

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.07.008

中毒家兔体内盐酸哌替啶的分布研究^{*}

王 勇^{1,2}, 吴玉红^{1,2}, 卜 娟^{1,2}, 封 宇^{1,2}, 吴 伟^{1,2}, 杨润鑫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 层析柱提取盐酸哌替啶的方法, 探讨中毒家兔体内盐酸哌替啶分布规律及在氢氯噻嗪的作用下盐酸哌替啶在中毒家兔体内的分布情况。**方法** 选择家兔 6 只, 随机分为实验组和干扰组。实验组经耳缘静脉注射盐酸哌替啶生理盐水溶液, 干扰组同样经耳缘静脉注射盐酸哌替啶生理盐水溶液, 并采用氢氯噻嗪生理盐水经口灌胃, 观察两组家兔的呼吸与心跳等生命体征。处死家兔后解剖, 取心脏、肝脏、脾、肺、肾脏、脑组织冷冻保存待检。精确称取检材, 采用 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱进行前处理, 并采用气相色谱(GC/NPD)定量检测其中盐酸哌替啶水平。**结果** LDHW-FFZ1-WuYH 提取回收率高, 盐酸哌替啶平均回收率 96.0%, 检出限为 2 $\mu\text{g/g}$ 。实验组各脏器组织盐酸哌替啶水平由高到低分别为脑组织 $[(3.45 \pm 0.31) \mu\text{g/g}]$ 、肾脏 $[(2.65 \pm 0.16) \mu\text{g/g}]$ 、肝脏 $[(2.15 \pm 0.12) \mu\text{g/g}]$ 、脾 $[(1.81 \pm 0.13) \mu\text{g/g}]$ 、肺 $[(1.35 \pm 0.23) \mu\text{g/g}]$ 、心脏 $[(1.13 \pm 0.21) \mu\text{g/g}]$ 。干扰组各脏器组织盐酸哌替啶水平由高到低分别为脑组织 $[(1.75 \pm 0.14) \mu\text{g/g}]$ 、肾脏 $[(1.45 \pm 0.42) \mu\text{g/g}]$ 、肝脏 $[(1.19 \pm 0.24) \mu\text{g/g}]$ 、脾 $[(0.98 \pm 0.26) \mu\text{g/g}]$ 、肺 $[(0.75 \pm 0.26) \mu\text{g/g}]$ 、心脏 $[(0.51 \pm 0.41) \mu\text{g/g}]$ 。干扰组心脏、肝脏、脾、肺、肾脏、脑组织标本盐酸哌替啶水平均低于实验组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 建立了 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱提取盐酸哌替啶的方法, 该方法可用于盐酸哌替啶中毒致死案件检材的前处理。氢氯噻嗪可加快家兔体内盐酸哌替啶的排泄。

关键词: 盐酸哌替啶; 氢氯噻嗪; 气相色谱

中图法分类号: R89

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)07-0892-03

Distribution of meperidine of postmortem in poisoned rabbits^{*}

WANG Yong^{1,2}, WU Yuhong^{1,2}, BO Juan^{1,2}, FENG Yu^{1,2}, WU Wei^{1,2}, YANG RunXin³

1. Department of Criminal Science and Technology, Police Academy of Chongqing, Chongqing 401331, China; 2. Key Laboratory of Poisons and Drugs Analysis of Chongqing, Chongqing 401331, China; 3. Criminal Science of Grade 2015, Chongqing Police College, Chongqing 401331, China

Abstract: Objective To establish a method for extracting meperidine from LDHW-FFZ1-WuYH column and to study the distribution of meperidine of postmortem in poisoned rabbits and the distribution of meperidine poisoned rabbits under the action of hydrochlorothiazide. **Methods** Six rabbits were randomly divided into experimental group and control group. Experimental group rabbits were injected meperidine saline solution through ear vein, and the control group were also injected meperidine saline solution through ear vein, as well as hydrochlorothiazide saline solution by gavage. The respiratory and heartbeat were observed. In addition, postmortem anatomy, coring, liver, spleen, lung, kidney and brain cryopreservation were examined. Using LDHW-FFZ1-WuYH column, sample was handled, and gas chromatography (GC/NPD) was used to detected meperidine. **Results** LDHW-FFZ1-WuYH had a higher recovery rate, with an average recovery rate of 96.0% and the detection limit was 2 $\mu\text{g/g}$. In experimental group, the levels of meperidine from high to low in various organs were brain $[(3.45 \pm 0.31) \mu\text{g/g}]$, kidney $[(2.65 \pm 0.16) \mu\text{g/g}]$, liver $[(2.15 \pm 0.12) \mu\text{g/g}]$, splenic $[(1.81 \pm 0.13) \mu\text{g/g}]$, lung $[(1.35 \pm 0.23) \mu\text{g/g}]$ and heart $[(1.13 \pm 0.21) \mu\text{g/g}]$. In control group, the levels of meperidine from high to low in various organs were brain $[(1.75 \pm 0.14) \mu\text{g/g}]$, kidney $[(1.45 \pm 0.42) \mu\text{g/g}]$, liver $[(1.19 \pm 0.24) \mu\text{g/g}]$, spleen $[(0.98 \pm 0.26) \mu\text{g/g}]$, lung $[(0.75 \pm 0.26) \mu\text{g/g}]$, heart $[(0.51 \pm 0.41) \mu\text{g/g}]$. The levels of meperidine of heart, liver, spleen, lung, kidney and brain tissue in control

^{*} 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。

group were significantly lower than that of experimental group. **Conclusion** A method of extracting meperidine from LDHW-FFZ1-WuYH lamination column is established. It can be applied to the pretreatment of meperidine's lethal case. The use of hydrochlorothiazide could accelerate the excretion of meperidine.

Key words: meperidine; hydrochlorothiazide; gas chromatography

盐酸哌替啶为人工合成的阿片受体激动剂,属于苯基哌啶衍生物,是一种应用于临床的合成镇痛药,为白色结晶性粉末,味微苦,无臭。盐酸哌替啶系吗啡的人工代用品,其作用机制与吗啡相似,药理作用及临床应用均与吗啡相同,但镇静、麻醉作用较小,仅为吗啡的 1/10~1/8。盐酸哌替啶反复作用也可成瘾,不良反应与吗啡相似,被列为严格管制的麻醉药品。因此,无论从其药理作用、成瘾性,以及对人体的危害,还是从法律文件规定上讲,盐酸哌替啶都是一种毒品^[1]。

部分研究显示,盐酸哌替啶检材的前处理方法主要有液液萃取、固相萃取等^[2-4]。目前有关盐酸哌替啶的研究主要为检测方法以及盐酸哌替啶作为麻醉剂在临床的应用等,而有关盐酸哌替啶的法医毒物动力学相关研究较少^[5-7]。本文采用 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱优化生物样品中盐酸哌替啶的分离和提取,分析盐酸哌替啶在家兔体内的分布,旨在为盐酸哌替啶滥用引起中毒事件的检测提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料 选择家兔 6 只,中位体质量 2 kg。随机分为实验组(盐酸哌替啶)和干扰组(盐酸哌替啶+氢氯噻嗪)。实验组中 3 只家兔分别标号 1、2、3 号,同时,分别抽取 0.8 mL 盐酸哌替啶生理盐水溶液(4 mg/mL),经耳缘静脉注射,观察家兔的呼吸与心跳等生命体征。干扰组中 3 只家兔分别标号 4、5、6 号,同时,分别抽取 0.8 mL 盐酸哌替啶生理盐水溶液(4 mg/mL),经耳缘静脉注射,观察家兔的呼吸与心跳等生命体征;30 min 后,将 50 mg 氢氯噻嗪生理盐水溶液经口灌胃。死后解剖,取心脏、肝脏、脾、肺、肾脏、脑组织标本冷冻保存待检。

1.2 仪器与试剂 仪器为超声波细胞粉碎机 JY88-IIN。岛津 GC-2010plus 型气相色谱仪条件:Rtx-5ms (30 m×0.25 μm×0.25 mm)毛细管柱,柱温为 100℃(保持 1 min),以 10℃/min 升至 250℃(保持 8 min);检测器(NPD),温度 260℃;Inject 温度 280℃;载气:氮气(99.99%),流速 1 mL/min;氢气流速 1.5 mL/min;空气流速 145 mL/min;尾吹 27.5 mL/min;分流比为 20.0。LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱。

岛津 GC/MS 条件:毛细管柱 DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm),EI 源(70 eV)。柱温:80℃(1 min)→10℃/min→250℃(8 min);离子源温度 200℃,进样口温度 250℃;分流比为 50:1;载气:高纯氮气(99.999 9%)流速为 1.0 mL/min,恒流模式。

试剂为乙酸乙酯、甲醇,均为分析纯。盐酸哌替啶标准品(1.0 μg/μL,购于公安部第二研究所);内标 SKF525A 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)购于天津力生制药股份有限公司(生产批号:1708011)。

1.3 方法

1.3.1 检材前处理和检测 精确称取 1 g 检材,超声波细胞粉碎机粉碎,移入试管,加入 1 mL 纯净水,振荡 30 s,加 SKF525A 内标液 20 μL(1 mg/mL),振荡 1 min,采用 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱进行前处理,乙酸乙酯洗脱提取,氮吹干,甲醇 20 μL 定容,抽取 1 μL,采用气相色谱(GC/NPD)定量检测其中盐酸哌替啶水平。依据 Rt 法进行定性分析,采用内标法和工作曲线法进行定量分析。

1.3.2 回收率计算 取空白家兔肝脏 1.0 克/份,超声波细胞粉碎机匀浆后加入 1.0 mL 纯净水,分别加入 1.0、2.0、3.0 μg/μL 的盐酸哌替啶标准溶液,按 1.3.1 步骤进行检测,计算回收率。

1.3.3 工作曲线的建立 取空白家兔肝脏 1.0 g,加蒸馏水 1.0 mL 振荡,固性检材超声细胞粉碎(JYD-650L 智能型)匀浆 3 min,振荡摇匀,加入盐酸哌替啶标准溶液(1.0 μg/μL),配制成 1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、24.0、48.0、64.0 μg/g 的盐酸哌替啶溶液,按 1.3.1 步骤进行提取及检测。以盐酸哌替啶水平(μg/g)为横坐标(Y),盐酸哌替啶与内标 SKF525A 的峰面积之比为纵坐标(X)进行线性回归分析。

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 盐酸哌替啶中毒致死家兔解剖所见 解剖盐酸哌替啶中毒致死家兔,可见腰大肌出血。

2.2 回收率 结果显示,不同标准水平的盐酸哌替啶在肝脏中的检出水平分别为(0.94±0.20)、(1.92±0.40)、(2.85±0.30) μg/g,回收率分别为 94.0%±0.3%、96.0%±0.2%、95.0%±0.3%。平均回收率 96.0%,检出限为 2 μg/g。

2.3 工作曲线 所得线性回归方程为 $Y=1.415X-0.24$, $R^2=0.998 1$,结果表明,肝脏中盐酸哌替啶在 2~64 μg/g 时线性关系良好。

2.4 实验组和干扰组家兔体内盐酸哌替啶水平比较 结果显示,干扰组心脏、肝脏、脾、肺、肾脏、脑组织标本盐酸哌替啶水平均低于实验组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 实验组和干扰组家兔体内盐酸哌替啶水平比较(μg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	心脏	肝脏	脾	肺	肾脏	脑组织
实验组	3	1.13±0.21	2.15±0.12	1.81±0.13	1.35±0.23	2.65±0.16	3.45±0.31
干扰组	3	0.51±0.41	1.19±0.24	0.98±0.26	0.75±0.26	1.45±0.42	1.75±0.14

3 讨 论

本研究结果显示,盐酸哌替啶回收率均大于 90.0%,充分说明 LDHW-FFZ1-WuYH 层析柱能够应用于生物检材中盐酸哌替啶前处理提取,结合文献[5-6]报道,此层析柱具有成本低、操作简便、耗时短的优点。同时,此层析柱不需调节检材的酸碱性,不需对固相萃取柱进行活化,可直接将匀浆后的检材过柱,然后用乙酸乙酯有机溶剂洗脱,加入内标挥干,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具有很强的吸附性,因此,经其提取的洗脱液杂质含量较少。

解剖盐酸哌替啶中毒家兔尸体,可见腰大肌出血,分析原因可能为给家兔注射盐酸哌替啶后,致全身肌肉抽搐、发生强直性收缩^[1],导致血管撕裂,从而表现为腰大肌出血。

同时,本研究结果显示,两组家兔各脏器组织盐酸哌替啶水平从高到低分别为脑组织、肾脏、肝脏、脾、肺、心脏。盐酸哌替啶在不同标本中分布不均匀与文献[8]报道一致。两组脏器中盐酸哌替啶水平最高的脏器组织均为脑组织和肾脏,可能原因为脑组织为盐酸哌替啶的靶向器官,肾脏为盐酸哌替啶的排泄器官^[1]。

同时,干扰组各脏器中盐酸哌替啶水平均低于实验组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。原因为干扰组家兔在耳缘静脉注射盐酸哌替啶 30 min 后,经口灌胃氢氯噻嗪,此药作用于肾脏,加速肾脏排泄,产生大量尿液,从而加速了家兔体内盐酸哌替啶的排泄。因此,干扰组家兔体内盐酸哌替啶水平较实验组有显著下降。

综上所述,法医在处理盐酸哌替啶滥用中毒案件时,在无法采集到血液检材时,脑组织是最好的检材,肾脏次之。对于利用氢氯噻嗪逃避处罚的盐酸哌替啶滥用者,由于氢氯噻嗪能够加速体内盐酸哌替啶的排泄,应尽快采集检材,方可避免漏检。

参考文献

[1] 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,2001:346-347.

[2] 薛月华,沈敏,沈保华,等. 全血中度冷丁的气-质联用法测定及代谢动力学研究[J]. 法医学杂志,1996,12(3):139-145.

[3] 彭安林,张俊萍. 液相色谱串联质谱法测定人血浆中杜冷丁的含量[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(8):239-245.

[4] 韩斯琴高娃,包琳,张美玲,等. 利用 SERS 检测盐酸哌替啶和盐酸吗啡注射液[J]. 分析试验室,2017,36(2):160-163.

[5] 吴玉红,宋鹏,邵博. 硅藻土提取尿中士的宁和马钱子碱 LC-MS/MS 测定法[J]. 湖北警官学院学报,2015,28(6):59-63.

[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] 王皓玉,王玉瑾,贾娟,等. 甲基苯丙胺和氯胺酮在家兔体内毒代动力学及相互影响[J]. 中国法医学杂志,2010,25(6):381-385.

[8] 曹洁,武斌,王玉瑾,等. 气/质联用和气相色谱-NPD 法分析唾液中心哌替啶[J]. 中国法医学杂志,2015,30(1):87-91.

(收稿日期:2019-10-21 修回日期:2019-12-30)

(上接第 891 页)

[11] Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Management of patients with stroke: Identification and management of dysphagia [EB/OL]. (2010-07-08) [2019-11-01]. <http://www.sign.ac.uk/guidelines/full-text/119/index.html>.

[12] 王玉花. 神经内科护理人员对脑卒中康复知识知晓率调查[J]. 现代预防医学,2015,42(18):96-98.

[13] 高尚谦,郭海玲,王芳,等. 基于指南的脑卒中吞咽困难识别与管理的循证实践方案的应用[J]. 中华护理杂志,2017,16(12):1623-1627.

[14] 朱瑞云,尤黎明,郑晶,等. 临床护士护理任务执行频率及对任务重要性评估的研究[J]. 中国护理管理,2018,18(6):781-786.

[15] 刘玲,何竟. 护理协调为主导的多学科团队协作模式在卒中后吞咽障碍患者中的应用[J]. 现代临床护理,2017,16(9):64-69.

[16] 李敏,王峥,韩维嘉,等. 多学科团队基于行动研究法对高龄吞咽障碍患者的进食管理[J]. 护理学杂志,2016,31(1):53-56.

(收稿日期:2019-07-28 修回日期:2019-12-03)