

# 乌头碱的 LC-MS 定量分析

王俊伟, 郭亚飞, 陈丽涛, 王绘军

(重庆刑事科学技术研究所, 重庆 400042)

乌头生物碱各成分毒性差异很大, 其中乌头碱的毒性为其它成分的 100~2 000 倍, 是引起中毒和死亡的主要原因。乌头生物碱种类多, 在煎煮或泡制过程中易水解产生不同水解产物, 进入体内后代谢情况又不明, 因此采用液相色谱方法对体内检材乌头碱成分仅靠保留时间确定依据不足, 定量工作更是无法开展。但在现实生活中炮制后的乌头植物可入药, 且炮制过的乌头植物也可检出少量原碱。遇到体内检材中检验出乌头生物碱成分时, 办案单位往往希望有一个量的甄别。经查阅资料, 未见体内检材(如血、肝、尿等)中乌头碱含量的报道。我们应用 LC-MS, 采用 646.4 单离子扫描方式对实际案例血中乌头碱含量进行了测定, 为今后的进一步研究和同行提供数据积累。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

美国 PE SCIEX API 150MCA 液相色谱-单级四极杆质谱联用仪, IonSpray 接口, 液相部分为 PE series 200 LC pump。

### 1.2 样品及前处理

标准溶液的配制: 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  乌头碱甲醇标准液。空白人血样品: 自愿者空白血 1mL 于试管中, 加水 1 mL, 甲醇 0.1 mL, 混匀。血添加样品: 自愿者空白血 2 份各 1 mL 于试管中, 分别加水 1 mL, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  乌头碱标液 0.1 mL。检材: 2001 年 10 月, 王××服中药后约 2 h 死亡。经 LC-MS 检验死者心血、胃组织、肝脏、肾、尿液中均检出乌头碱成分, 选取检材血 2 mL 于试管中。分别取上述 4 份样品, 各加氯仿 5 mL, 涡旋, 超声, 离心, 取有机液于蒸发皿中 50  $^{\circ}\text{C}$  水浴挥干, 加少许甲醇洗涤于 1 mL 刻度试管中, 定容。

### 1.3 分析条件

质谱部分 IS = 5 000 V, 其余略。扫描方式:  $m/z$  646.4 单离子扫描。

液相色谱柱: Supelcosil ABZ + Plus 5  $\mu\text{m}$ , 15 cm  $\times$  4.6 mm ID 分析柱, 加预柱。流动相: 甲醇-0.1% 甲酸水溶液, 体积比 60:40, 流速: 0.6 mL/min。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线的绘制及定量结果

经 LC-MS 检测, 测得乌头碱各标样的峰面积。以质量浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标, 乌头碱的相对峰强度为纵坐标, 根据软件选用峰面积定量方法, 在 0~2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度范围内呈线性关系。方程为:  $Y = 1.04e5 X + 5.86e3$  ( $r = 0.998$ ), 定量结果见表 1。

表 1 样品检测结果

Filename	Filetype	Concentration	Calculated Concentration	Area	t/min
Ac Blank	Standard	0	-0.02	4 080	2.10
Ac 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	0.1	0.07	13 544	2.06
Ac 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	0.2	0.18	24 718	2.06
Ac 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	0.5	0.6	67 805	2.05
Ac 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	1.0	1.0	109 609	2.06
Ac 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	1.5	1.45	157 221	2.07
Ac 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Standard	2.0	2.01	215 433	2.06
2001566/Blood	Sample	n/a	0.93	102 804	2.11
Ac 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + Blood	Sample	n/a	0.72	80 653	2.06
Ac 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + Blood - 1	Sample	n/a	0.68	76 440	2.05

(下转第 61 页)

- [4] CRESPI M A, BALLESTEROS E, CALLEGO M, *et al.* Trace enrichment of phenols by on-line solid-phase extraction and gas chromatographic determination. *J Chromatogr, A*, 1997, 757: 165 - 172.
- [5] 沈敏, 向平. 毒鼠强中毒的固相微萃取和 GC-NPD 快速测定. *中国药理学杂志*, 2000, 35: 341.
- [6] BUCHHOLZ K D, PAWLLSZYN J. Optimization of solid-phase microextraction conditions for determination of phenols. *Anal Chem*, 1994, 66: 160 - 167.
- [7] BALINOVA A. Strategies for chromatographic analysis of pesticide residues in water. *J Chromatogr, A*, 1996, 754: 125 - 135.
- [8] BELTRAN J, LOPEZ F J, CEPRIA O, *et al.* Solid-phase microextraction for quantitative analysis of organophosphorus pesticides in environmental water samples. *J Chromatogr, A*, 1998, 808: 257 - 263.
- [9] 帅琴, 杨薇, 郑岳君, 等. 固相微萃取与气相色谱-质谱联用测定有机磷杀虫剂的残留量. *色谱*, 2003, 21: 273 - 276.
- [10] 潘海祥, 麦碧娴, 庄汉平, 等. 使用 C<sub>18</sub> 固相萃取膜-色质联用定量分析饮用水中痕量多环芳烃的初步研究. *分析化学*, 1999, 27(2): 140 - 144.
- [11] 伍庆, 张明时, 兰昭荣. 气相色谱法同时快速检测氟乙酰胺和毒鼠强. *色谱*, 2002, 20: 381.

## A Method for Rapid Determination of Tetramine Residues in Serum and Urine of Patient by GC - MS

SU Xiao-chuan, QIN Zhi-ying, FENG Xiang-yang

(Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Nanning 530021, China)

**Abstract:** This paper describes a method for rapid determination of tetramine residues in serum and urine by high performance ultrasonic extraction with GC - MS. The result showed that the recovery rate of tetramine in blood serum were 90.8% to 99.5%, RSD was 3.82%. The recovery rate of tetramine in urine were 91.2% to 102.8%, RSD was 4.91%. The limit of detection (LOD) was 0.001 mg/L. The proposed method has been applied to the daily analyzing tetramine residues in serum and urine of patient and that with satisfactory results.

**Key words:** Serum; Urine; Tetramine; GC - MS

(上接第 57 页)

### 2.2 讨论

根据表 1 中数据计算, 检材血乌头碱质量浓度为 0.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。空白血无干扰, 空白血添加平均回收率为 70%。

利用 LC-MS 仪采用单离子扫描方式进行定量, 不仅保证了数据不受杂质或其它乌头生物碱的干扰, 克服了液相色谱定量的缺点, 还可提高检测灵敏度。

参考文献:

- [1] 孙维星, 刘志强, 宋凤瑞, 等. 附子中生物碱的激光质谱分析. 第九届全国有机质谱学学术会议论文集, 1997. 35 - 36.
- [2] 郭晓庄主编. 有毒中草药大辞典. 天津科技翻译出版公司, 1995. 61 - 62.
- [3] 季宇斌主编. 中药有效成分药理与应用. 黑龙江科学出版社, 1995. 1 - 3, 90, 448.

## Quantitative Analysis of Aconitine by LC - MS

WANG Jun-wei, GUO Ya-fei, CHEN Li-tao, WANG Hui-jun

(Chongqing Criminal Science and Technology Institute, Chongqing 400042, China)

**Abstracts:** Aconitum alkaloids consist of a group of compounds. The toxicity of the compounds make a great difference. Aconitine is more deadly poisonous than the others. The quantity of aconitine is crucial for judging case. This article established an analysis method for aconitine in the human body with LC - MS instrument. The quantitative analysis method was applied in several cases and proved to be highly effective and precise.

**Key words:** Aconitine; Human blood; Quantitative; LC - MS