

丙酰化-GC/MS/MS 法快速分析体内 海洛因代谢物及相关物质

吴何坚 沈保华 沈敏

(司法部司法鉴定科学技术研究所 上海 200063)

海洛因体内分析的文献报道很多。就分析样品,可分为尿样、血样、组织及毛发等分析方法的研究;就测定成分,可分为吗啡、单乙酰吗啡、总吗啡、葡醛酸结合物、可待因及乙酰可待因分析等;就分析方法,可分为 GC、HPLC 及免疫法等。为了进一步提高分析方法的特异性及灵敏度,同时适应快速分析的需要,在实际工作中我们开发了尿样用乙醚提取后,丙酸酐微波衍生化,GC/MS/MS 分析,为海洛因滥用的司法实践提供了有力可靠的科学证据。

1 仪器与试剂

Varian Saturn 2000 GC/MS/MS, J&W DB-5 石英毛细管色谱柱 (30m×0.32mm×0.25 μ m)。色谱条件:柱初温 100 $^{\circ}$ C, 1min; 15 $^{\circ}$ C/min 升温至 150 $^{\circ}$ C; 进一步以 30 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C, 维持 10min; 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; Transferline: 250 $^{\circ}$ C, Manifold: 40 $^{\circ}$ C, 离子阱: 150 $^{\circ}$ C; 氦气: 0.8ml/min。吗啡、6-单乙酰吗啡及可待因标样均购自国家麻醉品中心。用甲醇制成 1.0mg/ml 标准储备液, -18 $^{\circ}$ C 避光保存备用。所有试剂均为分析纯, 水为双蒸水。

2 实验方法

2.1 样品前处理

取尿样 2ml, 用 10%氢氧化钠溶液调节 pH 至 9, 加重蒸乙醚 3ml, 涡旋提取, 离心, 去上层乙醚, 60 $^{\circ}$ C 水浴挥干, 加吡啶丙酸酐, 微波衍生化后, 60 $^{\circ}$ C 水浴空气吹干, 残留物溶于 20 μ l 甲醇, 进样 1 μ l 分析。

取毛发样品适量, 经洗涤、水解等处理后, 用 10%氢氧化钠溶液调节 pH 至 9, 加氯仿: 异丙醇 (9: 1) 3ml, 涡旋提取, 离心, 去有机层, 60 $^{\circ}$ C 水浴挥干, 加吡啶丙酸酐, 微波衍生化后, 60 $^{\circ}$ C 水浴空气吹干, 残留物溶于 20 μ l 甲醇, 进样 1 μ l 分析。

2.2 GC/MS 及 GC/MS/MS 分析

用上述色谱条件对可待因、单乙酰吗啡及吗啡的丙酰化衍生物进行 GC/MS 分析。三种成分的保留时间分别是: 丙酰化可待因 12.5min、丙酰化单乙酰吗啡 13.7min、丙酰化吗啡 14.8min。通过时间编程, 用共振解离方式分别对可待因、单乙酰吗啡及吗啡的丙酰化衍生物进行 MS/MS 分析, MS/MS 分析条件见表 1。

表 1 可待因、单乙酰吗啡及吗啡的丙酰化衍生物 MS/MS 条件

序号	衍生物	分析时段 min	母离子 m/z	CID 电压	子离子 m/z
1	可待因	10~13.4	355	0.87	355,298,218
2	单乙酰吗啡	13.4~14	383	0.56	383,327,204
3	吗啡	14~15.5	397	0.86	397,341,218

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的优化

空白尿样及添加尿样同时提取、衍生化后，分别用 GC/MS 法及 GC/MS/MS 法分析。空白尿样在三种成分的出峰时间段，GC/MS 法可达到定性目的，但由于干扰成分的存在，对灵敏度有明显的影响；相应地，MS/MS 法，几乎无背景干扰。

为了缩短色谱过程的分析时间，我们曾试图用提高初始柱温到 200°C，或增大升温速率等方法，以期提早三种被分析成分的出峰时间。但在实验过程中，在三种成分出峰时间提前的同时，GC/MS-EI 测定的灵敏度明显下降，色谱行为也明显不佳，为了兼顾分析效率及分析灵敏度，最后我们采用了前述色谱条件。

3.2 MS/MS 条件的优化

为了提高二级质谱的特异性，我们均选用了三种成分的分子离子为母离子，对每种成分的母离子分别用 AMD 法，用共振法，在 0.2-1.0V 电压诱导碰撞，观察子离子质谱的变化情况，优化 CID 电压，建立 MS/MS 分析条件，见表 1。

在 MS/MS 条件优化中最重要的是 CID 电压的选择，如电压过高，母离子完全分裂；电压太低，子离子碎片信息太少。此外，CID 电压的变化仅影响各种子离子的相对丰度，不影响它们的质荷比。当 CID 电压固定时，MS/MS 质谱图也是固定的；比较了相同 MS/MS 条件下，不同分析时间及不同样品量 MS/MS 质谱图，能得到很好的重现。我们认为，MS/MS 质谱图稳定地反映三种成分的结构信息，可用于定性分析。

3.3 最小检出限

取吗啡及单乙酰吗啡标样，经微波丙酸酐衍生化后，依法 GC/MS/MS 分析，以总离子流色谱图信噪比大于 5 为阈值，吗啡及单乙酰吗啡的绝对检出限均为 0.2ng；同时，在此检出量时，吗啡及单乙酰吗啡衍生物均可得理想的二级质谱图。

取吗啡及单乙酰吗啡标样，加入空白尿样中，经提取、衍生化后，GC/MS/MS 分析，以总离子流色谱图信噪比大于 5 为阈值，吗啡及单乙酰吗啡的最小检出浓度均为 25ng/ml 尿样。

Rapid Analysis of Heroin and It`s Metabolites in Vivo by Propionylation-GC/MS/MS

Wu Hejian, Shen Baohua, Shen Min

(Institute of Forensic Sciences, Ministry of Justice, Shanghai 200063. China)