

医院毒物分析简介

第二军医大学药理学系 孔庆洪

医院中毒病人经常有, 根据文献报道有的医院收治中毒病人占内科住院总数的2%⁽¹⁾如涉及服药后毒副反应住院的病人则所占比例更多一些⁽²⁾, 但医院能立即化验的不多, 所以化验不及时是经常发生的问题。今就医院怎样开展毒物分析工作谈一些粗浅的体会, 并就常见的安眠药与农药中毒简要介绍。

一、医院毒物分析特点

毒物分析是与体内药物分析有关, 但有不同之处, 有已知的分析检体, 也有仅具备一定线索的未知物测定, 并且分析又要迅速与正确, 因此应注意三点:

1. 需与医生密切合作, 了解病人中毒经过, 分析病人症状, 收集适当检体, 对可能是什么中毒提供适当线索, 但有时因病人已昏迷, 家属又不太了解, 提供的线索不一定可靠, 检索的范围应根据医生要求略为放宽一些。

2. 医院开展毒物分析事先要有充分的准备工作: (1)了解与收集本地区常见毒物的对照品, 配成乙醇对照液(每毫升含10 μ g或1 μ g)。(2)熟悉有关的分析方法, 如紫外、红外图谱, 层析条件定量方法等都要事先准备与练习。(3)准备各种常用试剂, 有些要新配或冷藏, 严防污染或失效。(4)对分析的样品要从多方面考虑与准备, 毒物分析样品量有限, 尽量一个检体能多次利用。

3. 医院毒物分析常用检材: (1)首次胃洗液(不加高锰酸钾)100~500ml与全部呕吐物。(2)服药后24小时尿50~100ml。(3)血液、已知药物验证5~10ml、未知毒物探索20ml。(4)病人身旁的剩余药品或食物。

二、分析方法

毒物分析分为提取分离与测试、定量三部分, 采用的方法可根据医院分析室实验条件而定, 本文重点介绍适用于基层医院开展工作的一般方法与近代方法。

(一)提取分析

著名的Stas-otto乙醇提取法⁽³⁾对医院毒物分析并不适用, Bader(1972)⁽⁴⁾分析了十五万个中毒尿样总结出分析方法与Goldbaum(1980)⁽⁵⁾报道临床毒物系统分析法都是取检体一定量, 用有机溶剂提取分为酸性、中性及碱性三个部分, 然后用适当方法进行试验。

对于农药中毒分析, 因农药种类极多, 除含氯杀虫剂已较少见外。有含磷杀虫剂中毒; 近年来尚有含氮杀虫剂中毒, 如呋喃丹中毒症状与含磷杀虫剂类似; 有因误为有机磷中毒, 用解磷毒治疗无效而死亡; 杀灭菊酯亦有急性中毒报告, 所以对于农药中毒的检体, 因有些农药极性较大, 且农药本身易挥发损失, 有其特殊的提取分离法, 今将我们常用的尿或胃内容物提取法介绍如下:

1. 尿、胃洗液中药物的提取分离 尿或胃洗液20~40ml加2个当量H₂SO₄约至pH2, 用2~3倍乙醚振摇5分钟, 分出乙醚液, 用5ml水洗涤与检液合并, 乙醚液用0.45N NaOH液10ml振摇3分钟, 0.45N NaOH液中含巴比妥弱酸性类药物, 醚液蒸干后, 加乙醇5ml溶解含中性药物, 水溶液加浓氨水至pH10用与检液等量氯仿提取, 分出氯仿液含碱性药物。

2. 尿或胃洗液中农药的提取分离 尿或胃洗液20~40ml用双倍量二氯甲烷提取振摇5分钟, 分出二氯甲烷液, 加无水硫酸钠

除去水份, 45°水浴蒸发约至1~2 ml内含有机磷杀虫剂、有机氮杀虫剂与杀灭菊酯等。

(二) 检验方法

1. 化学检验法 简单快速但灵敏度低, 检体用量大, 且应用化学检验出后的检材, 大都已无法利用, 所以仅有少数灵敏度高的颜色反应可作为某类药物的筛分反应, 如尿1ml加5%三氯化铁溶液1滴、浓硫酸4~5滴、苯并噻嗪类呈橙色或红紫色, 又尿1ml加20%氢氧化钠液与纯吡啶各1ml在沸水浴加热1分钟, 水合氯醛尿呈粉红色(同时进行空白试验)。一氧化碳中毒, 取检血2滴, 加水1ml稀释, 再加入10%氢氧化钠液1~2滴, 一氧化碳血呈鲜红色, 常血呈草黄色。但化学检验法大部分仅用在检材中含量高或经其他试验已证明可能为某种剧毒药物后作为样品检查的补充确证反应。在医院毒物分析中最方便快捷的是紫外法结合薄层分析法, 或单独用多种系统或显色剂的薄层分析法。

2. 紫外分光光度法 紫外法测定灵敏度有限, 专一性不强, 但适用于剧毒药物的分类试验, 也有许多药物的紫外吸收光谱结合薄层层析可以作为确证方法。

当然紫外无特殊吸收不能说无剧毒药物存在, 但紫外测定法是非破坏性的。将测定的有机溶液直接浓缩至小量体积, 或将水溶液可继续进行其他试验。测定紫外分光光度法最好有自动扫描的紫外分析仪, 如用751G每隔5 nm测定一次数据, 绘制吸收曲线, 亦同样能达到目的。如检材的酸性水溶液提取后, 用0.45N氢氧化钠液振摇, 分出水溶液, 用紫外自动扫描仪绘制吸收曲线, 即可了解巴比妥类药物是否存在; 将此有机溶剂蒸干后, 加乙醇溶解, 紫外扫描测定, 即可了解是否有利眠宁、安眠酮存在; 检材的水溶液加氨水碱化后, 用氯仿提取后蒸干, 加乙醇或0.1N硫酸溶解后经紫外扫描测定, 即可了解是否有氯丙嗪等碱性药物存

在。

常见安眠镇静药的紫外吸收峰

酸性提取物	pH13	pH10	pH2
巴比妥类药物	255nm	240nm	末端
硫代巴比妥	305nm	/	285nm
中性提取物 (溶剂 乙醇)			
利眠宁	244nm		264nm
安定	280nm		320nm
安眠酮	263nm		304nm
硝基安定	253nm		288nm
碱性提取物 (溶剂 乙醇)			
氯丙嗪	268nm		316nm
奋乃静	254nm		304nm
泰而登	230nm	270nm	328nm
可待因	210nm	245nm	284nm

3. 薄层层析法 本法设备简单, 灵敏度高, 不仅可测出各种不同极性的单个药物, 对近年来常发生的多种安眠镇静药中毒也可用来分离检定, 是适用于基层实验室的常用方法, 安眠镇静药通过一种展开剂可检出10种常见药作为预初试验, 再经二种层析系统的分离显色作为补充或确证。薄层板硅胶G(青岛)制成0.3毫米薄层板活化105°C储于干燥器备用。

经紫外测定的有机溶剂液置离心管中蒸干后, 加乙醇90μl溶解残渣后点样, 如为尿或胃洗液用乙醚或氯仿分别在酸性 中性 碱性条件下提取后分别点样(点样量分1μl与10μl两种浓度), 在薄层板上用氯仿-丙酮(9:1)展开, 酸性部分用苯巴比妥、速可眠、异戊巴比妥与苯妥英作对照, 喷雾硫酸汞试剂呈现白色斑, 再喷二苯偶氮碳酰肼呈兰紫色斑; 中性部分用利眠宁、安定、安眠酮作对照展开完毕, 先在荧光灯下观察安定呈现蓝色荧光, 再喷碘化铋钾呈现棕色斑; 碱性部分以氯丙嗪、泰尔登、奋乃静为对照层析完毕, 泰而登呈现蓝色荧光, 喷50%乙醇硫酸试剂, 氯丙嗪、奋乃静为粉红色斑, 泰尔登呈现棕黄色斑。

常见安眠镇静药薄层层析预初试验

硅胶G 展开剂：氯仿丙酮(9:1)

酸性部分Rf	中性部分Rf	碱性部分Rf
速可眠 0.46	安眠酮0.73	泰尔登0.13
异戊巴比妥0.40	安定0.61	氯丙嗪0.07
苯巴比妥0.24	利眠宁0.13	奋乃静0.03
苯妥英 0.21		

经预初试验发现可能有某类或某药物存在，用适当层析系统点样展开并用更多的对照药物，与显色剂验证酸性药物用苯；丙酮(8:2)，氯仿：异丙醇：氨水(45:45:10)显色剂，除用硫酸汞试剂-苯偶氮碳酸肼外，尚可用香荚醛硫酸试剂，中性药物用苯；氯仿：无水乙醇(8:1:1)，氯仿：乙醇(36:1)；安宁用2%二甲氨基苯甲醛盐酸液或碘蒸气显色；碱性药物用氯仿：异丙醇：乙二胺(180:20:10)，苯：丙酮：氨水(15:6:0.5)展开，除用50%乙醇硫酸为显色剂外，尚可另用碘化铯钾试剂显色。

杀虫剂用正己烷-丙酮7:3为展开剂展开后，薄层板经紫外灯254nm照射20分钟后，杀灭菊酯呈现蓝色荧光，用溴刚果红为显色剂，已知农药作对照，乐果等硫代磷酸酯农药，与呋喃丹、杀灭菊酯为对照呈现红底蓝色斑点；另一薄层板展开后以敌敌畏、敌百虫为对照，喷间苯二酚与5%氢氧化钠，敌敌畏、敌百虫呈现红色斑点。

常用农药薄层层析预初试验(Rf值)

层析板	硅胶G	展开剂	正己烷:丙酮7:3
对硫磷	0.64	敌敌畏	0.32
马拉硫磷	0.53	敌百虫	0.22
异稻瘟净	0.48	杀灭菊酯	0.56
乐果	0.26	呋喃丹	0.35

经预试验发现可能有某种农药存在，可再用适当展开剂与显色剂对照试验；如硫代磷酸酯及敌敌畏可用对硝基苄基吡啶-乙二胺喷雾呈现蓝色斑，也可用酶抑制薄层分析试验法，但此法对各种农药灵敏度相差很

远，适用于单个农药的检测，不适用混合农药的检测。

本法在10毫升模拟胃液检体中，加入敌敌畏、乐果、马拉硫磷、呋喃丹各10微克，经二氯甲烷提取后，如法进行薄层层析，均能全部检出。

农药中毒的分析除用薄层分析法，可鉴别检体中存在什么农药外，我们还有一种快速农药中毒预初试验法，对含磷农药中毒仅须20分钟即能得到结果，这方法的原理与试验方法如下：

有机磷农药中毒予试验原理：乙酰胆碱与溴麝香草酚蓝(BTB)指示剂调成pH 7.4~7.6后制成试纸，滴加血清后，因血清中胆碱酯酶的作用，使乙酰胆碱水解成乙酸与胆碱，正常人血清内酶活力高，水解出乙酸多，使BTB指示剂变成红色，反之如为有机磷农药中毒酶活力降低，水解出乙酸少，指示剂呈绿色或蓝色。

乙酰胆碱BTB试纸的制备：称取溴麝香草酚蓝0.14克，溴化乙酰胆碱0.23克，加无水乙醇20ml溶解，以0.4N NaOH液调节pH 7.4~7.6，用优级定性滤纸浸入上述溶液中，取出凉干，成桔黄色，剪成小片，储棕色瓶中备用。

试验方法：取乙酰胆碱BTB试纸1.5cm²二方，分别滴加中毒病人血清，滴与正常人血清1滴，用玻片夹紧在37℃放置20分钟后，观察试纸变色情况：

中毒程度	乙酸量(酶活力)	指示剂色
正常	+++	桔红色
轻度中毒	++	褐色
中度中毒	+	浅褐色
严重中毒	0	褐绿色
危险	0	绿色

这种以紫外扫描与薄层分析为主，辅以快速专一的颜色反应的分析方法，对常见毒物，从提取开始，一般经过2小时可得到结

果。对不常见的剧毒物质的分析,首先找对照品,了解提取方法,层析方法与检测试剂,当然,时间要多一点,但大部分都能给医师满意答复。

(三) 定量分析

经毒物分析确证病人为某种药物或农药中毒物,必要时还须进行定量,如胃洗液中发现大量安眠药,必须建议医师继续洗胃,在每次洗胃后可见到药物浓度下降情况,如胃洗液中药物浓度不高,而血液中药物浓度很高,病人昏迷不醒,可建议医院利用人工肾,进行血液体外循环排毒治疗。

(四) 其他仪器分析法

如医院中仪器设备较好,对病人的残留药物或口服大量药物胃液内容物、呕吐物、洗胃液等,经过纯化处理后用溴化钾压片可得到红外光谱与标准图谱对比,作为鉴别用。对毒物分析中含量较低的检体可用气相色谱或高效液相色谱法结合薄层层析根据对照品的保留时间进行定性复核或定量^(8~10),尤其是气质计算机联用或液质计算机联用在临床毒物分析上的应用更有快速与正确的特点⁽¹¹⁾,因为质谱灵敏度高检测限量可至微克或甚至毫微克级,有机化合物在规定条件下经电子流轰击裂解成一系列的质量碎片,与其相对强度是一定的,通过某质谱的辨认即可肯定为某一化合物。Law⁽¹²⁾首先提出了根据五十种剧毒物质谱的五个质量碎片的强峰作为剧毒药物鉴定的方法,选用五个强峰的方法很简便但不能区别异构体。Finkle⁽¹³⁾提出了自质荷比34起,按每隔14个质量单位,将质谱分为30片段,每个片段选出一个强峰,由此可鉴定分子量小于453的各个化合物。以气相色谱仪质谱计算机联用,收集了各种常见剧毒物质的按上述规定的质谱图置计算机贮存库内,当毒物样品用有机溶剂提取后,蒸去溶剂,用甲醇溶解后进样,产生气相

色谱峰,进入质谱仪经电子轰击产生按规定列出谱中30个数据后,立即由计算机自动搜索,找出误差最少的几个标准化合物对比,一般检体中待测物质与标准图谱比较,凡属同一化合物碎片离子峰差异数(Mismatches)不会大于3个,再结合出峰时间即可作为确证,例如检查某病人尿液是否服过美沙酮,尿液经氯仿直接提取的蒸发残渣溶入无水甲醇使成100ng/ μ l,注入色谱仪(2.5% se 30/chromosorb G)得色谱峰,进入质谱仪,得一系列质量碎片峰,经计算机自动核对,证明与美沙酮代谢物完全一致,问题迅速解决。

当然有些仪器测试的效果虽好,但价格昂贵,我们基层实验室惟有选择适当方法,才切实可行。

(冯永求同志参加部份实验,表示谢意)。

参 考 文 献

- [1] 汤仲武: 重庆医药1983, 6 : 31
- [2] 姚伯仲: 贵州药讯, 1984, 1 : 34
- [3] 黄鸣驹: 毒物分析化学(1956)
- [4] Bader, M.M.: Am. J. Clin. Path., 1972, 57:42
- [5] Goldbaum, L.: Clin. Toxicology, 1980, 17:319
- [9] 牛云华: 新医学, 1983, 14:302
- [7] 宿振坤: 中级医刊, 1983, 5 : 297
- [8] Roerig, D., L.: J. Chromatogr., 1975, 110:34
- [9] desiliva, J., AF, J. Pharm, Sci., 1966, 55, 693
- [10] Donald, N., J. Lig. Chromatogr., 1980, 3 : 342
- [11] Thoma, J., J. Guidelines for Anal. Tixology 1978, Vol 11, P89
- [12] Low, N., C.: Clin. Chim. Acta., 1971, 30:22
- [13] Finkle, B., S., J. Chromatogr. Scien., 1972, 10:312