

海洛因及其代谢物吗啡的分析研究进展

陈雅倩¹, 常艳兵¹, 张亚平², 徐 凤¹, 杨光明¹, 杨云慧^{1*}

(1. 云南师范大学化学化工学院, 云南昆明 650092)

(2. 昆明学院化学系, 云南昆明 650031)

摘 要: 海洛因是贩毒、吸毒犯罪中主要的毒品,它对全身各组织器官能造成不同程度的损害。因此建立准确、快速、简易的检测方法具有重要的意义。该文就海洛因及其代谢物吗啡的分析研究进展作一简要综述。

关键词: 海洛因; 吗啡; 分析; 研究进展

Development of analysis for heroin and its metabolite—morphine

Chen Ya-qian¹, Chang Yan-bing¹, Zhang Ya-ping², Xu Feng¹, Yang Guang-ming¹, Yang Yun-hui^{1*}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

(2. Chemistry Department, Kunming College, Kunming 650031, China)

Abstract: Heroin is major drug in drug trafficking and drug-abusing crime. It can cause varying degrees of damage to various tissues and organs of the human body. Therefore, setting up accurate, rapid and simple detection method is of great significance. This article presents a brief review of progress on the analysis of heroin and its metabolites—morphine.

Key words: heroin; morphine; analysis; review

0 引言

海洛因又称双乙酰吗啡,是当前滥用倾向最大、依赖潜力最强的毒品。海洛因对阿片受体的亲和力低,但比吗啡的亲脂性大,易通过血脑屏障,它在体内的代谢很快,血中半衰期仅为3~9 min,经体内的酯酶水解成6-单乙酰吗啡,而6-单乙酰吗啡45 min就代谢成吗啡^[1]。使用海洛因初有欣快感,无法集中精神,会产生梦幻现象。过量使用会产生昏睡、呼吸抑制、低血压、瞳孔变小等症状。严重者可出现白细胞增多,体液丢失与体内电解质失调,危及生命或致死。成瘾者对海洛因具高度心理及生理依赖性,难以戒除。因此及时准确检测海洛因及其代谢物吗啡对于防止毒品泛滥,禁毒及戒毒,保护人民身心健康有着极为重大的意义。

1 海洛因及其代谢物吗啡的检测技术现状

目前对海洛因及其代谢物吗啡的检测方法

有:化学发光分析法^[2-3]、显微拉曼测试分析法^[4]、近红外光谱法^[5]、放射性碘标记法^[6]、气相色谱法^[7]、离子质谱分析法^[8]以及高效液相色谱法^[9-10]等。这些方法大致可分为化学显色法和仪器分析法。化学显色法速度快,成本低,但是方法的特异性不是很好;而仪器分析法可提供来源及含量,但测试必须在实验室完成,需要专业技术人员操作^[11],而且在海洛因及其代谢物吗啡的检测过程中,预处理工作烦琐,需进行衍生化处理,还需要昂贵的仪器。另外一些方法需要对海洛因进行放射性标记,具有放射性危害。因此寻找灵敏、快速、简易的检测方法是十分必要的。免疫分析法是近年来发展较快的一种利用抗原抗体反应检测标本中微量物质的方法,基于抗原抗体反应的特异性和敏感性,任何物质只要可获得相应的特异性抗体,即可用免疫分析法测定^[12]。这种方法对样品有要求较低,需要样品量小、特异性好,检测时间短,便捷及可以大批量检测等技术优点。

2 免疫分析技术在海洛因及其代谢物吗啡检测中的应用

现阶段用于海洛因及其代谢物吗啡检测的免疫分析技术主要有放射免疫分析、酶免疫分析、荧光偏振免疫分析等。检测的样品主要有尿样、血样(全血、血清或血浆)、汗液、唾液及毛发等。其应用情况如下:

2.1 放射免疫分析

放射性免疫法是利用放射性同位素对滥用者的唾液和血液进行检测的。这种方法不但准确性好,而且重现性也高,回收率100%。1979年, Baumgartner等^[13]首次用放射性免疫法成功的测试了吸毒者毛发中的海洛因及其代谢产物,并由此对吸毒者进行了用药时段的推断。放射性免疫法可以检测尿液中三种常用药:海洛因、可卡因和大麻的含量。放射性免疫法分析的灵敏度高,可以直接获得吗啡总量。测定吗啡总量范围为1~60 ng/mL^[12]。梁峰等采用放射免疫法(RIA)和 Visualine-II 尿液检测盒(VII)法,分析检测百色地区海洛因依赖者尿液吗啡含量^[14], Narongchai 等用 RIA 测定了海洛因给药后尿中吗啡含量的持续变化,发现给药后连续7天尿吗啡的水平是可测的^[15]。

2.2 酶免疫分析

酶免疫分析克服了放射性同位素所引起的危害,是一种使用具有催化活性的生物酶作为免疫反应标志的一种技术。主要有两种常用的酶免疫分析法。

2.2.1 酶放大的免疫测试技术(EMIT)

此技术的基本原理是酶与药物结合形成酶标药物,酶标药物与特异性抗体结合后,酶受抑制而失去活性,因而不能再催化底物,所以样品中待测药物的浓度与反应体系中酶活力的大小成正比,也与底物颜色反应的深浅成正比,可以通过测定反应体系吸光度的改变来反映样品中药物的浓度^[16]。EMIT可以用来测定吗啡、海洛因、可卡因等多种毒品。商品试剂测定可卡因的检测下限可达0.24 ng/mL^[12]。

2.2.2 酶联免疫吸附测试技术(ELISA)

此技术可以用来测定吗啡、海洛因、可卡因等多种毒品。此方法可以快速、定性检测血清或

尿中的吗啡,而且具有明确可读的优点。Kemp等^[17]对 Neogen 公司研制的鸦片类及苯二氮革类酶联免疫吸附测定微量反应板(ELISA)的适用性进行了考察,发现这两种 ELISA 反应板在20 ng/mL及50 ng/mL,这些临界点上的灵敏度和特异性令人满意。

2.3 荧光免疫分析

在荧光偏振免疫测定中,荧光素标记的抗原与标本中的抗原竞争结合特异性抗体,反应后用单一平面偏振的光源照射,荧光素被激发产生偏振荧光。偏振荧光的强度与分子转动的速度成反比^[18]。利用荧光免疫分析方法的试剂盒,海洛因的检测血浓度是(345.02±132.60) ng/mL。荧光偏振免疫分析方法是检测海洛因血浓度的一种快速可靠的免疫分析方法^[19]。

Gandhi等^[20]已经合成一种新型的乙酰吗啡的羧酸衍生物,它与牛血清白蛋白(BSA)偶联产生多克隆抗体,其目标分子为海洛因和其代谢产物,它与海洛因及其代谢物乙酰吗啡具有良好的结合亲和力。发展了一种基于荧光竞争抑制的免疫分析法用于测定标样及生物样本中的海洛因及其代谢产物,线性范围为0.01~1000 ng/mL。图1展示了吗啡酸性衍生物以及衍生物与载体蛋白的偶联。

2.4 金标免疫层析分析(GICA)

GICA是一种固相免疫分析技术。它一般以玻璃纤维膜和硝酸纤维素膜为载体,用红色的胶体金标记药物抗原或抗体制成免疫胶体金颗粒,并吸附在膜载体上。GICA试剂一般制成纸条形式,目前用于滥用药物检测的免疫胶体金试剂条多以竞争抗原法和竞争抗体法制备而成。这种方法无需特殊设备,操作人员可随身携带试剂条进行测定等优点。目前国内外的免疫胶体金诊断试剂条就是依此原理设计而成,如确定潜血或种属的试剂条,检测吗啡、海洛因、大麻等毒品的试剂条等^[16,21]。Jehanli等^[22]初步尝试着用胶体金颗粒技术与数字成像技术相结合进行大麻和可待因给药后唾液中药物的半定量分析。

2.5 免疫传感器

免疫分析技术在运用于海洛因及其代谢物吗啡的检测中显然还不够成熟。在一些检测中必须将样品带回实验室,特殊训练过的操作人员在

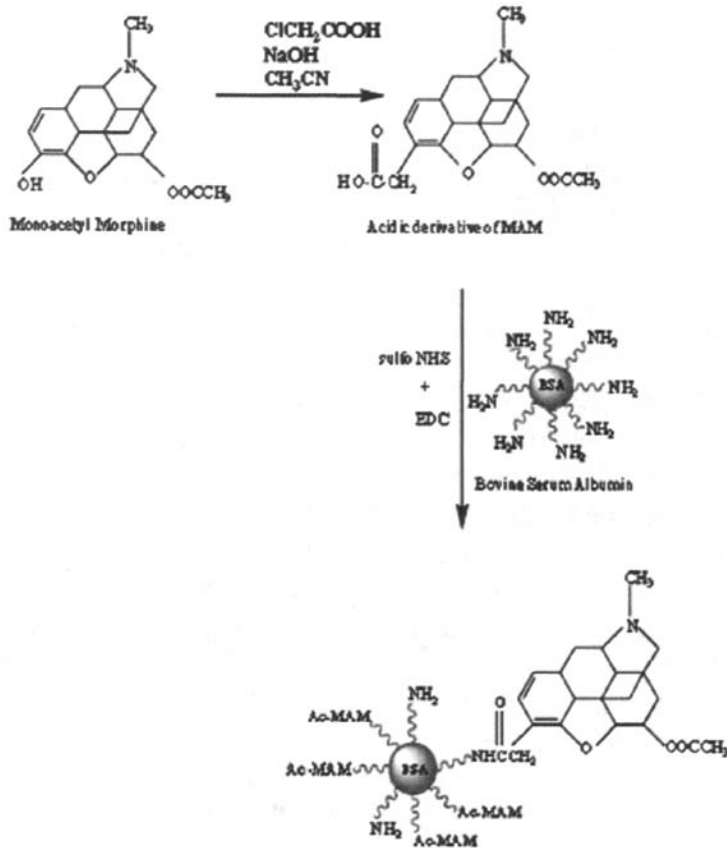


图1 吗啡酸性衍生物合成以及衍生物与载体蛋白的偶联
Fig.1 Acidic derivative of monoacetyl morphine conjugated with BSA

溶液中测定,不能在犯罪现场或急用场合使用。而免疫传感器是一类特殊的化学传感器,它是抗体作为生物敏感基元,对目标物具有高度选择性的检测器。具有灵敏度高、准确度高、选择性好、检测限低、价格低廉、稳定性好、能在复杂的体系中进行快速在线连续监测等特点,测定完全符合自动化和简便化的要求,达到“病人身边检验”的效果。由于海洛因及其代谢物是小分子的有机化合物,本身不具备免疫原性,必须与一个大分子的蛋白(比如牛血清白蛋白、G蛋白)共价结合才能获得针对该海洛因的抗体应答,所以无论载体是什么蛋白质,总可以以下列功能基团与抗原进行偶联反应:如游离羧基,氨基,酚基等。在合成海洛因抗原之后,经分离纯化后,就可以免疫实验动物。经过一段时间后,收集免疫血清,即可获得抗体^[12]。目前市场中已合成了海洛因偶联物和被胶体金标记的抗海洛因单克隆抗体,并

制作了海洛因胶体金法检测试剂盒,但也只能进行定性的筛选鉴定,不能确定海洛因在尿样中的含量。Sakai等^[23]将吗啡与牛血清蛋白偶联进行动物免疫实验获得抗吗啡抗体,构建了基于表面等离子体共振(SPR)技术的吗啡免疫传感器。

吗啡-3-葡糖苷酸(M3G)是海洛因和吗啡的主要代谢产物,并可以作为药物滥用检测中的标记物。Dillon等^[24]已经合成了由M3G和卵清蛋白构成的偶联物,并用来生产抗体并固定到BIAcore芯片上。构建了基于表面等离子体共振(SPR)技术吗啡生物传感器。

3 安培法测定吗啡的含量

基于安培直接检测的电化学方法可以使吗啡传感器更加简便和稳定。Ho等在掺锡的氧化铟电极(ITO)修饰上普鲁士蓝后,对吗啡的催化氧化有良好的响应,具有较高的灵敏度和稳定

性。检测限为 5.0×10^{-7} mol/L, 峰电流与吗啡浓度在 0.09~10 mmol/L 范围内成线性关系^[25]。Pournaghi-Azar 等在涂有钯的铝电极表面修饰了普鲁士蓝后制得可同时吗啡和可待因进行安培测定的化学修饰电极^[26]。

4 展望

总之这些物理化学的分析方法, 对于海洛因及其代谢物的控制发挥了重要作用。当然这些方法的使用可能受到样品处理等因素的限制, 并且各种方法之间还存在相互印证的问题。发展新的分析方法, 设计能用于犯罪现场检测海洛因及其代谢物的传感器及测试技术, 提高传感器的稳定性和灵敏度, 将是该领域研究的主要方向。随着科学技术的进步, 新的灵敏、快速、高效、准确的分析方法将不断涌现, 并得到越来越广泛的应用。

参考文献

- [1] 彭司勋. 药物化学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007. 135~135.
- [2] 孙宇峰, 黄行九, 王连超, 等. 化学发光法快速检测海洛因[J]. 光谱实验室, 2004, 21(4): 664~667.
- [3] Hill L A, Lenehan C E, Francis P S, et al. A screening test for heroin based on sequential injection analysis with dual-reagent chemiluminescence detection [J]. Talanta, 2008, 76(3): 674~679.
- [4] 赵金涛, 徐存英, 段云彪, 等. 痕迹走私海洛因显微拉曼测试分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(4): 589~590.
- [5] 吴国萍, 相秉仁. 近红外光谱法非破坏性同时测定海洛因、O⁶-单乙酰吗啡、乙酰可待因[J]. 分析化学研究简报, 2007, 35(4): 552~554.
- [6] 李宇国, 高峰, 张小东, 等. 放射性碘标记海洛因的初步研究[J]. 化学通报, 2001, 32(8): 501~503.
- [7] 许庆琴, 杜黎明, 曹玺琨. 气相色谱法同时测定大麻、海洛因和鸦片中的 8 种组分[J]. 分析化学研究简报, 2003, 31(8): 961~964.
- [8] 张晶, 漆亮, 杨丽萍. 运用等离子质谱分析毒品中有效杂质研究[J]. 云南师范大学学报, 2000, 20(3): 56~59.
- [9] 阳波, 王佐, 万载阳. 高效液相色谱法测定血清中海洛因[J]. 中国药房, 1999, 10(6): 266~266.
- [10] 汤芳萍, 杨立香. 高效液相色谱法测定复方樟脑酊中吗啡含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(14): 1 227~1 228.
- [11] 张丽敏. 酶联放大免疫测试方法在毒品检测中的应用[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2005, 11(6): 361~362.
- [12] 彭亦如, 林昌铨. 免疫分析法在毒品检测中的应用[J]. 引进与咨询, 2003, 18(3): 39~41.
- [13] Baumgartner A M, Jones P F, Baumgartner W A, et al. Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories[J]. J. Nucl. Med, 1979, 20(7): 748~752.
- [14] 梁峰, 徐群清, 陆贤杰, 等. 百色地区海洛因依赖者尿吗啡的检测分析[J]. 右江学族医学院学报, 1999, 21(5): 725~726.
- [15] Narongchai P, Sribanditmonkol P, Thampithug S, et al. The duration time of urine morphine detection in heroin addicts by radioimmunoassay [J]. J Med. Assoc. Thai, 2002, 85(1): 82~86.
- [16] 叶磊. 免疫分析法及其在药物滥用检测中的应用[J]. 中国法医学杂志, 2004, 19(2): 119~121.
- [17] Kemp P, Sneed G, Kupiec T, et al. Validation of a microtiter plate ELISA for screening of postmortem blood for opiates and benzodiazepines [J]. J Anal. Toxicol., 2002, 26(7): 504~512.
- [18] 陶义训. 免疫测定进展[J]. 上海免疫学杂志, 1999, 19(2): 65~67.
- [19] 张海鹏. 免疫分析方法在毒物毒品检测中的应用与进展[EB/OL]. <http://www.falunwen.com/Article/xsqk/704.html>, 2008-11-27.
- [20] Gandhi S, Sharma P, Capalash N, et al. Group-selective antibodies based fluorescence immunoassay for monitoring opiate drugs[J]. Anal. Bioanal. Chem., 2008, 392(1-2): 215~222.
- [21] 李兆隆, 王俭. 免疫胶体金技术及其法医学意义[J]. 中国法医学杂志, 2002, 17(2): 123~125.
- [22] Jehanli A, Brannan S, More L, et al. Blind trials of an on-site saliva drug test for marijuana and opiates [J]. J Forensic. Sci., 2001, 46(5): 1 214~1 220.
- [23] Sakai G, Ogata K, Ud T, et al. A surface plasmon resonance-based immunosensor for highly sensitive detection of morphine[J]. Sens. Actuators, B, 1998, 49(1, 2): 5~12.
- [24] Dillon P P, Daly S J, Manning B M, et al. Immunoassay for the determination of morphine-3-glucuronide using a surface plasmon resonance-based biosensor [J]. Biosens. Bioelectron., 2003, 18(2): 217~227.
- [25] Ho K C, Chen C Y, Hsu H C, et al. Amperometric detection of morphine at a Prussian blue-modified indium tin oxide electrode [J]. Biosens. Bioelectron., 2004, 20(1): 3~8.
- [26] Pournaghi-Azar M H, Saadatirad A. Simultaneous voltammetric and amperometric determination of morphine and codeine using a chemically modified-palladized aluminum electrode [J]. Journal of Electroanal. Chem, 2008, 624(1-2): 293~298.