维普资讯 http://www.cqvip.com

第21卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol.21 No.4
1996 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1996

高效液相色谱法测定尿中海洛因代谢产物

化学教研室 赵 华 李惠芝 邱宗荫
法医学教研室 刘云志 邓世雄

提 要 本文介绍了从吸食海洛因的吸毒者尿中提取海洛因主要代谢产物吗啡的液相提取法。并建立了用反相高效液相色谱法分离、检测尿中吗啡的定量分析方法。其检测波长为210nm，最低检测限为0.3ng/10μl，线性范围为30ng－1μg。

关键词 海洛因;吗啡;尿;高效液相色谱法
中图分类号 R446.12

近几年来，我国吸毒现象日趋严重，主要吸食毒品为海洛因。海洛因(Heroin)为二乙酰吗啡，属异喹啉衍生物，在体内代谢迅速，很快去乙酰化为单乙酰吗啡，部分单乙酰吗啡继续代谢为吗啡从尿中排出[1]。吗啡在体内以葡萄糖醛酸酯形式存在。因此吸食海洛因后，从尿中排出的有单乙酰吗啡、吗啡及其葡萄糖醛酸酯。在酸性条件下吗啡的葡萄糖醛酸酯可水解，游离出吗啡。所以在处理尿样时常采用酸水解法，这时单乙酰吗啡也水解为吗啡。尿液经酸水解后其吗啡含量的测定可作为是否吸毒和吸毒量的判断。有关体内毒品检测的方法，国内报道较少。现在尿液中吗啡的检测仍多采用显色反应和薄层色谱法，其专一性不强、灵敏度较低，且定量困难。近两年有用气相色谱柱前衍生化测定吗啡的定量分析方法的报导[2]。根据法医毒化检验工作的需要和我校的实验条件，本文建立了反相高效液相色谱法直接测定尿液中吗啡的定量方法。此方法简便，准确度和灵敏度高，用于吸毒者尿样的测定，取得了满意的结果。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

盐酸吗啡、单乙酰吗啡购于公安部第二研究所；甲醇、正丁醇，氯仿、异丙醇、盐酸、磷酸二氢钠、四硼酸钠、氢氧化钠均为分析纯试剂；水为超纯水。

将盐酸吗啡溶于甲醇配成600μg/ml的贮备液备用。置冰箱中至少可保存一个月。用时以甲醇稀释至所需浓度。

1.2 仪器与色谱条件

仪器：岛津LC－6A液相色谱仪，配用SPD－6AUV－VIS检测器、C－R3A数据处理系统，Waters NOVA－Pak C_{18}柱(3μm,3.9×150mm)和Shim－Pack G－ODS(4×10mm)保护柱。Model SA720pH计(美国Orion公司)，Elgastat UHQ超纯水器(英国Elga公司)。

色谱条件：流动相为甲醇－0.05mol·L^{-1}磷酸缓冲液(pH6.8或pH7.4)35:65(V/V)，用前经过滤、脱气。流速:1ml·min^{-1}。检测波长:210nm，柱温:室温。

维普资讯 http://www.cqvip.com

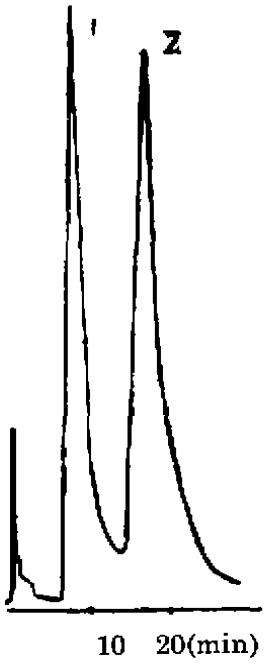


图1 盐酸吗啡和单乙酰吗啡同时测定的色谱图
流动相:甲醇－磷酸盐缓冲液(pH＝6.8)35:65(V/V)
峰1 吗啡
峰2 单乙酰吗啡

1.3 样品处理方法

取2ml尿样置于离心管中，加入0.2ml浓HCl，置沸水浴中，水解0.5小时。冷却后水解液用1ml×2正丁醇洗涤两次，以除去有色杂质，弃去有机相，水相用NaOH调节pH至9，加入0.5ml0.2mol·L^{-1}硼酸缓冲液(pH＝9.2)，用氯仿:异丙醇(9:1)混合溶剂2×2ml提取。提取液用N_2吹干，然后用100μl流动相溶解、混匀，进样10μl。

2 结果与讨论

2.1 流动相缓冲液pH的影响

在采用甲醇－磷酸盐缓冲液作流动相分离分析盐酸吗啡时，缓冲溶液的pH值对吗啡的保留时间有较大影响，保留时间随流动相缓冲液pH值的增加显著延长。当流动相缓冲液pH＝6.8时，吗啡出峰快(t_R＝8min)，并能与单乙酰吗啡达到基线分离，适合于体外药物的分析。而分析尿液时，由于尿样中干扰成分的影响，不宜在此条件下分离。为此选择pH为7.4的缓冲液作流动相，这时吗啡的t_R＝11min，获得了满意的分析结果。如图所示。



图2 空白尿样的色谱图
流动相:甲醇－磷酸盐缓冲液(pH＝7.4)35:65(V/V)

2.2 样品的处理

在2ml空白尿液中加入10μg单乙酰吗啡标准液，经酸水解0.5小时后，洗涤、提取、进样。所得色谱图中只有吗啡的色谱峰而无单乙酰吗啡的色谱峰，说明单乙酰吗啡已完全水解为吗啡。若为吸食海洛因者的阳性尿样，则此条件下测出的吗啡含量即尿液中吗啡的总量。

维普资讯 http://www.cqvip.com



图3 空白尿样(2ml)中加入标准盐酸吗啡(3μg)后的色谱图
条件同图2
峰1 吗啡(t_R=11min)

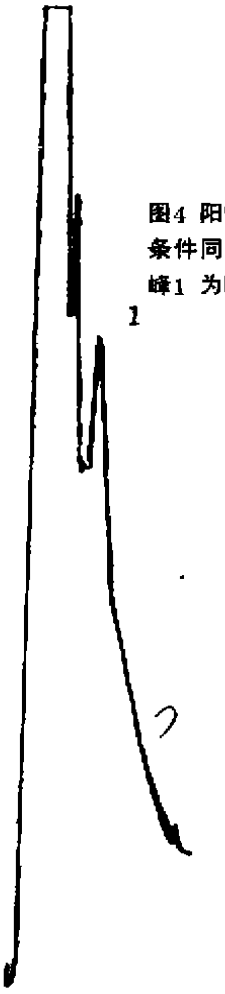


图4 阳性尿样的色谱图
条件同图2
峰1 为吗啡

在尿样水解、有机溶剂提取和挥干过程中，提取液挥干的程度影响色谱图中吗啡前面杂质峰的强度。氯仿－异丙醇提取液必须用N_2完全吹干。提取过程平行操作的重现性是影响测定精密度的重要因素。

2.3 工作曲线与方法的灵敏度和回收率

固定进样量为10μl时，盐酸吗啡的质量在30ng－1μg范围峰面积与盐酸吗啡的质量成正比，回归方程为：m(ng)＝－0.19＋A/1066，相关系数γ=0.998，检测下限为0.30 ng/10μl(讯噪比S/n=3)。在2ml空白尿样中加入标准盐酸吗啡3μg，提取回收率为65%(n=5)

2.4 应用

我们用此方法对数例吸毒后两天内采集的尿样进行了分析。其中五例测定结果分别为3.8μg·ml^{-1}、0.6μg.ml^{-1}、1.5μg·ml^{-1}、15μg.ml^{-1}和12μg.ml^{-1}。用高效液相色谱法分析尿液中海洛因的代谢物吗啡，与过用采用的显色反应和薄层色谱法比较，专一性强，灵敏度、准确度有了显著提高。由于高效液相色谱法具有简便、适用范围广的特点，使其在现代药物分析中应用十分广泛。本文建立的分析方法，能满足毒化检验的需要，

维普资讯 http://www.cqvip.com

有较高的应用价值。

致谢 重庆市公安局强制戒毒所唐世炎同志对本课题给予了大力支持，在此表示感谢。

参 考 文 献

1.Curry A.S. Toxicolgy Part 2,MACMILLAN,1986

2.沈敏、向平、沈保华.法医学杂志 1994.10(1)27

(收稿日期 1996－06－18)

DETERMINATION OF THE METABOLITE OF HEROIN IN URINE BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Zhao Hua,et al

Dept.of Chemistry

A method for determination of the metabolite of heroin－morphine in urine was developed.Urine samples were extracted by liquid extraction,The extract was analyzed by HPLC and UV detction at wavelength of 210 nm.The dection limit of the method for morphine was 0.3*ng*/10*μl*.Standard curve was linear from 30*ng* to 1*v*/*μg*.

KEY WORDS Heroin;Morphine;Urine;HPLC

(上接第332页)

COMPUTER HUMAN SEGMENTAL ANATOMY IMAGE LIBRARY

Meng Minguo,et al

Dept. of Computer

This system,multimedia CAI about human segmental anatomy image,was mainly applied in the field of medical education. Ang human segmental anatomy image Could be displayed and printed clearly and any organ could be labeled with text and explained with speech. It was a part of digital image library for human morphology.

KEY WORDS Human Segmental Anatomy;Computer Aided Instruction;Multimedia