

毛发中违禁苯丙胺类的代谢研究^{*}

沈敏 姜宴^{**} 向平 卜俊 沈保华

(司法部司法鉴定科学技术研究所 上海 200063)

[摘要]应用 GC/MS 技术, 鉴定、确认了毛发中 MAMP、MDMA 和芬氟拉明的代谢物 AMP、MDA 和去乙基芬氟拉明的存在; 建立了 GC/MS/SM 法测定毛发中苯丙胺类及代谢产物的定性定量分析方法, 毛发用量少(10mg)、灵敏度高(0.1ng/mg)、特异性强。方法应用于考察 MAMP、MDMA 和芬氟拉明在豚鼠毛发中的时间过程和浓度变化状况, 并成功地用于涉毒案件的鉴定。

关键词: 毛发分析 甲基苯丙胺 MDMA 芬氟拉明 代谢物 GC/MS

1 引言

苯丙胺类是一类具有强烈兴奋作用、食欲抑制作用以及温和致幻作用的物质, 被列入违禁毒品范围, 在国际和国内均受严格控制。我国于九十年代出现本丙胺类滥用事件, 如长期使用芬氟拉明减肥导致慢性中毒死亡; 滥用 MDMA (摇头丸)、甲基苯丙胺(冰毒, MAMP) 兴奋剂导致精神障碍和行为异常, 引发社会问题。因此, 苯丙胺类滥用的鉴定将成为法庭毒物学实验室的主要任务之一, 其中毛发样品因易采集、易保存、检测时限长而独具优越性。国外对头发中滥用药物分析已进行了大量的研究工作^[1-3], 而国内尚未见到头发中苯丙胺类分析的相关报道。

本研究选取 MAMP、MDMA 和芬氟拉明等三种典型的苯丙胺类滥用药物, 运用 GC/MS 方法, 考察了其在毛发中的代谢状况和浓度变化状况, 并建立了 GC/SM 定量分析方法, 毛发用量少、灵敏度高, 该法已用于实际涉毒案件的鉴定, 为执法部门提供可靠的证据。

2 实验

2.1 仪器、试剂和动物

仪器: HP5988A GC/MS 仪 HP5890GC(NPD) 仪

试剂: MDMA、MDA、芬氟拉明、去乙基芬氟拉明、MAMP(甲基苯丙胺)、AMP(苯丙胺)、三氟乙酸酐、4-苯基丁胺来源于 Sigma 公司, 其它试剂均为国产分析纯。

动物: 豚鼠重约 450~500 克, 购自上海青浦动物饲养场。

* 1999-10-02 收

司法部九五攻关项目

** 上海医科大学 法医系

2.2 实验条件

色谱条件:

(1)HP-1 毛细管柱(12m × 0.2mm), 初温 100 (2'), 25 /m in 程序升温, 终温 270 (5')。

(2)AC-5 毛细管柱(12m × 0.2mm), 初温 80 , 10 /m in 程序升温, 终温 280 。

质谱条件: EI源: 能量 70eV; 进样口温度 230 , 接口温度 280 , 离子源温度 230 。

选择离子检测(SM): m/z154, 135 用于检测MDMA 及其代谢物MDA 的三氟乙酰化物; m/z154, 140 用于检测MAMP 和代谢物AMP 的三氟乙酰化物; m/z168, 140 用于检测芬氟拉明和代谢物去乙基芬氟拉明的三氟乙酰化物, m/z91 用于检测内标 4-苯基丁胺的三氟乙酰化物。

2.3 苯丙胺类阳性毛发的采集

豚鼠毛发: 取豚鼠 6 只, 分笼饲养。剃去豚鼠背部中央的毛发(6cm * 4cm)作为取样区。以 10mg/Kg 的剂量分别腹腔注射MAMP, MDMA 和芬氟拉明, 每天注射一次, 共注射 6 次, 第一次注射后第 5、10、14、18 天剃下取样区新长出的毛发留作分析用。

滥用者头发: 采取经尿样苯丙胺类筛选分析阳性者的头顶部贴根部 1cm 毛发约 100mg。

2.4 毛发样品的处理

毛发样品分别依次用 0.1% 十二烷基磺酸钠(SDS), 0.1% 洗洁净, 丙酮振荡洗涤一次。晾干后剪成 2~ 3mm 长度, 保存供检。

称取毛发样品 10mg, 加入 0.1M 盐酸溶液 2ml, 在 45 水浴上保温过夜, 冷却后添加内标 4-苯基丁胺, 调 pH 值为碱性, 用乙酸乙酯混旋提取, 离心。提取液转移至另一离心管中, 加 1 滴酸性甲醇, 于 45 下氮气吹干, 用三氟乙酸酐或醋酸酐微波衍生化^[4]供分析苯丙胺类及其代谢物。

3 结果与讨论

3.1 毛发中违禁苯丙胺类及其代谢物的鉴定

取疑违禁苯丙胺类阳性毛发 20mg, 经提取处理后, 分别用醋酸酐和三氟乙酰酐衍生化, 其目标成分的质谱图见图 1、图 2、图 3。其中图 2 为疑MAMP 阳性毛发的N 乙酰化物和N 三氟乙酰化物质谱图, 图 2、图 3 分别为疑MDMA 和芬氟拉明阳性毛发的N 乙酰化物和N 三氟乙酰化物质谱图。图的左部为醋酸酐衍生化物, 右部为三氟乙酰酐衍生化物。分析所得的质谱图, 确认存在MAMP, MDMA 和芬氟拉明(图中标 I) 三种苯丙胺类, 并发现, 确认了这三种苯丙胺类各自代谢物AMP, MDA 和去乙基芬氟拉明(图中标 II) 的存在。通过 SM 分析, 毛发中未发现MAMP, MDMA 和芬氟拉明的其它代谢产物。

根据MDMA, MDA, MAMP, AMP, 芬氟拉明, 去乙基芬氟拉明的结构(图 4), 分析 6 个质谱图碎片, 发现苯丙胺类乙酰化和三氟乙酰化物的 EI 质谱裂解具有以下规律:

1. N- α 裂解, 失去最大烷烃构成了 EI 的主要碎片。如 m/z58 (MAMP, MDMA), m/z118 (AMP, MAMP), m/z162 (MDMA, MDA), m/z186 (芬氟拉明, 去甲芬氟拉明)。

2. 苄基断裂, 形成共振稳定的苄基离子, 也为 EI 质谱的主要碎片。如 m/z86

(MAMP, MDMA), 芬氟拉明, 去乙基芬氟拉明), m/z 91 (MAMP, AMP), m/z 100 (MAMP, MDMA), m/z 114 (芬氟拉明), m/z 140 (AMP, 去乙基芬氟拉明), m/z 154 (MAMP, MDMA), m/z 159 (芬氟拉明, 去乙基芬氟拉明), m/z 168 (芬氟拉明)。

3. 苯丙胺类的乙酰化物和三氟乙酰化物大部分有分子离子峰出现。

由于毛发可能存在外源性污染, 故毛发中代谢物的检出对于毒品滥用的确认具有重要意义。

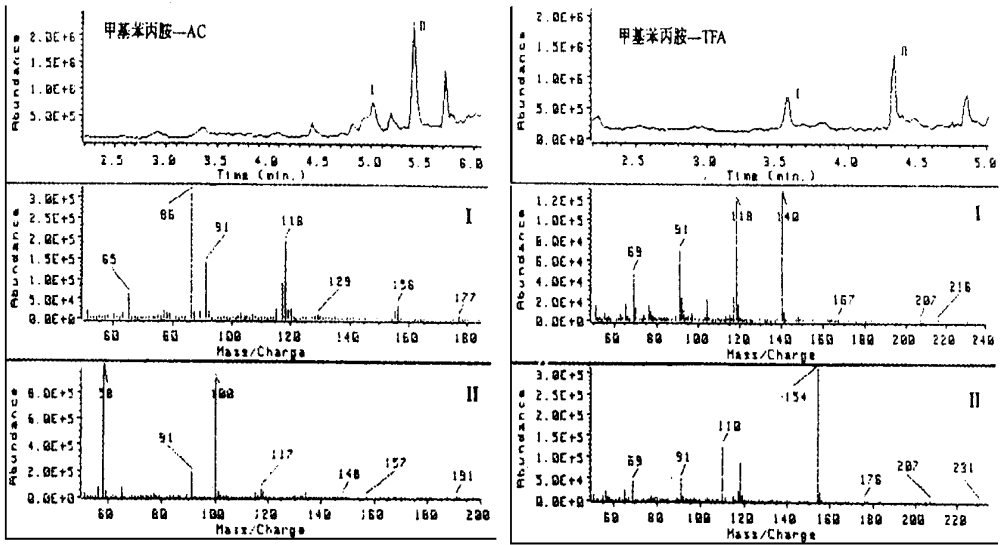


图 1 甲基苯丙胺阳性毛发的总离子流图和质谱图 (I. AMP, II MAMP)

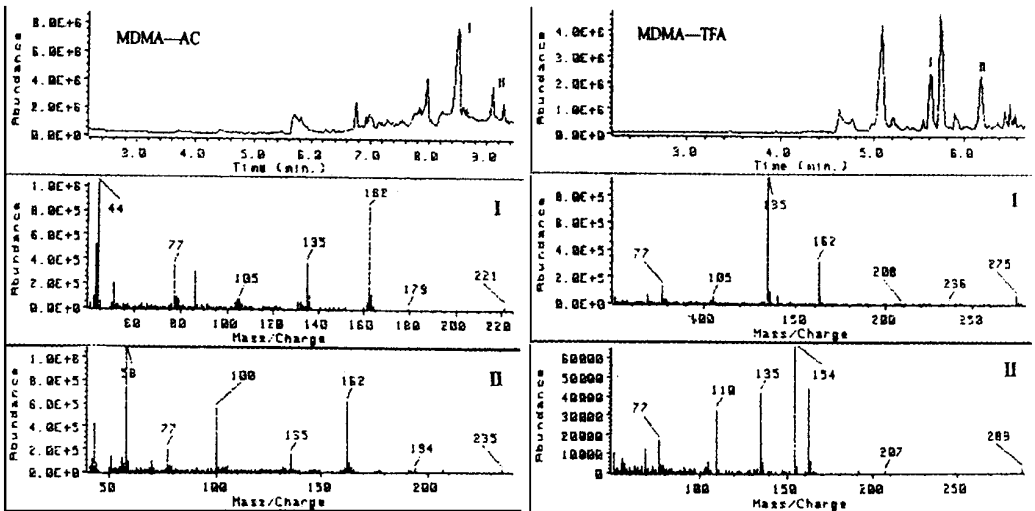


图 2 MDMA 阳性毛发的总离子流图和质谱图 (I. MDA, II MDMA)

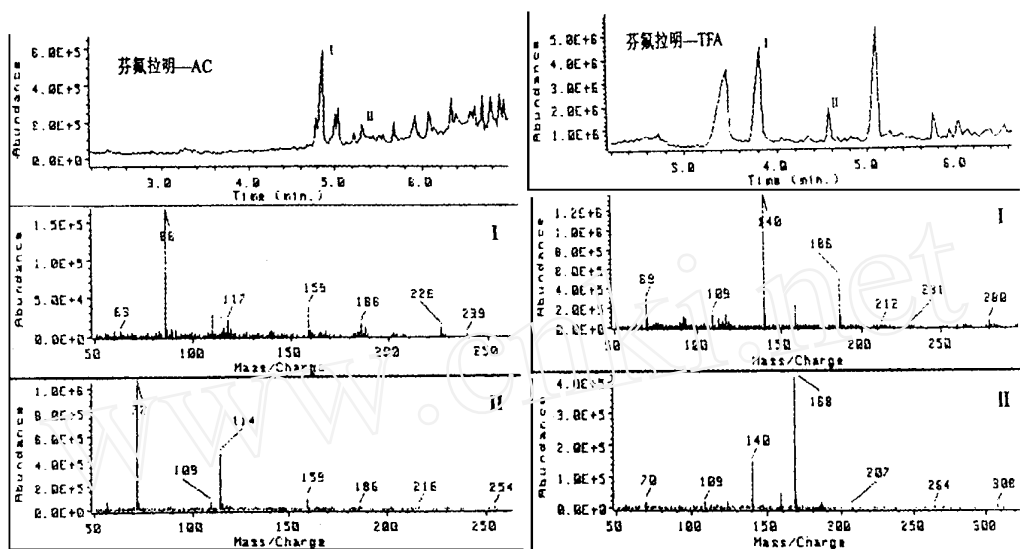


图3 芬氟拉明阳性毛发的总离子流图和质谱图(I. 去乙基芬氟拉明, II 芬氟拉明)

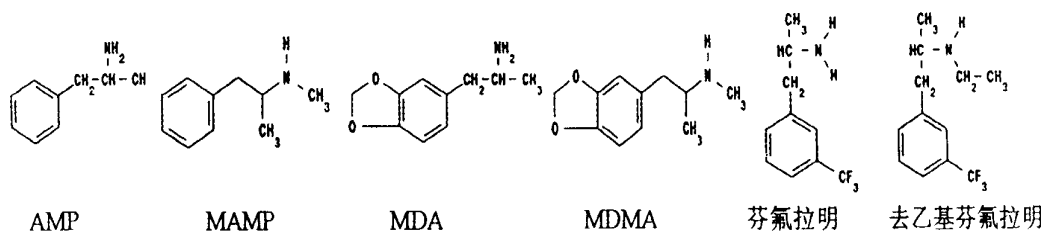


图4 MAMP,MDMA、芬氟拉明及其代谢物的结构

3.2 毛发中违禁苯丙胺类及其代谢物的定量分析

毛发以4-苯基丁胺为内标,按样品处理项操作,选择 m/z 154, 140(MAMP,AMP), m/z 154, 135(MDMA,MDA), m/z 168, 140(芬氟拉明,乙基芬氟拉明)及 m/z 91(内标)作为选择离子进行多离子监测,被测物的特征离子和内标特征离子的峰面积比与浓度存在线性关系($r > 0.998$),方法最低检出限为:药物原体不大于 0.1ng/mg ,代谢物不大于 0.2ng/mg 。

3.3 豚鼠毛发中违禁苯丙胺类及其代谢物的浓度变化

豚鼠经腹腔注射甲基苯丙胺(N_o. 1, N_o. 2)、MDMA(N_o. 3, N_o. 4)、芬氟拉明后(N_o. 5, N_o. 6),在1~18天内,毛发中药物原体及代谢物浓度变化如图5所示:

实验结果表明:(1)连续6天用药后,豚鼠毛发中的代谢物含量高于药物原体含量,原体与代谢物浓度之比小于1。该现象相同于度冷丁滥用者毛发中的药物状况^[5]。笔者认为:除了不同的化合物由于性质及在体内的代谢不同,可有不同的毛发中表现以外,这种高代谢物浓度是否也揭示了一种连续用药的药物摄入模式,即连续用药后,代谢物在体内发生蓄积,导致高的毛发代谢物浓度。(2)药后10~12天生长的毛发中仍存在微量的苯丙胺类药物。

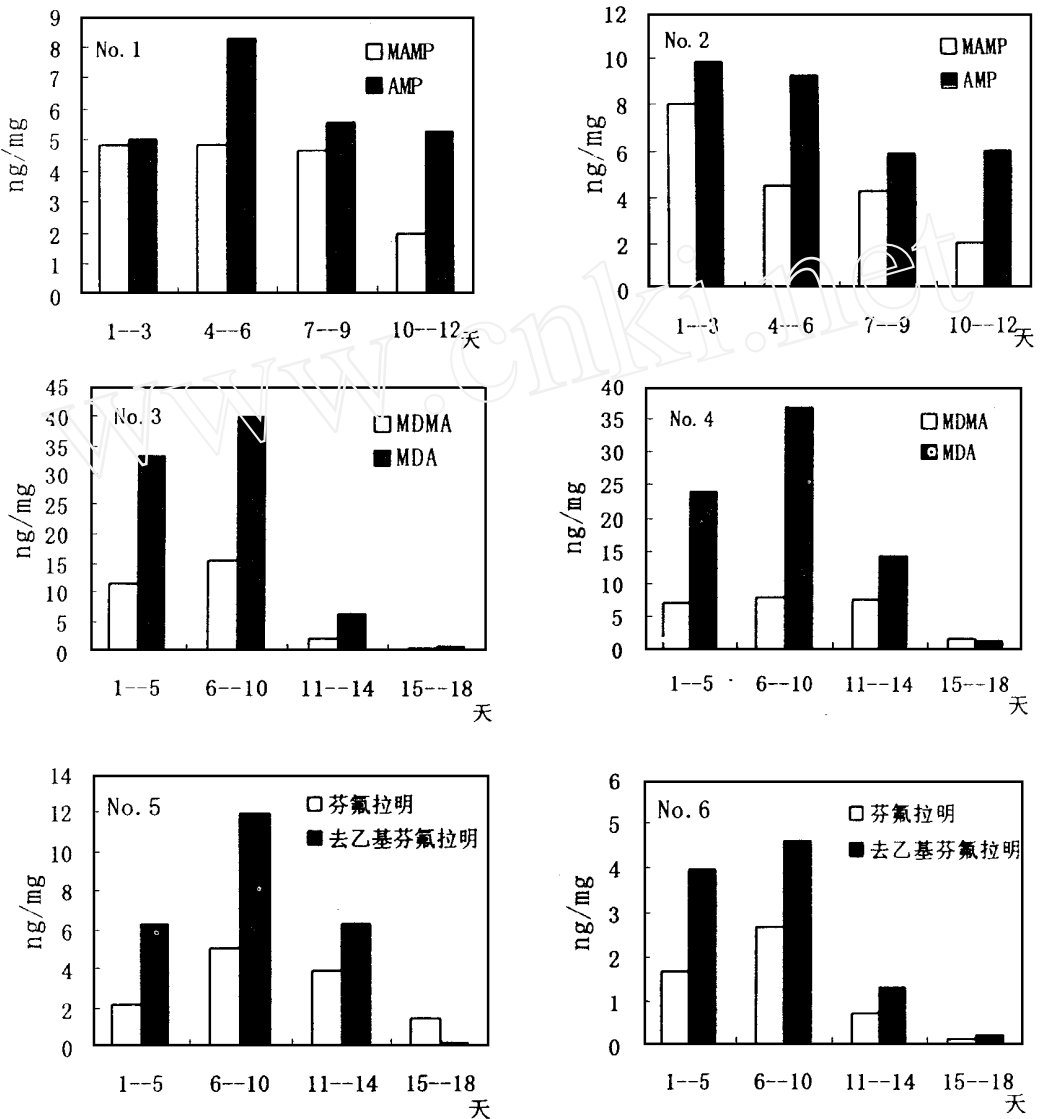


图 5 豚鼠毛发中甲基苯丙胺、MDMA、芬氟拉明及其代谢物的浓度变化

3.4 毛发颜色与药物浓度的关系

取同一豚鼠同一时间不同颜色的毛发分析,发现浅色毛发中药物含量较深色毛发药物含量低得多(表 1)。实验结果再次验证了药物可能与毛发中的色素结合的推测^[6]。

表 1 不同颜色毛发中苯丙胺类浓度比较

样品	黑色毛发 (ng/mg)		白色毛发 (ng/mg)	
	原体	代谢物	原体	代谢物
芬氟拉明	1.3	2.3	1.2	0.95
甲基苯丙胺 1	4.5	9.1	-	7.6
甲基苯丙胺 2	11.0	26.9	5.1	9.4
甲基苯丙胺 3	6.8	27.8	2.6	14.0
MDMA 1	8.0	36.7	1.2	3.7
MDMA 2	7.5	14.3	1.0	0.53

3.5 案例应用

案情摘要: 某公安分局发现某舞厅十几名舞客摇头不止, 兴奋异常, 并发现其携带可疑药片, 故送检要求查明是否使用摇头丸, 并判定是偶尔使用还是经常滥用。

分析鉴定:

(1) 送检可疑尿样经分析, 其中 7 份尿样中含有 MDMA 成分, 其他人尿样中则含有麻黄碱和可待因成分, 与其自述服用“联邦止咳露”情况相符(大量饮用“联邦止咳露”也有兴奋作用)。

尿样中检出 MDMA 成分, 表明被检者在 5~7 天内曾服用过该类毒品, 但仅根据此结果尚不能判断其是否经常使用苯丙胺类毒品, 而头发检测结果则能提供毒品使用的长程信息(时间和历史)。

(2) 采取 7 名尿液阳性者头顶部位贴根 1cm 头发, 按样品处理方法操作, GC/SM 法测定, 结果在 6 名尿液阳性者头发中检出了 MDMA 和代谢物 MDA 成分(表 2), 其中原体浓度高于代谢物浓度, 其比值为 8~15.4。笔者认为: 高的药物原体浓度与这类药物的间歇性使用性质(一般为上舞厅时使用)有关。

表 2 MDMA 滥用者毛发中 MDMA 及代谢 MDA 含量

No	MDMA (ng/mg)	MDA (ng/mg)	MDMA /MDA)
1	21.9	2.3	9.5
2	7.7	0.5	15.4
3	15.9	2.0	8
4	2.4	0.2	12
5	-	-	
6	13.2	0.9	14.7
7	19.6	1.7	11.9

头发分析结果表明 No1~4 和 No6~7 名舞客在最近一个月内(头发生长速率为 1~1.2cm/月)经常使用 MDMA 毒品, 而 No.5 舞客则为最近二天内使用, 其使用量和使用时间均未到达足以在头发中得到表现。该结果为执法部门提供了可靠的认定证据。

参 考 文 献

- 1 Nakahara Y *et al* Detection and Diagnostic Interpretation of Amphetamines in Hair, *Forensic Sci Int*, 1995, 70 135-153
- 2 Kintz P and Cirimele V. Interlaboratory Comparison of Quantitative Determination of Amphetamine and Related Compounds in Hair Samples, *Forensic Sci Int*, 1997, 84 151-156
- 3 Nakahara Y *et al* Hair analysis for Drug Abuse XIV. Identification of Substances Causing Acute Poisoning Using Hair Root, *Forensic Sci Int*, 1997, 84 157-164
- 4 沈敏等 微波照射在衍生化反应中的应用, *法医学杂志*, 1997, 13(4): 187~ 189
- 5 沈敏等 度冷丁滥用者毛发分段分析及其结果评价, *法医学杂志*, 1999, 15(4):
- 6 Mieczkowski T. An Evaluation of Patterns of Racial Bias in Hair Assays for Cocaine: Black and White Arrestees Compare, *Forensic Sci Int*, 1993, 63 85-98

Study on Metabolism of Illegal Amphetamines in the Hair of Addicts

Shen Min, Jiang Yan, Xiang Ping, Bu Jun, Shen Baohua
(Institute of Forensic Sciences, Ministry of Justice, Shanghai 200063, China)

Received 1999-10-02

Abstract

The presence of amphetamines and its metabolites in the hair of addicts was investigated using GC/MS. Methamphetamine, MDMA and fenfluramine and their metabolites- amphetamine, MDA and norfenfluramine, were found in the hair samples. Methods for the determination of amphetamines and their metabolites by GC/MS/SM were also established for human hair samples, which had the following features: a small amount of hair (10mg) needed, low limits of detection (0.2ng/mg), and high specificity. The method has been successfully applied to routine analysis for confirmation of amphetamine-abuse case.

Key Words: hair analysis, methamphetamine, MDMA, fenfluramine, metabolites, GC/MS