所含毒性极强的生物碱也不尽相同。国产钩吻经红外光谱、质谱确定主要含钩吻素子(Koum ine)和钩吻素甲等。由于钩吻植物毒性大, 以外用为主, 故虽可作药用, 但在我国历代本草中均被列为毒物, 食用过量可导致迅速死亡。在民间因使用不当或恶意投毒等原因造成钩吻中毒的事件时有发生。

由于成分复杂和样品提取等方面原因的限制, 目前我国司法及医药系统对钩吻的检验报道很少, 主要采用薄层色谱法、气相色谱法及液相色谱法^[2~3]进行分析, 这些方法虽然均能满足定性、定量上的要求, 但对更为复杂的生物样品而言, 结果难以满足准确性和可靠性的要求。本工作拟采用 GC/MS 方法对钩吻素甲成分进行分析, 建立司法检验该类毒物的提取和分析方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器和装置

QP 5050A 气相质谱联用仪: 四极质谱, 日本岛津公司产品; SGD-300 三气(空气、 H_2 、 N_2)发生器: 北京精华苑技术研究所产品; 高速离心机 (SORVALL Biofuge[®] Primo R): 美国 KENDRO 公司产品; 超声震荡仪 (8894 系列): 美国 COLE-PARMER 公司产品; 温控加热器、K D 浓缩器: 空气吹风, 带加热装置。

1.2 主要样品和试剂

中毒死亡者胃组织: 现场提取; 乙醚、甲醇: 均为分析醇, 北京化学试剂厂生产; 10%NaOH 溶液: 自制。

1.3 GC/MS 测试条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 DB-5MS 石英毛细柱 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m)。进样温度 280 $^{\circ}$ C; 离子源温度 250 $^{\circ}$ C; 温度程序: 起始温度 150 $^{\circ}$ C, 保留 1 min, 以 20 $^{\circ}$ C/min 速率升至 280 $^{\circ}$ C, 保持 15 min, 载气(氦气)流量 1 mL/min; 分流比为 10:1。

1.3.2 质谱条件 电子轰击(EI)离子源; 电子倍增器电压 1.4 kV; 扫描速率 0.5 s; 质量扫描范围 m/z 40~500; 扫描方式: 全谱扫描。

1.4 样品处理

取 5 g 生物组织, 机械绞碎使之成均浆状, 放置在圆底试管中并加入 15 mL 甲醇与水(V(甲醇): V(水)=2:1)混合溶液及 0.5 mL 盐

酸溶液, 超声震荡 10 min, 以 6 000 r/min 高速离心, 取上清液体挥发至 5 mL, 剩余水液备用。

1.5 液-液提取

用 10%NaOH 溶液调节上述水溶液 pH 为 11~13, 加入 30 mL 的乙醚并在超声震荡仪中震荡 10 min, 以 6 000 r/min 高速离心, 再按上述步骤操作一次, 合并有机溶液, 在 K D 浓缩器上挥发干燥, 用 100 μ L 甲醇溶解, 供 GC/MS 分析。

2 结果与讨论

2.1 pH 值对钩吻素甲提取效率的影响

钩吻生物碱的主要成分之一的钩吻素甲含元素 N (示于图 1), 因此在水溶液中呈碱性, 在提取过程中分别将 pH 调节为 7~9、9~11、11~13 及 13 以上等范围, 均用 30 mL 乙醚进行提取。结果发现, 在 pH 11~13 内的钩吻素甲的含量最高。

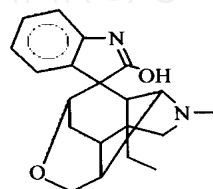


图 1 钩吻素甲的结构

Fig 1 Geometric structure of Gelsenine

2.2 气相色谱条件的优化

钩吻素甲分子量很大, 但因为分子中含有羟基和叔碳基, 故其分子极性较大, 在气相色谱的分离上较其它极性弱的组分出峰较为靠前, 而生物样品中(如胃组织)有机杂质含量较大, 其中的脂肪酸类物质在色谱图中有很强的峰(示于图 2), 对待测组分的干扰较大, 如果杂质与待测组分保留时间接近, 则给质谱的定性带来极大的困难, 为了使钩吻素甲得到较好的分离度, 本实验采用急速升温的方法, 使有机杂质(硬脂酸等)在钩吻素甲前出峰(示于图 2), 从而减少了杂质干扰, 提高了检测灵敏度和分离度。

2.3 GC/MS 参数的选择

胃组织样品经过 GC/MS 分析, 得到了钩吻素甲的质谱离子碎片谱图, 示于图 3, 钩吻素甲的主要特征质谱离子有 m/z 108 (基峰)、 m/z 251、 m/z 279、 m/z 322 (M^+), 因为所检测的样品毒物含量分布较高, 故毒物组分钩吻素甲的含

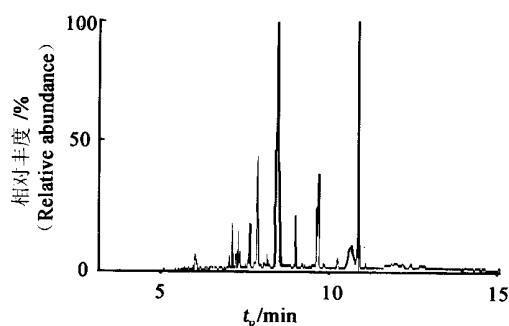


图 2 钩吻素甲的总离子流图

Fig 2 TIC spectrum of gelsenine

量较高, GC/MS 检测时在开启分流的同时用全谱扫描即可分析钩吻素甲成分, 并得到质谱的全谱图, 但如果样品是含量分布较低的组织, 如血液、肝组织、尿液等, 则杂质的干扰、待检物质含量较低等因素对质谱定性、定量的影响很大, 采用全谱分析不能很好地确证待检组分的存在, 只有确定了物质的质量特征离子, 才可以通过选择离子监测模式(SM)来减低干扰和提高灵敏度, 并可通过信噪比的计算准确地对待检物质进行定量分析。

3 结论

本工作所采用的液-液提取及 GC/MS 检测

方法, 能够有效地检测出包括生物样品在内的钩吻类生物碱成分, 并在实践案例分析中得到了广泛的应用。

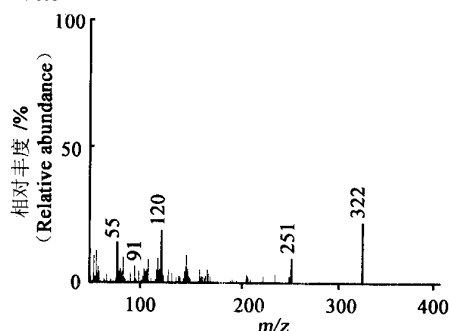


图 3 钩吻素甲的 GC/MS 图谱

Fig 3 Spectrum of gelsenine by GC/MS

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所主编 中国高等植物科属检索表[M] 北京: 科学出版社, 1979: 333
- [2] 裴茂清, 陈鸿义 钩吻生物碱的气相色谱分析方法[J] 广东公安科技, 1999(1): 42~44
- [4] 刘克林, 高利生, 何毅 从放置两年的中药残渣中检出钩吻成份[J] 刑事技术, 1996(6): 29~31
- [4] 陈鸿义, 陈小华, 王格深 高度腐败的尸体检材中残留钩吻生物碱的毛细管柱气相色谱检验[J] 刑事技术, 1990(2): 10~12

(上接第 188 页)

Si ères by another artefact (!): a mole of Si as display in Fig 2 Which does not make sense, but is interpreted in this way by many.

4 CONCLUSION

The question is raised whether it would not be useful already now to define the mole, the unit for amount-of-substance measurements, as follows:

“the unit for amount-of-substance measurements is the mole, symbol mol. It is an amount-of-substance which contains 6.022×10^{23} entities exactly. The entities must be specified”

Any improvement of our knowledge of the Avogadro constant can easily be incorporated in

this definition at any time by adding (a) significant digit(s).

5 ACKNOWLEDGEMENT:

The author is indebted to H S Peiser and G Price for in-depth interaction on various concepts and their implications in the course of the last ten years

References:

- [1] Organisation Intergouvernementale de la Convention du M ère. Le Syst ème International d'Unit é s. 7th edition, BIPM, 1998
- [2] G Price. Traceability to Units. Accred Qual Assur, 2003, 8: 475~476