

人体尿液中曲马多及其代谢产物的 GC/MS 分析研究

向平 沈敏 黄仲杰

(司法部司法鉴定科学技术研究所 上海 200063)

[摘要] 本文应用 GC/MS (EI, PCD) 方法, 对人尿中曲马多及其代谢物进行分析研究。鉴定了曲马多在体内的主要代谢物为 N-去甲基曲马多、O-去甲基曲马多和羟化曲马多, 并比较了提取直接进样、衍生化及水解方法, 表明提取直接进样是检测曲马多快速且灵敏的方法。

关键词: 曲马多 GC/MS 代谢物

曲马多是一种可集中、双重作用的镇痛药。在欧美国家已使用多年, 对于中度至重度疼痛被认为是有效且安全的^[1], 但近期已报道有曲马多成瘾及过量致死案例^[2,3]。曲马多对很多药物有协助作用, 通常与抗抑郁药和鸦片类同时存在于体内, 与其它药物共存似乎是曲马多的标志^[3]。近两年来我国市场上已出现曲马多产品, 一些医院用作门诊手术镇痛药。我们在很多药物滥用者尿样中检出曲马多成分, 说明吸毒者已认识曲马多的作用, 须引起重视。

曲马多在体内吸收很快, 主要代谢途径为 N-去甲基和 O-去甲基, 大部分经尿排泄, 所以鉴定曲马多的最佳检材是尿样^[4]。国内有关体内曲马多及其代谢产物的分析还未见报道。本文应用 GC/MS 电子轰击质谱和化学电离质谱, 比较了提取进样、衍生化及水解方法, 提供了一种从人尿中提取且易于操作、快速、准确检测曲马多原体及代谢产物的方法, 这种方法在实际司法鉴定工作中取得了满意的结果。

1 实验

1.1 药品及试剂

曲马多即 (1R, S; 2R, S)-2-(dimethylaminoethyl)-1-(4-methoxyphenyl)-cyclohexanol 为德国格兰泰公司产品。其它试剂均为国产分析纯。

1.2 实验仪器及操作条件

HP5988GC/MS 仪, 具有 EI/PCI 源, 0.2mm × 12m HP-1 交联甲基硅酮柱, 柱温 100 (2m in) 至 270 升温 (20 /m in), 进样口温度 250 , 接口温度 280 , 柱前压

10psi EI源: 70ev, 源温 230 。PCI 240ev, 源温 200 ,CH₄ 反应气。每次工作前,用PFT-BA (标样)自动调谐仪器工作系统。

1.3 实验步骤

代谢尿的采集为志愿者口服 100mg 曲马多胶囊后 4h 采集尿样,存放于- 20 冰柜中保存。

取二份 2ml 尿样置 5ml 试管中,5% NaOH 调pH 至9,加入 2ml 氯仿,混旋 15min,离心 5min,分别将有机相转移至离心管中,在 60 水浴中氮气流吹干,一份直接进 GC/MS;另一份加 100 μ l 醋酸酐,50 μ l 吡啶 60 水浴加热反应 30min 后,氮气流吹干,进样。

另取一份 2ml 尿样,加浓盐酸 0.2ml,沸水浴中加热水解 30min,冷却后调pH 至9,加氯仿提取,进样。

2 结果和讨论

2.1 曲马多及其代谢产物的分析鉴定

尿提取液的总离子色谱图见图 1,其中A、B、C、D 峰和其 EI、PCI 质谱图分别见图 2 至图 5。

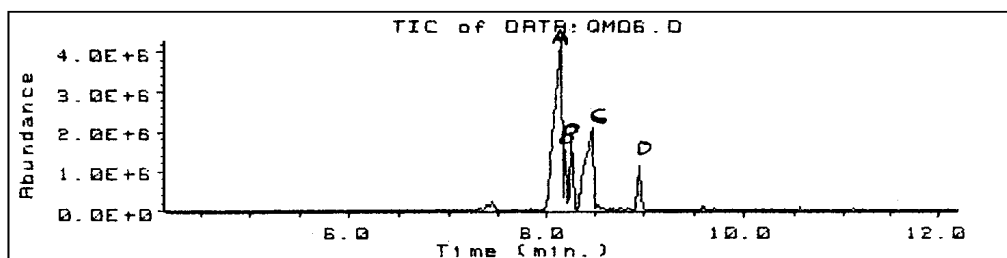


图 1 曲马多阳性尿总离子流图

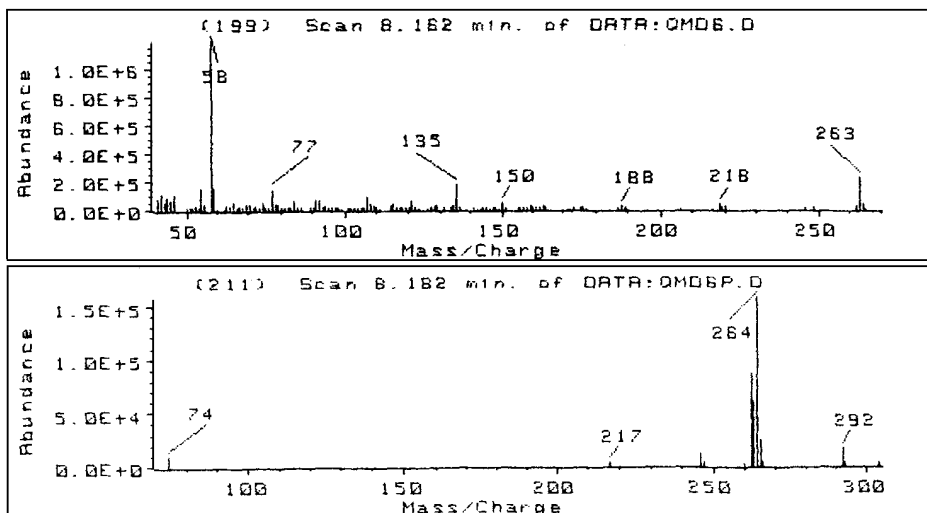


图 2 峰A 的EI和PCI质谱图

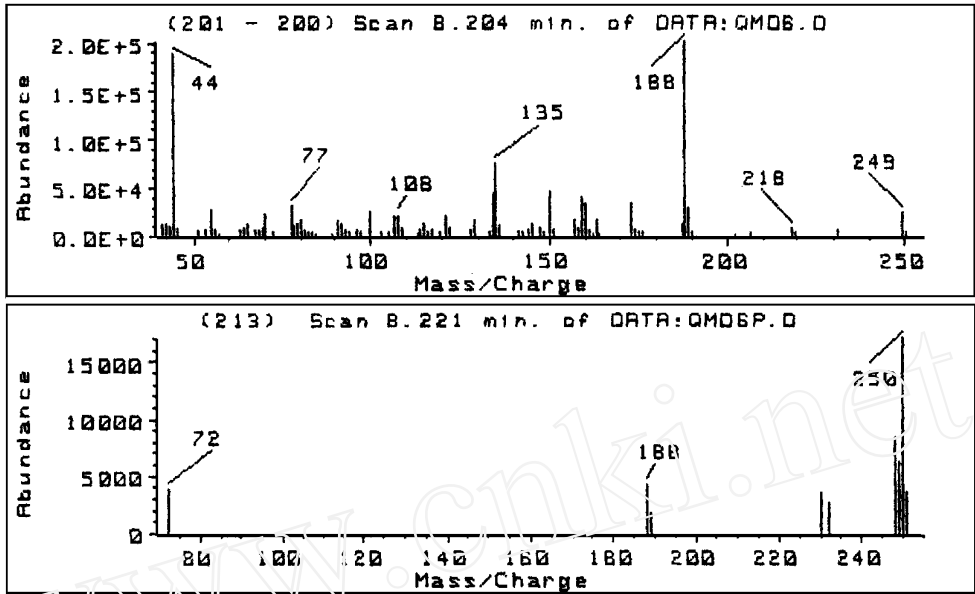


图3 峰B的EI和PCI质谱图

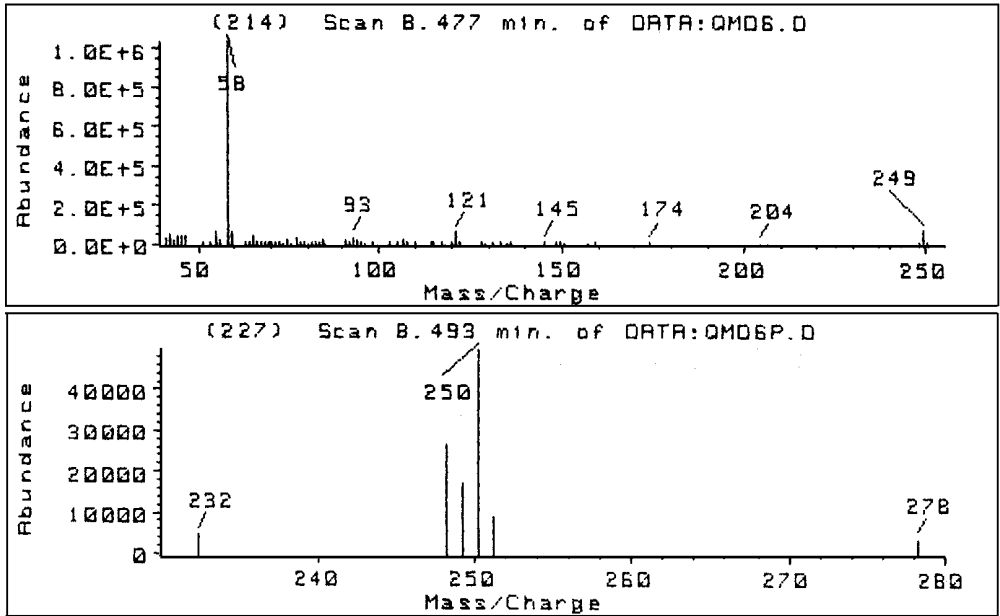


图4 峰C的EI和PCI质谱图

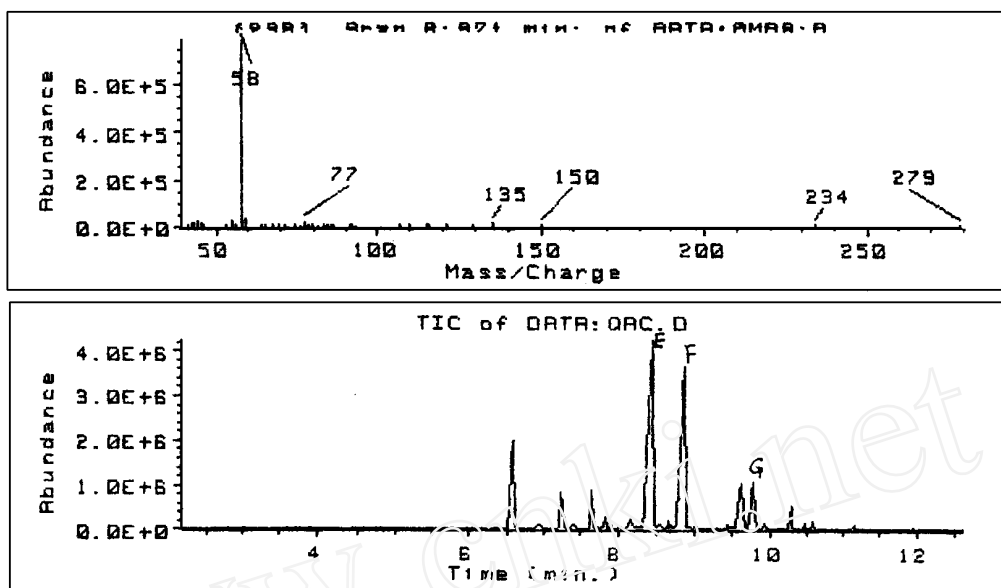


图5 峰D的EI和PCI质谱图

A 为曲马多原体,其EI质谱图与曲马多标准质谱图一致。特征峰 m/z 58、188、218、

263 分别来源于 CH_3 $\text{N}-\text{CH}_2^+$ 、 $\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$ 、 $[\text{M}-\text{N}(\text{CH}_3)_2]^+$ 和 M^+ 。在取代最多的已环环键处发生 α -断裂形成 $\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$ (m/z 135)。其PCI质谱图 m/z 264、292 则为 $[\text{M}+1]^+$ 和 $[\text{M}+29]^+$ 。

B 质谱图的特征峰 m/z 135、188、218 同A, 而特征峰 m/z 44、249 比A 少 14 质量单位可判断是N 上去甲基, 为N-去甲基曲马多。

C 质谱图的特征峰 m/z 58 同A, 而特征峰 m/z 121、174、204、249 比A 少 14 可判断是O 上去甲基, 为O-去甲基曲马多。

D 质谱图由特征峰 m/z 58、135 同A, 而特征峰 m/z 234、279 比A 多 16 质量单位可判断是一羟基, 为羟化曲马多。

B、C 和D 的PCI质谱图支持结构推测, 表明上述解释是合理的。

2.2 衍生化方法

曲马多及代谢物在O-、N-及已环上-OH 均可乙酰化, 所以衍生化后可产生很多衍生物, 图6 为衍生化后的总离子流图, 其中主要衍生物E、F、G 质谱图如图7~9, 其它几个强峰经质谱分析为体内杂质峰。

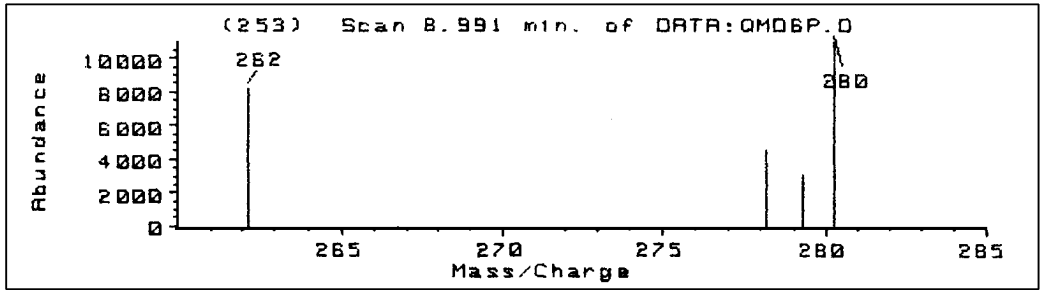


图6 衍生化后的总离子流图

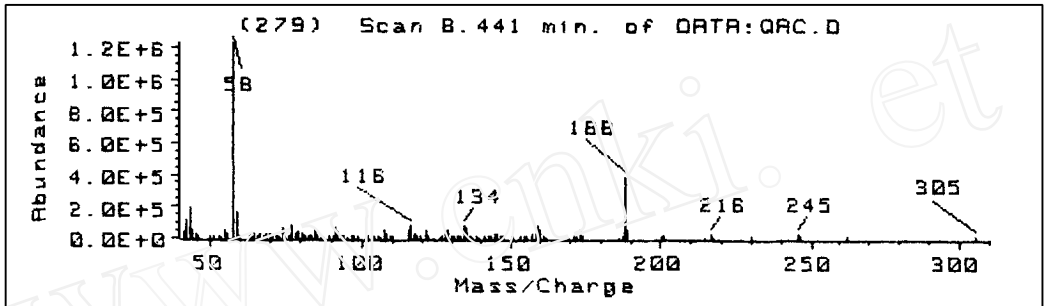


图7 衍生生物E的总离子流图

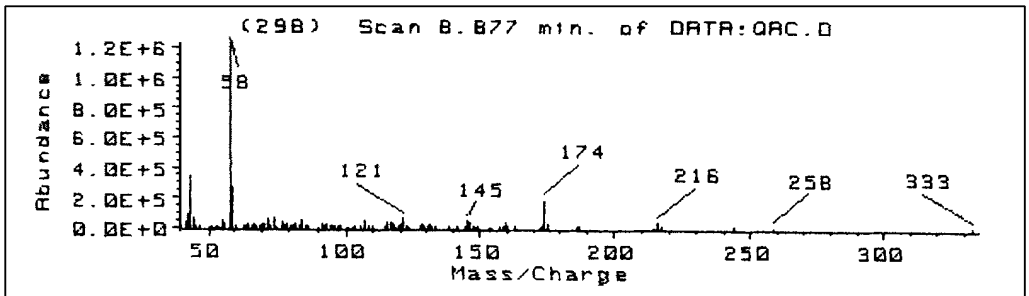


图8 衍生生物F的总离子流图

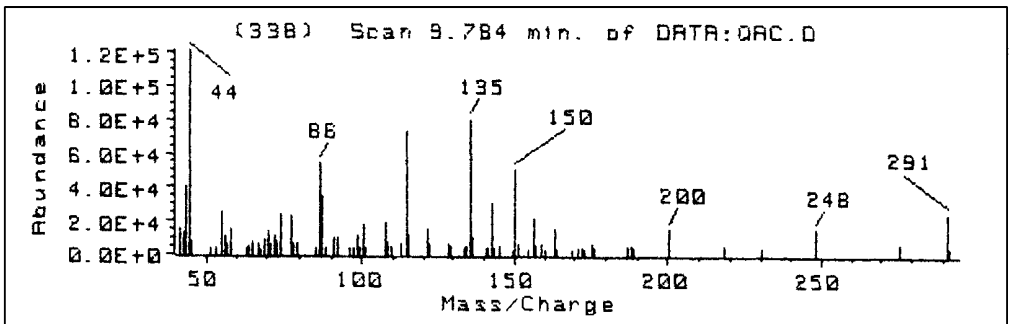


图9 衍生生物G的总离子流图

曲马多及其代谢物和主要衍生物结构式如图 10。

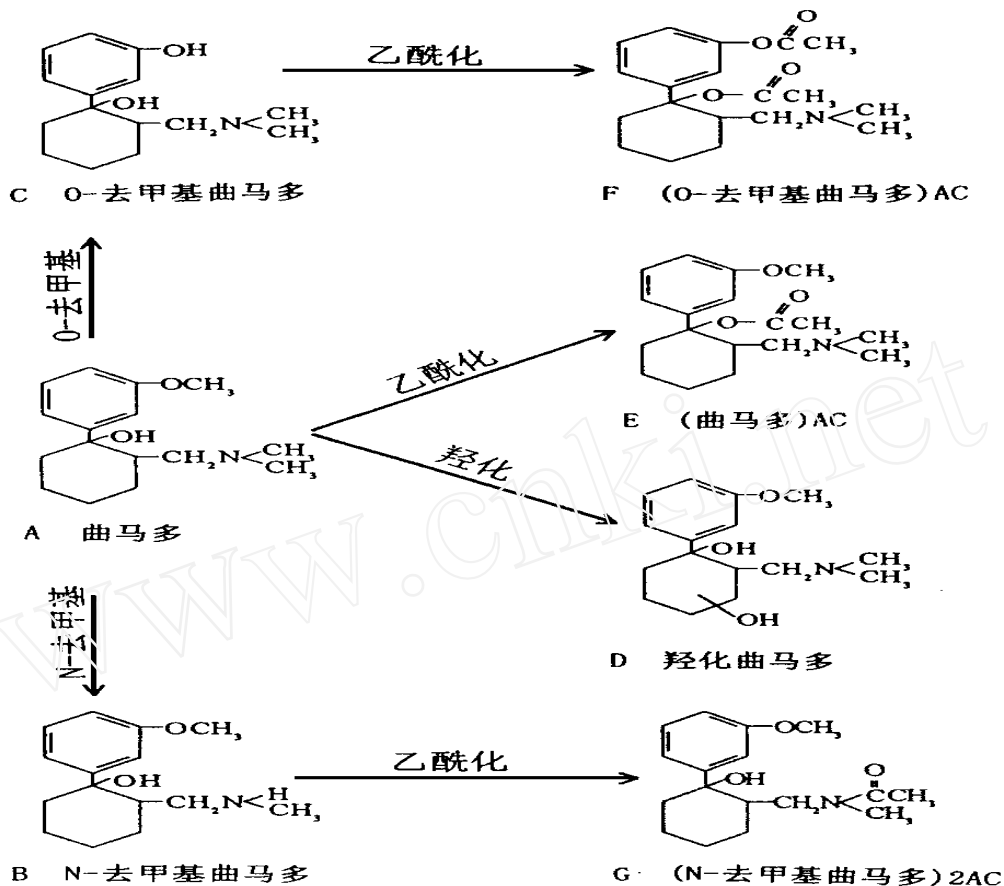


图 10 曲马多及其代谢物和主要衍生物结构式

2.3 水解方法

尿样经水解后, 杂质峰增多, 而曲马多及其代谢物量并无增大, 表明曲马多及代谢物主要以游离形式存在于尿中, 这与文献[3, 5]报导是一致的。图 11 为水解后的总离子流图。

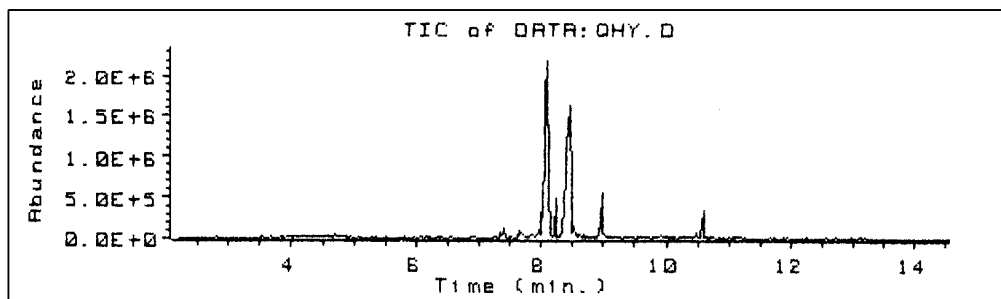


图 11 尿样水解后的总离子流图

从以上结果可以看出, 检测曲马多及其代谢物只需对人尿用氯仿提取直接进样进行 GC/MS 分析, 无需衍生化和水解, 既快速又灵敏、准确。

参 考 文 献

- 1 Hernandez A F et al Fatal moclobemide overdose or death caused by serotonin syndrome? J Forensic Sci, 1995, 40: 128-130
- 2 Klaas J Lusthof and Peter G M Zweipfenning Suicide by tramadol overdose, J Anal Toxicol, 1998, 22: 260
- 3 Goeringer K E et al Identification of tramadol and its metabolites in blood from drug-related deaths and drug-impaired drivers, J Anal Toxicol, 1997, 21: 529- 537
- 4 Barry Levine et al Tramadol distribution in four postmortem cases, Forensic Science International, 1997, 86: 43-48
- 5 Lintz W et al Biotransformation of tramadol in man and animal, Drug-Research, 31: 1932-1943

Studies on the Analysis of Tramadol Urinary Metabolites in Man Using GC/MS

Xiang Ping, Shen Min, Huang Zhongjie

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

Received 1998-08-22

Abstract

An analytical method using GC/MS (EI, PCID) for the determination of tramadol and its metabolites in urine is reported. The results indicate the metabolism of tramadol to N-desmethyltramadol, O-desmethyltramadol and hydroxyltramadol is a major pathway in the metabolism of the drug. We also discussed the differences between the simple extract, derivatization and hydrolysis of urine before analysis. The simple extraction with trichloromethane is a rapid and sensitive method for evaluating human exposure to tramadol.

Key Words: tramadol, GC/MS, metabolites