

# 尿中甲基安非它明的酰基衍生化 氮磷检测气相色谱分析法

赵 冰 谭家镒\* 姜兆林 姚丽娟

(中国刑警学院法医系, 沈阳 110035)

**摘 要** 建立了尿中甲基安非它明的二氯乙酰、五氟苯甲酰和 3,5-二硝基苯甲酰衍生化 氮磷检测气相色谱分析方法,并与已有文献报道的乙酰、三氟乙酰、五氟丙酰、七氟丁酰等衍生化及非衍生化分析方法的灵敏度进行了比较,其中五氟苯甲酰衍生化和 3,5-二硝基苯甲酰衍生化方法是比较灵敏的分析方法,尿中 MA 的检测限分别为 3.0 μg/L 和 4.6 μg/L。

**关键词** 甲基安非它明, 气相色谱法, 衍生化, 尿

## 1 引 言

甲基安非它明 (methamphetamine, MA) 属于安非它明类药物,其盐酸盐俗称冰毒,是一种危害严重的毒品。为查缉吸毒者,建立其血、尿中灵敏的分析方法是必要的。已报道的血、尿中安非它明类药物的分析方法以衍生化气相色谱法和气质联用法较多,所用衍生化方法有乙酰 (AC)、三氟乙酰 (TFA)、五氟丙酰 (PFP)、七氟丁酰 (HFB) 等衍生化<sup>[1~5]</sup>。本实验建立了以美西律 (mexiletine) 为内标 (IS) 的尿中 MA 的二氯乙酰 (DCA)、五氟苯甲酰 (PFB) 和 3,5-二硝基苯甲酰 (DNB) 衍生化的氮磷检测 气相色谱分析方法,并与已有报道的衍生化及非衍生化的氮磷检测 气相色谱分析尿中 MA 的方法进行了比较,发现 PFB 和 DNB 衍生化方法是其中灵敏度较高的分析方法。口服 MA 自愿者尿的分析结果表明,本实验所建立的方法在检出尿中 MA 的同时也能检出其代谢物安非它明 (amphetamine, AM)。



图 1 甲基安非它明、安非它明和美西律的化学结构式

Fig 1 Chemical structures of AM, MA and mexiletine

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

HP-6890 型气相色谱仪 (Agilent 公司); HP-5 石英毛细管色谱柱, 30 m × 0.32 mm (i.d.) × 0.25 μm (Agilent 公司)。起始柱温 120 (1 min)  $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$  280 (10 min)。进样口温度 260, 无分流进样, 进样量 1.0 μL; 氮磷检测器温度 300; 载气为高纯氮, 恒流 2.0 mL/min; 尾气为高纯氮, 流量 60 mL/min; 燃气为氢气和空气, 流量分别为 3.0 和 60 mL/min。

MA (盐酸盐, 国家麻醉品实验室), AM (硫酸盐, 国家麻醉品实验室), 美西律 (盐酸盐, 中国药品生物制品检定所), 乙酰氯 (98%, Aldrich 公司), 五氟苯甲酰氯 (98%, ACROS ORGANICS 公司), 二氯乙酰氯 (97%, ACROS ORGANICS 公司), 3,5-二硝基苯甲酰氯 (98%, Aldrich 公司), 三氟乙酸酐 (99%, ACROS ORGANICS 公司), 五氟丙酸酐 (98%, ACROS ORGANICS 公司), 七氟丁酸酐 (98%, ACROS ORGANICS 公司), 甲醇、乙腈、环己烷、氢氧化钠、氯化钠及无水硫酸钠等试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

### 2.2 标准溶液的配制

MA、AM 和美西律标准品纯度按 100% 计, 用甲醇为溶剂, 以游离碱计算浓度, 分别配制 MA、AM 和美西律的 100 mg/L 标准工作液和 MA 的 10 mg/L 标准工作液。

2004-04-29 收稿; 2005-02-12 接受

本文系公安部科技计划项目资助课题 (Na 0493231010)

## 2.3 提取分离及衍生化

取检尿 1 mL,加美西律 1000 ng(100 mg/L 标准工作液 10 $\mu$ L),用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 13,加 NaCl 饱和,加环己烷 0.2 mL,涡旋 2 min,3000 r/min 离心 5 min,用吸管吸出上层有机相,放于 5 mL 磨口离心试管中,根据所用衍生化方法,加乙酰氯 10 $\mu$ L 或二氯乙酰氯、3,5-二硝基苯甲酰氯(配制成为 0.5 g/mL 乙腈溶液)、五氟苯甲酰氯、三氟乙酸酐、五氟丙酸酐、七氟丁酸酐 10  $\mu$ L,密封,放于室温反应 5 min,然后加 0.1 mol/mL NaOH 溶液 0.5 mL,涡旋 1 min,离心,用吸管吸出上层有机相,放于小试管中,加无水硫酸钠脱水后供进样。

## 3 结果与讨论

### 3.1 色谱条件

从图 2 可见,在本实验色谱条件下,MA 与其代谢物 AM 及内标物美西律的 DCA、PFB 和 DNB 衍生物的色谱峰均能很好地分离,尿中杂质色谱峰不干扰分析。MA、AM 和内标物的非衍生化原体物及实验进行的其他衍生化产物的色谱峰也能很好分离,不受杂质色谱峰的干扰。

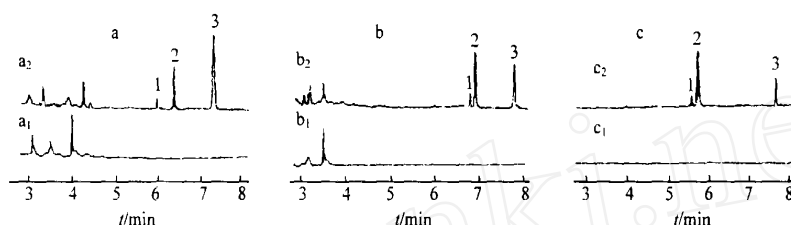


图 2 尿分析色谱图

Fig 2 Chromatograms of urine analysis

a, b, c 分别表示 DCA、PFB、DNB 衍生化 (represent dichloroacetyl (DCA), pentafluorobenzoyl (PFB) and 3,5-dinitrobenzoyl (DNB) derivatization respectively);  $a_1, b_1, c_1$  空白尿的分析 (obtained from blank urine);  $a_2, b_2, c_2$  口服 20 mg MA 的人服药后 22~24 h 后排泄尿的分析,该尿含 273  $\mu$ g/L 的 MA 及少量代谢物 AM,分析前加入 IS 1000  $\mu$ g/L (obtained from the urine of a man excreted 22~24 h post an oral dose of 20mg MA, the urine contained 273  $\mu$ g/L of MA and a little of AM, major metabolite of MA, and were added 1000  $\mu$ g/L of IS before analysis)。色谱峰 (chromatographic peaks): 1. AM; 2. MA; 3. IS。

### 3.2 检出限、工作曲线及回收率

取空白尿进行提取、衍生化和进样分析,测定 MA 的  $t_R$  处噪音强度 ( $N$ ),取空白尿添加 10  $\mu$ g/L 的 MA (1 mL 尿添加 10 mg/L 标准工作液 1  $\mu$ L),进行提取、衍生化和进样分析,测定 MA 的色谱峰高 ( $S$ ),计算信噪比 ( $S/N$ ),根据 MA 的色谱峰高与其浓度成正比计算信噪比等于 3 的尿中 MA 浓度,该浓度为检出限 (LOD),各种衍生化方法及非衍生化 (非衍生化法测定时尿添加 50  $\mu$ g/L 的 MA,提取液不进行衍生化直接进样分析)的检出限如表 1 所示。取系列空白尿分别添加 MA 20  $\mu$ g (1 mL 尿添加 10 mg/L 标准工作液 2  $\mu$ L)~2000  $\mu$ g/L (1 mL 尿添加 100 mg/L 标准工作液 20  $\mu$ L)及内标 1000  $\mu$ g/L (1 mL 尿添加 100 mg/L 标准工作液 10  $\mu$ L),进行提取、衍生化和分析,以 MA 与内标色谱峰面积比 ( $Y$ )与 MA 浓度 ( $X, \mu$ g/L)回归,得到  $Y = aX + b$  形式的工作曲线及相关系数  $r$ ,各种方法的工作曲线常数如表 1 所示 (非衍生化方法 MA 的浓度范围为 100~2000  $\mu$ g/L)。取空白尿 7 份均添加 MA 500  $\mu$ g/L (1 mL 尿添加 100 mg/L 标准工作液 5  $\mu$ L)及内标 1000  $\mu$ g/L (1 mL 尿添加 100 mg/L 标准工作液 10  $\mu$ L),进行提取、衍生化和分析,从工作曲线计算测值,测值与添加值之比为回收率,计算回收率、回收率均值及相对标准偏差 (RSD),结果见表 1。比较各方法的检出限,可见 PFB 和 DNB 衍生化分析方法有较高的灵敏度,非衍生化方法的灵敏度明显低于各种衍生化方法。

### 3.3 服药志愿者尿检测

一名 40 岁男性自愿者口服 MA 20 mg,服药后第 2、4、8、14、24 h 排泄的尿液用五氟苯甲酰衍生化法分析,测值分别为 386、531、1358、556 和 273  $\mu$ g/L。用其他方法进行复核,测值一致,图 2 中色谱峰 1 经

与 AM 标准品衍生化 (取 100 mg/L 的 AM 标准工作液 10  $\mu$ L 数份 , 挥干 , 按 MA 衍生化条件分别进行 DCA、PFB 和 DNB 等衍生化 ) 产物的  $k_r$  比对确认为 MA 的代谢物 AM 的色谱峰。

表 1 检测限、工作曲线、回收率  
Table 1 The limits of detection, working curves and recoveries

| 衍生化方法<br>Derivatization method                 | 检出限<br>Limit of detection<br>( $\mu$ g/L ) | 工作曲线 Working curve |                 |          | 回收率 Recovery ( % )    |      |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------|-----------------|----------|-----------------------|------|
|                                                |                                            | a $\times 10^3$    | b $\times 10^3$ | $\gamma$ | 平均值 Mean<br>( n ) = 7 | RSD  |
| 非衍生化 * non-Derivatization                      | 30. 0                                      | 1. 63              | 15              | 0. 999   | 99. 7                 | 9. 9 |
| 乙酰化 Acetylation (AC)                           | 9. 0                                       | 1. 42              | 10              | 0. 999   | 98. 6                 | 4. 0 |
| 三氟乙酰化 Trifluoroacetylation (TFA)               | 7. 8                                       | 1. 46              | 8               | 0. 998   | 100. 1                | 5. 2 |
| 二氯乙酰化 Dichloroacetylation (DCA)                | 6. 1                                       | 1. 01              | 5               | 0. 997   | 99. 4                 | 4. 7 |
| 五氟丙酰化 Pentafluoropropionylation (PFP)          | 6. 3                                       | 1. 77              | 2               | 1. 000   | 101. 2                | 7. 1 |
| 七氟丁酰化 Heptafluorobutanoylation (HFB)           | 6. 0                                       | 1. 33              | 3               | 0. 999   | 100. 4                | 4. 3 |
| 五氟苯甲酰化 Pentafluorobenzoylation (PFB)           | 3. 0                                       | 2. 33              | 2               | 0. 998   | 102. 1                | 6. 1 |
| 3, 5-二硝基苯甲酰化<br>3, 5-Dinitrobenzoylation (DNB) | 4. 6                                       | 11. 4              | 7               | 0. 997   | 100. 0                | 5. 6 |

\* 柱温 (column temperature): 70 (1 min)  $\xrightarrow{10 / \text{min}}$  140  $\xrightarrow{20 / \text{min}}$  280 (10 min)

References

1 Kreamer T, Maurer H H. *J. Chromatogr. B*, **1998**, 713: 163 ~ 187  
2 Ensslin H K, Kovar K, Maurer H H. *J. Chromatogr. B*, **1996**, 683: 189 ~ 197  
3 K  nstrand R. *J. Anal. Toxicol.*, **1996**, 20: 512 ~ 516  
4 Shin H, Donike M. *Anal. Chem.*, **1996**, 68: 3015 ~ 3020  
5 Hara K, Kashimura S, Hieda Y, Kageura M. *J. Anal. Toxicol.*, **1997**, 21: 54 ~ 59

Determination of Methamphetamine in Urine by Acyl Derivatization and Gas Chromatography with Nitrogen-phosphorus Detection

Zhao Bing, Tan Jiayi\*, Jiang Zhaolin, Yao Lijuan  
(China Criminal Police College, Shenyang 110035)

**Abstract** The determination methods for methamphetamine (MA) in urine by gas chromatography with nitrogen phosphorous detection combined with dichloroacetyl, pentafluorobenzoyl, and 3, 5-dinitrobenzoyl derivatization were developed. The procedure was simple and rapid. One millilitre of urine sample was alkalized and extracted with 0. 2 mL of cyclohexane. The acyl derivatization was completed by addition of 10  $\mu$ L of acid chloride or anhydride into the extract and placing at room temperature for 5 min. The residuary reagent was destroyed by washing with alkaline aqueous solution. The organic phase was analysed. The sensitivities of these methods were compared each other and with those of acetyl, trifluoroacetyl, pentafluoropropionyl, heptafluorobutyryl derivatization and non-derivatization methods, which have been reported in literature. The pentafluorobenzoyl and 3, 5-dinitrobenzoyl derivatization methods are more sensitive. The detection limits of the two methods are 3. 0  $\mu$ g/L and 4. 6  $\mu$ g/L respectively. The determination result of using samples of subjects digested MA showed that these methods were suitable for analysis of AM in uring.

**Keywords** Methamphetamine, gas chromatography, derivatization, urine

(Received 29 April 2004; accepted 12 February 2005)