尸体脏器中混合碱性药物及其主要代谢物的毛细柱GC/MS检验*

李玉兰 李双庆 何 毅 高利生
(公安部第二研究所毒化室 北京 100038)

[摘要] 本文详细介绍了尸体脏器中吩噻嗪类、苯骈二氮杂䓬类等混合碱性药物的毛细柱GC/MS检验方法,并对药物代谢物及其提取方法进行了讨论。

关键词:混合碱性药物 主要代谢物 尸体脏器 毛细柱GC/MS

1 引言

近十年来,各种现代分析技术在法医毒物分析中的应用,已占有极为重要的位置。尤其质谱分析技术的应用,对法医毒物分析的发展所起的促进作用是任何其它现代分析技术无法比拟的,也是无法取代的。目前,法医毒物分析已成为有机质谱应用研究的重要领域。随着电离技术的重大突破和联机的应用,使各种质谱检测技术,诸如正负化学电离质谱技术、快原子轰击质谱技术、离子阱检测技术、GC/MS、MS/MS和LC/MS等也在法医毒物分析中获得了某些成功的应用。最成功的应用仍然是GC/MS分析法。比如,1974年,Finkle等[1]曾详细介绍了毒物分析的GC/MS方法。1978年,Gudzinowicz等[2]编著的"GC/MS分析药物及其代谢物"一书,详细论述了中枢神经系统兴奋剂、止痛剂、麻醉剂、安眠镇静剂等各种法医毒物的质谱分析方法。1987年Yinon博士[3]编著的"法庭质谱"一书,又进一步介绍了各种质谱技术在法庭物证检验中的应用。HO在"法医化学中的分析方法"专著中,又以相当篇幅介绍了各种质谱技术在法庭科学中的应用[4]。至于在各种刊物上发表的有关论文更是不胜枚举。近十年,质谱技术在我国法医毒物分析中的应用,也有一些好的分析方法问世[5~14]。但是,有关多种混合碱性药物的中毒检验,至今尚未见报导。

本文通过狗中毒检验详细介绍了尸体脏器中吩噻嗪类、苯骈二氮杂䓬类混合碱性药物及其主要代谢物的GC/MS分析方法。结合实际应用,对提取净化方法进行了讨论。

2 实验

2.1 试剂和仪器

1994年7月20日收
* 第6届全国F四极质谱学术会议论文

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

标准药物：度冷丁、利多卡因、扑尔敏、安眠酮、丙咪嗪、安定、异丙嗪、氯丙嗪、三氟拉嗪等药物，其质量标准均符合中国药典规定的盐酸盐原料药。内标物 SKF_{525A} 为美国史克公司生产。各药物按碱基计算，配制成 1.0mg/mL 乙醇溶液，置于冰箱中保存。使用时再分别配制成浓度为 0.25mg/mL 的单一乙醇标准液和混合液，置于 4℃保存。其余试剂为 A.R. 级。

全部实验在 Finnigan MAT1020B GC/MS 仪上进行。EI 源(70eV)，质谱扫描范围 45～450amu/s。

SE－54 熔融毛细柱(30m×0.25mm)作层析柱。柱温程序：初温 160℃，保持 1 分钟，以 15℃/分速率升温到 280℃，再保持 20 分钟。柱前压 10Psi，进样 1μL，分流比 50:1。

2.2 健康受试狗两支，编为 1 号和 2 号，受试情况见表 1。其中 1 号狗体重 14kg，服用一组配方，12 小时后处死。2 号狗，体重 15kg，服用二组配方，6 小时后处死。分别取其脏器供中毒检验。

表 1 动物试验受试情况

药物	安定(g)	度冷丁(g)	氯丙嗪(g)	利多卡因(g)
一组	1.0	0.15	0.3	1.0
二组	1.5	0.2	1.5	1.1

2.3 制样

2.3.1 内部质量控制法

称取生物组织 2g，均浆(或体液 2mL)，添加内标物适量，使其浓度达 10μg(体液中达 2μg)SKF_{525A}，涡旋混合 20 秒，以饱和 Na_2CO_3 溶液碱化至 pH11，用精洗乙醚 7mL 提取两次，每次 5 分钟。离心，乙醚相置于 15mL 具塞试管中，用 1mL 蒸馏水洗涤乙醚相后，弃除水相。乙醚相于 60℃水浴中挥干，残留物以 1%盐酸 8mL 多次溶提后，过滤到 10mL 试管中，加固体 Na_2CO_3(约 0.3g)调 pH 到 12，然后用氯仿 1mL 提取一次，离心分出下层氯仿液于 5mL 尖底试管中挥干，由醇定容后供检。

按上述提取净化过程，当血(2mL)、肝(2g)中添加各混合药物和内标物分别为 2μg 和 10μg 时，血中回收率均大于 60%。，肝中除三氟拉嗪为 50%，其余各药物回收率均大于 60%。在实际检验中，当内标物 SKF_{525A} 的回收率大于 60%时，即使未检出毒物，可判断阴性结果正确。

2.3.2 溶剂提取—TLC 净化法

取生物组织 5g(或体液 5mL)，剪碎，调 pH9，用 50mL 乙醚提取三次，每次 15 分钟；有机相用无水硫酸钠脱水，挥干溶剂，残留物溶于 0.2mL 甲醇，供 GC/MS 分析。当样品杂质含量较高，或药物含量极微，可用 TLC 再纯化和浓集；其方 法是在硅胶 GF 薄层板上，将样品用展开剂展开。再在 UV－254 灯下将显现的各斑点分别用甲醇浸溶后，供 GC/MS 或固体直接进样－MS 分析。本提取净化方法适用于腐败检材和尿样分析。

3 结果和讨论

3.1 图 1 是 9 种碱性药物和内标物 SKF_{525A} 的总离子流色谱图。各组份峰的特性数据已示于表 2。由图 1 不难看出，在选择的 GC/MS 分析条件下，各组份均获得良好分离，而且峰位间均留有足够空间，这有利于生物样品中药物及其代谢物的检出。

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

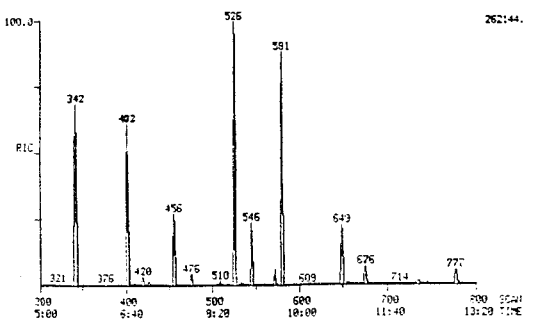

图 1　9 种碱性药物和内标物 SKF_{525A} 的总离子流色谱图

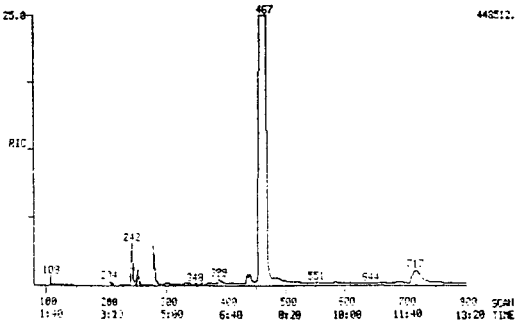

图 2　2 号狗胆汁提取物的总离子流色谱图

表 2　9 种碱性药物和内标物的 GC/MS 特性数据

No	药物名称	扫描号	分子式	B.P.	M.t.	f.p.
1	度冷丁	342	$C_{15}H_{21}NO_2$	172	247	71,103,218
2	利多卡因	402	$C_{14}H_{22}N_2O$	86	234	58,77,120
3	扑尔敏	456	$C_{16}H_{19}ClN_2$	203	274.8	58,77,167
4	安眠酮	527	$C_{16}H_{14}N_2O$	235	250	91,132,180
5	丙咪嗪	546	$C_{19}H_{24}N_2$	234	280	193,208,58
6	异丙嗪	572	$C_{17}H_{20}N_2$	72	284	180,198,213
7	SKF_{525A}	581	$C_{23}H_{31}NO_2$	86	353.5	99
8	安定	649	$C_{16}H_{13}N_2O$	256	284	283,221,77
9	氯丙嗪	676	$C_{17}H_{19}ClN_2$	58	318	86,196,232
10	三氟拉嗪	777	$C_{21}H_{24}F_3N_3$	113	407	70,141,248,266

3.2　图 2 是 2 号狗混合碱性药物中毒胆汁提取物 GC/MS 分析的总离子流色谱图。图中各峰和中毒狗其它脏器提取物检验结果已示于表 3。由表 3 可以看出，狗中毒检验其阳性检出率与脏器有关。前者主要取决于各药物在中毒狗脏器中的分布。由表 3 结果还可看出，在一些脏器中，不仅可检出药物原体，而且可以检出药物代谢物。如从胆汁中可以检出安定及其代谢物：去甲氧安定、二苯甲酮类；也可检出利多卡因及代谢物：去乙基利多卡因；还可检出氯丙嗪及其代谢物：氯丙嗪亚砜。上述检验结果还进一步证明，建立的内标质量控制提取净化和 GC/MS 检验方法，对混合碱性药物中毒检验是行之有效的方法。

3.3　笔者曾在文献[10]中报导了安定在体内易代谢为 N－去甲羟安定（舒宁），其终极产物是二苯甲酮类。本研究表明，安定在生物体内还可以代谢为去氧安定。这些代谢物的生成和检验，对确定安定药物中毒，无疑提供了重要依据。

3.4　氯丙嗪是吩噻嗪类药物，它在体内分布是尿中含量最高，其它脏器比血中浓度高。这就是表 3 血样中未检出氯丙嗪的原因所在。氯丙嗪 不稳定，在光的作用下易被氧化，生在亚砜和砜。该二代谢产物在 GC 条件下易脱氧。故在产额小时，一般不易检出。由此可以

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

推断，氯丙嗪亚砜在胆中有最高产额，据此，也可做为氯丙嗪中毒检验的重要科学依据。

表3 2号狗混合碱性药物中毒的GC/MS分析

脏 器	血	胆	肾	肝	眼	骨头	脊髓	脾	肺
度冷丁	203	204	209		189	209			
利多卡因	242	242	245	244	223	246	245		245
去乙基利多卡因	224	229							
安定	432	436	444	439	430	444	441		
二苯甲酮		279	289		202				
去甲氧安定	472	483			480	493	490		
氯丙嗪		689	466	461	452	465	466		465
氯丙嗪亚砜		717							
丙咪嗪		348							
扑尔敏*	278	279	285	281	263	281	222		282

* 内标物后改用 SKF_{525A}

3.5 应用建立的提取净化方法不仅可检出已研究的各药物及其某些代谢物，而且还可进行其它碱性药物的中毒检验，如丁卡因、普鲁卡因等，并已成功用于各类碱性药物的中毒检验。

参 考 文 献

1 Finkle B S, Folz R L. J. Chromatogr. Sci, 1974, 12: 304

2 Gudzinowicz B J *et al*. Analysis of Drugs and Metabolites by Gas Chromatography—Mass Spectrometry, Vol1—7. Marcel Dekker, Inc. New York, U. S. A. 1978

3 Yinon J. Forensic Mass Spectrometry, CRC Press, Inc, U. S. A. 1987

4 HO M H. Analytical Methods in Forensic Chemistry, Ellis Horwood Itd, UK. 1990

5 李玉兰，高利生等．尸体脏器中几种镇静药物气相色谱/质谱测定的研究。中国法医学杂志，1987，2：7

6 李玉兰等．毛细柱气相色谱/质谱定性检验生物试样中八种安眠镇静药的研究。质谱学报，1988，9（增刊）：35

7 李玉兰等．安眠酮及其2′—羟甲基安眠酮的毛细柱GC/MS测定．中国法医学杂志，1988，3(4)：217

8 候一斌．头发中异烟肼代谢产物的气相色谱/质谱法分析．中国法医学杂志，1990，5(2)：69

9 李玉兰等．Proceedigs of the 4th BCEIA, B Mass Spectrometry, 19991, B55

10 李玉兰，何毅等．尸体脏器中安定、利眠宁及其代谢降解产物的毛细柱GC/MS鉴定．中国法医学杂志，1992，7(4)：199

11 李玉兰，何毅等．尸体脏器中敌百虫及其主要代谢物DDVP和水合氯醛的毛细柱GC/MS鉴定．分析测试通报，1992，11(4)：14

12 李玉兰．Proceedings of 36th ASMS Conference on MS and Allied Topics, June 5—10, 1988, San

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Francisco, CA,1370
13 李玉兰. 有机磷农药中毒的 GC/MS 检验. 全国第二届毒物分析学术交流会论文集,1993,21
14 李玉兰等. 甲胺磷农药中毒的 GC/MS 分析. 全国第二届毒物分析学术交流会论文集,1993,184

Identification of Mixture Basic Drugs and Their Metabolites in the Postmortem Tissues by Capillary Column GC/MS

Li Yulan, Li Shuanqing, He Yi, Gao Lisheng
(Institute of Forensic Science, Beijing 100038, China)
Received 1994－7－20

Abstract

Analytical method has been described for mixture basic drugs, phenothiazines, benzodiazepines etc. in the postmortem tissues by using GC/MS. Metabolism and cleaning method have also been discussed.

Key Words: basic drugs, major metabolites, postmortem, capillary column GC/MS

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net