

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.18.002

氢氯噻嗪对吗啡中毒家兔体内吗啡代谢动力学的影响^{*}

王 勇^{1,2}, 吴玉红^{1,2}, 卜 娟^{1,2}, 殷豪健³, 黄子夏³

1. 重庆警察学院刑事科学技术系, 重庆 401331; 2. 重庆市“毒物毒品分析”重点实验室, 重庆 401331;

3. 重庆警察学院 2015 级刑事科学专业, 重庆 401331

摘要:目的 建立 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱提取吗啡的方法, 以及探讨氢氯噻嗪对吗啡中毒家兔体内吗啡代谢动力学的影响。**方法** 选择家兔 6 只, 随机分为实验组(吗啡+氢氯噻嗪)和对照组(吗啡), 每组 3 只。实验组经耳缘静脉注射盐酸吗啡生理盐水溶液, 随后采用氢氯噻嗪生理盐水经口灌胃, 30 min 后分别于 1、2、3、4、5、6、7、8 h 经颈总动脉各取 1 mL 血液冷冻保存待检。对照组仅采用经耳缘静脉注射盐酸吗啡生理盐水溶液, 30 min 后分别于 1、2、3、4、5、6、7、8 h 经颈总动脉各取 1 mL 血液冷冻保存待检。采用 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱进行前处理、气相色谱氮磷检测器(GC/NPD)定量检测吗啡水平。**结果** LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱提取回收率高。对照组在 3、4、5、8 h 的吗啡水平均高于实验组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 建立了 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱提取吗啡的方法, 该法成本低、方便快捷、回收率高、杂质水平低, 可应用于吗啡中毒致死案件检材的前处理。利尿剂氢氯噻嗪可加速吗啡在体内的代谢速度, 缩短吗啡在家兔体内的代谢时间。

关键词:层析柱; 吗啡; 氢氯噻嗪; 毒物代谢动力学

中图法分类号: R89

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)18-2596-03

Effects of hydrochlorothiazide on the metabolic kinetics of morphine in rabbits^{*}

WANG Yong^{1,2}, WU Yuhong^{1,2}, BU Juan^{1,2}, YIN Haojian³, HUANG Zixia³

1. Department of Criminal Science and Technology, Police Academy of Chongqing, Chongqing 401331, China;

2. Chongqing Key Laboratory of Toxic Drug Analysis, Chongqing 401331, China; 3. Criminal Science of

Grade 2015, Chongqing Police College, Chongqing 401331, China

Abstract: Objective To establish a method of extracting morphine by LDHW-FFZ1-WuYH chromatography column and to discuss the effect of hydrochlorothiazide on the metabolic kinetics of morphine in poisoned rabbits. **Methods** Six rabbits were randomly divided into experimental group (morphine group+hydrochlorothiazide) and control group (morphine), every group had three rabbits. Rabbits in experimental group was extracted and injected with morphine hydrochloride saline solution through ear vein to observe the vital signs of breathing and heartbeat in rabbits. After 30 minutes, hydrochlorothiazide saline was orally administered. After 30 minutes, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 hours were taken from the common carotid artery for cryopreservation. Control group was only injected hydrochloride saline solution. The vital signs of respiration and heartbeat of rabbits were observed by intravenous injection through ear margin. After 30 minutes, 1 mL blood was taken from common carotid artery for cryopreservation at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 h, respectively. LDHW-FFZ1-WuYH column was used for pretreatment, gas chromatography (GC/NPD) was used to quantitatively detect morphine content. **Results** The recovery rate of LDHW-FFZ1-WuYH was high. Morphine levels of control group at 3, 4, 5, 8 h were significantly higher than that of experimental group ($P < 0.05$). **Conclusion** The method of extracting morphine by LDHW-FFZ1-WuYH column has been established in this study. This method has the advantages of low cost, convenience and rapidity, high recovery rate and low impurity content. It can be applied to the pretreatment of the samples of death cases caused by morphine poisoning. It can be seen that hydrochlorothiazide can accelerate the metabolic rate of morphine, and shorten the metabolic time of morphine in the rabbits.

Key words: chromatographic column; morphine; hydrochlorothiazide; toxicokinetics

^{*} 基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJ1715363); 重庆警察学院科研项目(JY201802); 重庆高校创新团队建设计划(CXTDX01041)。

作者简介: 王勇, 男, 主检法医师, 主要从事法医病理、毒物学方面的研究。

吗啡属于啡类生物碱,具有镇痛、止咳、止泻及镇静催眠作用,主要用于疾病晚期患者的止痛^[1]。公安禁毒工作中,吗啡属于常见毒品之一,对吸食毒品可疑人员快速筛查时常采集尿液进尿检板测试^[2-3]。部分嫌疑人为了逃避打击,常采用一些手段加速体内毒品的排泄,如大量饮水或服用利尿剂等。氢氯噻嗪是临床常用利尿剂之一,而国际奥委会将其定为违禁药中 S5 类,其主要作用是通过加速排尿减轻体质量,同时通过排尿加速其他违禁药的排泄,起到掩蔽作用。本文探讨氢氯噻嗪对吗啡在家兔体内代谢的影响,旨在为法医检测吸毒者利用氢氯噻嗪加速吗啡排泄、逃避法律制裁的案件提供依据^[4-5],现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 一般材料 选择实验室喂养的 6 只家兔作为研究对象,中位体质量 2 kg。随机分为对照组(吗啡)和实验组(吗啡+氢氯噻嗪),每组 3 只。

1.2 仪器与试剂 岛津 GC-2010plus 型气相色谱仪条件:Rtx-5ms(30.00 m×0.25 mm×0.25 mm)毛细管柱,柱温为 220 °C(保持 6 min)以 12 °C/min 升至 280 °C(保持 7 min);检测器(NPD),温度 300 °C;Inject 温度 280 °C;载气为氮气(99.99%),流速为 2.14 mL/min;氢气流速为 1.5 mL/min;空气流速为 145 mL/min;尾吹 27.5 mL/min;分流比为 20.0。岛津气象色谱-质谱(GC-MS)仪条件:毛细管柱 DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm),EI 源(70 eV)。柱温:70 °C→25 °C/min→280 °C(15 min)。离子源温度 250 °C,进样口温度 250 °C;分流比为 50:1。载气:高纯氮气(99.99%),流速为 1.0 mL/min,恒流模式。试剂:乙酸乙酯、甲醇均为分析纯。盐酸吗啡标准品(1.0 μg/μL,购于公安部第二研究所);内标 SKF525 标准液(1.0 μg/μL,购于公安部第二研究所);氢氯噻嗪药片(每片 25 mg,天津力生制药股份有限公司,生产批号:1708011)。LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱(内装 8 mL QFH 材料)。

1.3 方法 对照组:分别标号 1、2、3 号,抽取 0.8 mL 盐酸吗啡生理盐水溶液(4 mg/mL),经耳缘静脉注射,观察家兔的呼吸与心跳生命体征,30 min 后分别于 1、2、3、4、5、6、7、8 h 经颈总动脉各取 1 mL 血液冷冻保存待检。实验组:分别标号 4、

5、6 号,抽取 0.8 mL 盐酸吗啡生理盐水溶液(4 mg/mL),经耳缘静脉注射,观察家兔的呼吸与心跳生命体征。30 min 后,将 2 片(50 mg)氢氯噻嗪溶解于生理盐水后经口灌胃,30 min 后分别于 1、2、3、4、5、6、7、8 h 经颈总动脉各取 1 mL 血液冷冻保存待检。

将抽取好的 1 mL 血液加入 10% 的 HCl 溶液共 5 mL,振荡 30 s,100 °C 水浴加热 30 min,冷却至室温,超声 30 min,1 800 r/min 离心 10 min,取上清液,加 SKF525A 内标液 20 μL(1 mg/mL),振荡 1 min。加 NaOH 溶液调至 pH=9。采用 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱进行前处理,乙酸乙酯洗脱提取,氮吹干,加入丙酸酐 1 000 μL-吡啶 600 μL(3:2)溶液衍生化,氮吹仪 60 °C 吹干。甲醇 20 μL 定容,抽取 1 μL,采用气相色谱氮磷检测器(GC/NPD)定量检测其中吗啡水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件对数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 家兔吗啡中毒致死解剖所见 解剖吗啡中毒致死家兔,可见腰大肌出血。

2.2 回收率的检测 取空白家兔血液 1.0 mL,分别加入吗啡标准溶液 1.0、2.0、3.0 μg/μL,按 1.3 的方法处理,结果显示,血液中检测到吗啡水平分别为(0.99±0.60)、(1.94±0.30)、(2.94±0.50) μg/μL,回收率分别为 99.0%±0.2%、97.0%±0.4%、98.0%±0.6%。

2.3 工作曲线 取空白家兔血液 1.0 mL,分别加入 1.0 μg/μL 吗啡标准溶液,配制成吗啡水平为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 μg/μL,按 1.3 的方法提取并检测。以吗啡浓度为横坐标(*X*),吗啡与内标 SKF_{525A} 的峰面积之比为纵坐标(*Y*)进行线性回归,所得血液线性回归方程 $Y = 1.415X + 0.035, R^2 = 0.9991$,结果表明,血液中吗啡在 0.2~120.0 μg/μL 时线性关系良好。

2.4 两组家兔中毒后血液中各时间点吗啡水平的比较 对照组在 3、4、5、8 h 的吗啡水平均高于实验组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 实验组和对照组中毒家兔血液各时间点吗啡水平的比较(μg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
实验组	3	3.58±0.15	2.92±0.28	0.75±0.16	0.55±0.26	0.35±0.22	0.25±0.04	0.02±0.42	0.00±0.00
对照组	3	3.63±0.17	3.21±0.21	1.71±0.33	1.31±0.54	0.85±0.35	0.55±0.40	0.15±0.15	0.05±0.02

3 讨 论

本研究结果显示,LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱回收率较高,充分证明了其能够应用于生物检材中进行吗啡前处理提取,此层析柱优点:成本低、操作简

便、耗时短,不需调节检材的酸碱度,不需对固相萃取柱进行活化,直接将匀浆后的检材过柱,然后用乙酸乙酯有机溶剂洗脱,加入内标 SKF525A 挥发干燥,定容后直接检测;其次,此层析柱既具有很强的吸水性,

同时对检材中的色素有具有很强的吸附性,因此经其提取的洗脱液杂质少,与文献[6-7]报道相符。

解剖吗啡中毒家兔尸体,可见腰大肌出血,分析原因可能为家兔吗啡中毒后,肌肉持续强烈收缩,导致血管撕裂,从而表现为腰大肌出血。

本研究模拟吸毒人员常用的静脉注射方式,将吗啡静脉注射到家兔体内,吗啡在血液中的水平达到最高,此后随着血液循环分布到靶器官、排泄器官等全身各个组织脏器,其在家兔体内的毒代动力学模型呈二室模型一级吸收^[8]。查阅相关文献资料可知,吗啡在体内的半衰期为 3 h^[8],因此在设计取血时间点时,以 3 h 为基准点,每隔 1 h 取血 1 次,次数不宜频繁,间隔不宜太短,原因在于次数过于频繁,间隔过于太短,家兔机体的应激反应不能充分发挥作用,会使家兔存活时间太短,导致取血时间点太少,从而不能检测到吗啡完全排泄的时间。

本研究结果显示,实验组与对照组在 1、2、6、7 h 时间点吗啡水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),因为在中毒后 1~2 h 时,氢氯噻嗪经灌胃后处于吸收期,对家兔体内吗啡的排泄尚不能起到促进作用;在 6、7 h 时,氢氯噻嗪在家兔体内已近完全排泄,对吗啡的排泄已无促进作用。而实验组与对照组在 3、4、5、8 h 时间点吗啡水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),原因为利尿剂氢氯噻嗪在家兔体内起效,对吗啡的排泄具有促进作用;实验组在 8 h 时未测得体内吗啡,而对照组在 8 h 仍可测得体内吗啡,原因为利尿剂氢氯噻嗪缩短了吗啡在家兔的体内代谢时间^[9]。

公安机关在检测疑似吗啡吸食者时,常常只需定性检测,无需定量分析,依据上述吗啡在家兔体内的代谢实验结果可知,8 h 之前,无论是否摄入利尿剂氢氯噻嗪,对吗啡的定性检测无任何影响;8 h 之后,实验组家兔由于利尿剂氢氯噻嗪的作用,体内吗啡检测呈阴性,而对照组家兔体内吗啡检测仍呈阳性。由此可知:(1)毒品检验人员应及时检测疑似吗啡吸食者

体内的吗啡;(2)对于疑似吗啡吸食者,检测结果呈阴性时,毒品检验人员应了解吗啡摄入与检测之间的时间间隔,同时侦查人员需调查该疑似吸食者是否摄入氢氯噻嗪类利尿剂,企图加速吗啡的排泄,掩盖吸毒事实,逃避法律制裁;(3)对疑似吗啡吸食者体内检测阴性结果进行判读时,毒品检测人员应客观、科学地综合分析^[10]。

综上所述,毒品检测人员在检测疑似吸毒者利用氢氯噻嗪加速吗啡、排泄逃避法律制裁的案件时,如需采血进行定性检测吗啡,应在 8 h 内尽快采集。

参考文献

- [1] 黄光照. 法医毒理学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2004:238-239.
- [2] 张新威. 中国刑事科学技术大全毒品和毒物检验分册[M]. 北京:中国人民公安大学出版社, 2001:421-428.
- [3] 吕海茹. 尿中吗啡常见的检测方法[J]. 刑事技术, 2008, 33(2):29-30.
- [4] 张加玲,王玉瑾,刘燕娥,等. 吗啡在急性中毒家兔体内的分布[J]. 中国药物依赖性杂志, 2001, 10(2):104-106.
- [5] 王惠玲,唐承汉. 吗啡的体内代谢及分布[J]. 西安医科大学学报, 2001, 21(1):95-96.
- [6] 吴玉红,魏春生,王丹,等. 肝中巴比妥类药物硅藻土固相提取法[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2008, 35(2):67-71.
- [7] 吴玉红,谭家镒,王丹,等. 血尿肝中巴比妥类药物硅藻土提取紫外差示导数光谱测定[J]. 中国法医学杂志, 2005, 20(4):161-163.
- [8] 负克明. 法医毒物动力学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015:440-441.
- [9] 向平. 法医毒物学新技术专题[J]. 法医学杂志, 2018, 34(6):577-584.
- [10] 负克明. 法医毒物动力学[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(6):361-369.

(收稿日期:2019-01-28 修回日期:2019-05-06)

(上接第 2595 页)

- [13] LI J, CHEN Y, ZHU Y, et al. Efficacy and safety of decitabine in combination with G-CSF, low-dose cytarabine and aclarubicin in newly diagnosed elderly patients with acute myeloid leukemia[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8):6448-6458.
- [14] LI L, ZHANG X, YU H, et al. Low-dose hypomethylating agent decitabine in combination with aclarubicin and cytarabine achieves a better outcome than standard FLAG chemotherapy in refractory/relapsed acute myeloid leukemia patients with poor-risk cytogenetics and mutations[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:6863-6870.
- [15] ORONSKY B, ORONSKY N, KNOX S, et al. Episeniti-

zation; therapeutic tumor resensitization by epigenetic agents: a review and reassessment[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2014, 14(8):1121-1127.

- [16] YE X N, ZHOU X P, WEI J Y, et al. Epigenetic priming with decitabine followed by low-dose idarubicin/cytarabine has an increased anti-leukemic effect compared to traditional chemotherapy in high-risk myeloid neoplasms[J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, 57(6):1311-1318.
- [17] 郝杰,王黎,王艳煜,等. 地西他滨联合 DAG 方案等三种方案治疗复发、难治急性髓系白血病疗效的比较分析[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(6):481-485.

(收稿日期:2019-01-22 修回日期:2019-04-02)