

· 论 著 ·

药物辅助犯罪案件血液中右美托咪定的检测分析

翟文娅^{1,2}, 武丽娜¹, 阳硕¹, 沈保华¹, 施妍¹

1. 司法鉴定科学研究院 上海市法医学重点实验室 司法部司法鉴定重点实验室 上海市司法鉴定专业技术服务平台, 上海 200063; 2. 西安交通大学医学院, 陕西 西安 710061

摘要: 目的 建立一种简便快速的血液中右美托咪定定性定量检测方法。方法 血液经乙腈沉淀蛋白并过滤后, 在 Allure PFP Propyl 液相色谱柱上分离, 等度洗脱。采用正离子模式、多反应监测模式对右美托咪定进行定性定量分析。结果 血液中右美托咪定的检出限为 0.2 ng/mL, 定量限为 0.5 ng/mL, 在 0.5~1 000 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.99。该方法准确度为 90.34%~112.67%, 提取回收率为 50.05%~91.08%, 无明显的基质效应。结论 该方法样品前处理简单、选择性好, 适用于血液中右美托咪定的定性定量分析, 能够为涉右美托咪定的药物辅助犯罪案件提供借鉴和参考。

关键词: 法医毒物化学; 药物辅助犯罪; 右美托咪定; 液相色谱-串联质谱; 血液

文章编号: 1004-5619(2023)05-0452-05

中图分类号: R89; DF795.1; D919.1

doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2022.320306

文献标志码: A



Detection and Analysis of Blood Dexmedetomidine in Drug-Facilitated Cases

ZHAI Wen-ya^{1,2}, WU Li-na¹, YANG Shuo¹, SHEN Bao-hua¹, SHI Yan¹

1. Shanghai Key Laboratory of Forensic Medicine, Key Laboratory of Forensic Science, Ministry of Justice, Shanghai Forensic Service Platform, Academy of Forensic Science, Shanghai 200063, China; 2. School of Forensic Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract: Objective To establish a simple and rapid qualitative and quantitative detection method of dexmedetomidine in blood. **Methods** Blood was separated on the Allure PFP Propyl liquid chromatography column with isocratic elution after it was precipitated by acetonitrile and filtered. Qualitative and quantitative analysis of dexmedetomidine was performed using positive ion scan mode and multi-reaction monitoring mode. **Results** The limit of detection of dexmedetomidine in blood was 0.2 ng/mL and the limit of quantification was 0.5 ng/mL. The linearity of the method was good in the range of 0.5~1 000 ng/mL, and the correlation coefficient was greater than 0.99. The accuracy of the method was 90.34%~112.67% and the extraction recovery was 50.05%~91.08%, with no significant matrix effect. **Conclusion** This method is simple, selective and suitable for the qualitative and quantitative analysis of dexmedetomidine in blood, which can provide a reference for drug-facilitated cases involving dexmedetomidine.

Keywords: forensic toxicology; drug facilitated crimes; dexmedetomidine; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; blood

右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)是一种高选择性的 α_2 肾上腺素受体激动剂^[1-4],具有显著的镇静、镇痛和抗焦虑作用。右美托咪定主要与中枢、外周和

自主神经系统中G-蛋白偶联的 α_2 肾上腺素能受体相结合,尤其对 α_2A 和 α_2C 受体的亲和力较高,并在全身各个器官以及血管中发挥作用^[5]。与同样作用于 α_2

基金项目:国家自然科学基金项目(81971789);上海市法医学重点实验室资助项目(21DZ2270800);司法部司法鉴定重点实验室资助项目;上海市司法鉴定专业技术服务平台资助项目

作者简介:翟文娅(1996—),女,硕士研究生,主要从事法医毒物分析研究;E-mail:zhaiwya@163.com

通信作者:施妍,女,副研究员,博士,主要从事法医毒物分析研究;E-mail:shiy@ssfjd.cn

通信作者:沈保华,男,主任法医师,硕士,主要从事法医毒物分析研究;E-mail:shenbh@ssfjd.cn

引用格式:翟文娅,武丽娜,阳硕,等. 药物辅助犯罪案件血液中右美托咪定的检测分析[J]. 法医学杂志, 2023, 39(5):452-456, 464.

To cite:ZHAI W Y, WU L N, YANG S, et al. Detection and analysis of blood dexmedetomidine in drug-facilitated cases[J]. *Fayixue Zazhi*, 2023, 39(5):452-456, 464.

肾上腺素受体的可乐定相比,右美托咪定的镇静效果更强,且对患者的呼吸抑制更小^[6],从而被广泛应用于临床麻醉中。

近年来,利用临床治疗药物来实施犯罪的案件日益增多,右美托咪定作为临床上常用的一种药物,与其他具有麻醉成分的药物同时使用时可增强麻醉的特定效果,起到很好的协同作用,且该药物不受管制,容易获得,放入水或饮料中不易被察觉,因而常被用于药物辅助犯罪(drug facilitated crimes,DFC),如麻醉抢劫、强奸、杀人等犯罪行为,因此亟需建立一种简便快速的方法用于检测血液中的右美托咪定,为其摄入提供客观证据。目前已有的文献^[7-8]报道主要是对血浆中的右美托咪定进行检测分析,分析方法包括GC-MS^[9-10]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography,HPLC)^[11-12]、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry,LC-MS/MS)^[13-15]。据报道^[16],采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry,UPLC-MS/MS)对血液中的右美托咪定进行检测,其检出限(limit of detection,LOD)可低至0.1 ng/mL,但样品前处理采用的是固相萃取,较为复杂。因此,本研究旨在建立一种简单的HPLC-MS/MS方法用于分析血液中的右美托咪定,为相关案件中右美托咪定的检验提供有效的技术手段。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

API 4000 三重四极杆质谱(美国 AB SCIEX 公

司)联合 LC-20AD 液相色谱仪(日本岛津公司),Milli-Q Advantage A10 超纯水处理系统(美国 Millipore 公司),JP-010T 超声波清洗仪(深圳市洁盟清洗设备有限公司),XW-80A 涡旋混合器(上海医大仪器有限公司),MiniSpin[®]迷你离心机(德国 Eppendorf 公司)。

右美托咪定标准品(中国食品药品检定研究院),氘代内标(internal standard,IS)地西洋-D₅(美国 Ceriliant 公司),乙腈、甲醇(美国 Sigma-Aldrich 公司),98% 甲酸(优级纯,美国 Honeywell Fluka 公司),乙酸铵(色谱纯,美国 Honeywell Fluka 公司),去离子水由 Milli-Q Advantage A10 超纯水处理系统制备,其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱为 Allure PFP Propyl 液相色谱柱(2.1 mm×100 mm, 5 μm; 美国 Restek 公司),预柱为 ZORBAX Extend-C18 保护柱(2.1 mm×12.5 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司),流动相为 V(乙腈):V(20 mmol/L 乙酸铵、0.1% 甲酸和 5% 乙腈)=70:30;恒流洗脱 9 min,流速 0.25 mL/min,室温,进样量 5 μL。

1.2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(electrospray ionization,ESI)、正离子模式进行离子化,多反应监测(multiple reaction monitoring,MRM)模式检测;离子喷雾电压 5 500 V,碰撞气 7 lbf/in² (48.26 kPa),气帘气 30 lbf/in² (206.84 kPa),雾化气 40 lbf/in² (275.79 kPa),辅助气 50 lbf/in² (344.74 kPa);离子源温度 500 °C。化合物参数见表 1,选用两对前级离子/产物离子对进行定性分析,其中一对离子对用于定量。

表 1 右美托咪定和 IS 的 MRM 参数和保留时间

Tab. 1 MRM parameters and retention time of dexmedetomidine and IS

化合物	保留时间/min	前级离子	产物离子	去簇电压/V	碰撞能量/V
右美托咪定	6.88	201.1 ¹⁾	95.0 ¹⁾	70	25
		201.1	68.0	70	50
地西洋-D ₅	2.02	290.2 ¹⁾	198.2 ¹⁾	60	45
		290.2	154.4	60	40

注:1)定量离子对。

1.3 溶液配制

称取右美托咪定对照品适量,用甲醇配制成 1 mg/mL 的对照品溶液,随后用甲醇逐级稀释成质量浓度为 100、20、5、1、0.1 μg/mL 的工作液。

取地西洋-D₅ 标准品适量,加甲醇配制成 1 mg/mL 的对照品溶液,再用乙腈逐级稀释成终质量浓度为 40 ng/mL 的工作液。

1.4 血液样品

经过肝素抗凝的空白血液来自健康志愿者,右美托咪定阳性血液样本来自药物辅助犯罪实际案例受害者。本研究已通过司法鉴定科学研究院伦理委员会审查,所有血液样本的采集均有书面知情同意书。

1.5 样品处理

取血液 0.1 mL 置于 2 mL 离心管中,加入 0.9 mL

含内标的乙腈溶液,超声 10 min,涡旋 1 min,以离心半径 2 cm,12 000 r/min,离心 3 min。取上清液过 0.22 μm 有机相微孔滤膜,进行 LC-MS/MS 分析。

1.6 方法学验证

根据国际方法验证指南^[17-18]进行验证,考察该方法的选择性、线性、LOD、定量限(limit of quantitation, LOQ)、准确度、精密度、基质效应、提取回收率和稳定性。

1.6.1 选择性

通过分析来自 10 个不同来源的空白血评估选择性,考察全血中内源性物质以及 IS 对目标物的分析是否存在干扰。

1.6.2 线性、LOD、LOQ

取空白血 1 mL,加入右美托咪定对照品工作液,配制成 0.2、0.5、2、10、50、200、800、1 000 ng/mL 全血样品,按照 1.5 节样品处理方法进行处理和分析。以目标物与内标之间的峰面积比与目标物浓度构建校正曲线,用加权(权重系数 $W_{\text{右美托咪定}}=1/x^2$, x 表示浓度)最小二乘法进行回归得到线性方程。LOD 为信噪比至少为 3($S/N \geq 3$)的浓度,LOQ 为信噪比至少为 10($S/N \geq 10$)、精密度(以相对标准偏差计,relative standard deviation, RSD)小于 20% 且准确度在参照值的 80%~120% 的浓度。

1.6.3 准确度和精密度

取空白血 1 mL,加入右美托咪定对照品工作液,配制成 0.5、2、50、800 ng/mL 全血样品。从各个质量浓度点取 100 μL 全血样品,每个浓度 6 份样品,按照 1.5 节样品处理方法进行处理和分析,计算日内精密度和准确度,并连续 4 d 重复实验,计算日间精密度和准确度。

1.6.4 基质效应和提取回收率

在低(2 ng/mL)和高(800 ng/mL)两个质量浓度制备 3 组样品,分别为提取前添加样品(峰面积设为 S_A)、提取后添加样品(峰面积设为 S_B)、对照品溶液(峰面积设为 S_C),重复 6 次,基质效应= $S_B/S_C \times 100\%$,提取回收率= $S_A/S_B \times 100\%$ 。

1.6.5 稳定性

将提取处理后的高低两个浓度点样品在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的液相色谱仪自动进样器中放置 24 h 以评估处理后样品的稳定性,每个浓度点做 6 个重复样品,并与当天新制备的质量控制样品进行比较。

2 结果

2.1 仪器条件选择

根据右美托咪定的化学结构特点,离子化方式采

用正离子模式。对于质谱条件,在正离子模式下获得最佳的前体离子和产物离子后,在 MRM 模式下对右美托咪定和 IS 的去簇电压进行优化,然后对产物离子的碰撞能量进行优化,两对离子对进行定性,响应强度大的离子对为定量离子对,质谱条件优化结果见表 1。

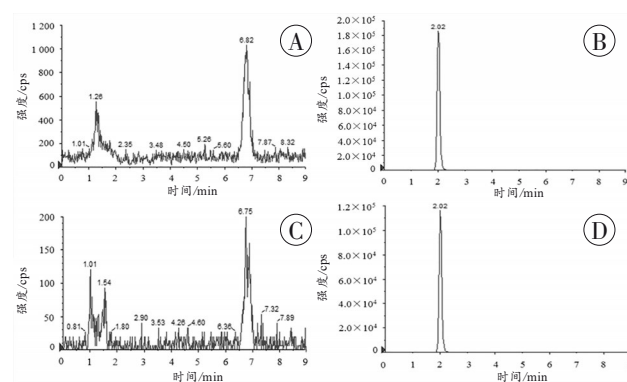
2.2 方法学验证

2.2.1 选择性

分析 10 份空白血液样品后,血样中的内源性物质未干扰右美托咪定的测定。

2.2.2 线性、LOD、LOQ

血液中右美托咪定在 0.5~1 000 ng/mL 质量浓度范围内线性关系良好,线性方程为 $y=0.02307x+0.00022$,相关系数(r)>0.99。LOD 为 0.2 ng/mL,LOQ 为 0.5 ng/mL,血液中 LOQ 质量浓度添加样品中右美托咪定和 IS 的提取离子流色谱图如图 1 所示。



A: 右美托咪定的定性离子对(m/z 201.1/95.0); B: 地西洋- D_5 的定性离子对(m/z 290.2/198.2); C: 右美托咪定的定性离子对(m/z 201.1/68.0); D: 地西洋- D_5 的定性离子对(m/z 290.2/154.4)。

图 1 右美托咪定和 IS 在 LOQ 浓度下的提取离子流色谱图
Fig. 1 Extracted ion chromatograms of dexmedetomidine and IS at LOQ concentration

2.2.3 准确度和精密度

从表 2 可见,右美托咪定的日内精密度和日间精密度分别为 1.98%~4.48%、3.60%~9.34%,准确度为 90.34%~112.67%,表明该方法精密度和准确度良好。

2.2.4 基质效应和提取回收率

结果(表 3)显示,血液中右美托咪定在低和高两个质量浓度点时的基质效应不明显,均值为 93.48%~101.11%。提取回收率为 50.05%~91.08%。

2.2.5 稳定性

结果(表 3)显示,提取处理后的右美托咪定样品在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的自动进样器中放置 24 h 后稳定性良好。

表2 右美托咪定精密度和准确度

Tab. 2 Precision and accuracy of dexmedetomidine (%)

质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内(n=6)		日间(n=24)	
	精密度	准确度	精密度	准确度
0.5	3.40	106.33	3.60	107.56
2	2.40	106.81	8.49	101.60
50	4.48	90.34	9.34	100.59
800	1.98	112.67	5.11	108.47

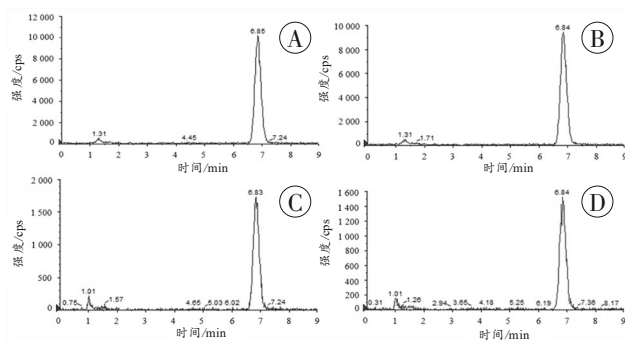
表3 右美托咪定提取回收率、基质效应和稳定性

Tab. 3 Extraction recovery, matrix effect and stability of dexmedetomidine (%)

质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	回收率	基质效应	稳定性(n=6)	
			准确度	精密度
2	50.05	101.11	86.47	1.13
800	91.08	93.48	99.06	2.91

2.3 案例应用

案例1:某市公安局接到2名女性张某、刘某报警称,段某(男)以邀请其到家吃饭为由,劝说张某、刘某喝“水”,一段时间后浑身无力,段某趁机图谋不轨欲对其进行猥亵。警方在段某家中发现碗内残留的无色液体,并提取了张某、刘某当天的血液和案件发生后第三天的血液和尿液。根据本研究建立的方法,对剩余的无色液体进行检测,发现含有右美托咪定成分。对张某、刘某报案当天的血液进行检测,同样含有右美托咪定成分,质量浓度分别为5.1、4.6 ng/mL,色谱图见图2。对张某、刘某案发后第三天的血液和尿液进行检测,未检出右美托咪定成分。



A: 张某,定性离子对(m/z 201.1/95.0); B: 刘某,定性离子对(m/z 201.1/95.0); C: 张某,定性离子对(m/z 201.1/68.0); D: 刘某,定性离子对(m/z 201.1/68.0)。

图2 案例1血样中右美托咪定的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of dexmedetomidine in the blood samples of case 1

案例2:某市公安局接到秦某(女)报警称,其在KTV吃了胡某(男)给的口香糖后出现意识模糊,随后遭到胡某性侵。警方收缴了胡某所携带的口香糖、蓝

色药片、外包装为棕褐色安瓿瓶内的无色液体以及外包装为标有“床前明月光”字样玻璃瓶内的无色液体。采用本研究方法对口香糖、蓝色药片和2种无色液体成分进行检测,发现口香糖和外包装为标有“床前明月光”字样玻璃瓶的无色液体中均含有右美托咪定成分。参照本实验室已有方法^[19]进行检测,发现蓝色药片中含有三唑仑成分,外包装为棕褐色安瓿瓶的无色液体中含有亚达唑散成分。

3 讨论

3.1 前处理条件选择

血液样品常采用的处理方法主要包括液液萃取、固相萃取和蛋白质沉淀法,液液萃取和固相萃取均具有样品富集与净化的功能,因此可在一定程度上提高检测灵敏度,如王瑞花等^[16]采取固相萃取的方法对血液中的右美托咪定进行检测,LOD低至0.1 ng/mL,但液液萃取和固相萃取操作复杂、费时,成本也较高。而蛋白质沉淀法操作简单,无需特殊装置便可进行。因此本研究采用简单快速的蛋白质沉淀法对0.1 mL血液样品进行处理,LOD为0.2 ng/mL,与王瑞花等^[16]报道的LOD相近,LOQ为0.5 ng/mL,可满足法医学鉴定实践和临床检测的要求。

3.2 案例回顾

近年来,右美托咪定因其优良的辅助麻醉效果而在临床实践中应用广泛,但也常常被不法分子作为作案的辅助工具。正如本研究中案例1所示,由于右美托咪定本身无色无味,因此被放入水或饮料中也不易被察觉。此外,右美托咪定被用于非法目的时一般不会单独使用,常常结合其他具有镇静、催眠或麻醉效果的药物同时使用,如本文案例2中的三唑仑以及其他文献所报道的东莨菪碱^[16],这些物质与右美托咪定合用时具有较好的协同作用,而案例2中的亚达唑散是一种选择性高的α₂受体阻断药,可以很好地阻断右美托咪定的α₂肾上腺素受体激动剂作用,有时会被犯罪分子随身携带作为“解药”,因此在检测右美托咪定的同时需要注意排查是否伴有其他物质的可能性。

本研究建立了HPLC-MS/MS法检测血液中的右美托咪定,该方法前处理简单,选择性好,灵敏度较高,适用于药物辅助犯罪案件的分析检测。

参考文献:

[1] 徐斐,敖虎山. 盐酸右美托咪定的临床应用[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(4): 401-403. doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2015.04.025.
XU F, AO H S. Clinical application of dexmedetomidine hydrochloride[J]. Zhongguo Xunhuan Zazhi,

- 2015,30(4):401-403.
- [2] CHEN J, ZHOU J Q, CHEN Z F, et al. Efficacy and safety of dexmedetomidine versus propofol for the sedation of tube-retention after oral maxillofacial surgery[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 72(2):285.e1-285.e7. doi:10.1016/j.joms.2013.10.006.
- [3] TASBIHGOU S R, BARENDIS C R M, ABSALOM A R. The role of dexmedetomidine in neurosurgery[J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2021, 35(2):221-229. doi:10.1016/j.bpa.2020.10.002.
- [4] WANG G, NIU J, LI Z, et al. The efficacy and safety of dexmedetomidine in cardiac surgery patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0202620. doi:10.1371/journal.pone.0202620.
- [5] 徐蓉蓉, 黄文起. 右美托咪定药代动力学和药效动力学的研究进展[J]. *广东医学*, 2012, 33(8):1037-1040. doi:10.13820/j.cnki.gdyx.2012.08.071.
- XU R R, HUANG W Q. Research progress in pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine[J]. *Guangdong Yixue*, 2012, 33(8):1037-1040.
- [6] BHANA N, GOA K L, MCCLELLAN K J. Dexmedetomidine[J]. *Drugs*, 2000, 59(2):263-268. doi:10.2165/00003495-200059020-00012.
- [7] CHAMADIA S, PEDEMONTE J C, HOBBS L E, et al. A pharmacokinetic and pharmacodynamic study of oral dexmedetomidine[J]. *Anesthesiology*, 2020, 133(6):1223-1233. doi:10.1097/ALN.0000000000003568.
- [8] 任莉, 徐波, 张兴安, 等. LC-MS/MS法测定人血浆中盐酸右美托咪定的浓度[J]. *中国药房*, 2014, 25(2):126-128. doi:10.6039/j.issn.1001-0408.2014.02.10.
- REN L, XU B, ZHANG X A, et al. Determination of dexmedetomidine hydrochloride in human plasma by LC-MS/MS[J]. *Zhongguo Yaofang*, 2014, 25(2):126-128.
- [9] 王瑞花, 刘锐, 栾玉静, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱法检验人血浆中的右美托咪定[J]. *中国法医学杂志*, 2017, 32(5):497-499. doi:10.13618/j.issn.1001-5728.2017.05.014.
- WANG R H, LIU R, LUAN Y J, et al. Determination of dexmedetomidine in human plasma by solid phase extraction with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Zhongguo Fayixue Zazhi*, 2017, 32(5):497-499.
- [10] HUI Y H, MARSH K C, MENACHERRY S. Analytical method development for the simultaneous quantitation of dexmedetomidine and three potential metabolites in plasma[J]. *J Chromatogr A*, 1997, 762(1/2):281-291. doi:10.1016/S0021-9673(96)00965-X.
- [11] 李鸿雁, 张顺利, 刘珍仁, 等. HPLC法测定盐酸右美托咪定有关物质[J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(12):2193-2198. doi:10.16155/j.0254-1793.2015.23.
- LI H Y, ZHANG S L, LIU Z R, et al. Determination of the related substances in dexmedetomidine hydrochloride by HPLC[J]. *Yaowu Fenxi Zazhi*, 2015, 35(12):2193-2198.
- [12] 高存强, 韦艳丽, 马仕珉, 等. HPLC法测定盐酸右美托咪定及注射剂中的R-异构体[J]. *中国医药导报*, 2010, 7(18):63-64. doi:10.3969/j.issn.1673-7210.2010.18.030.
- GAO C Q, WEI Y L, MA S M, et al. Determination of R-isomer in dexmedetomidine hydrochloride and its injection by HPLC[J]. *Zhongguo Yiyao Daobao*, 2010, 7(18):63-64.
- [13] LI W J, ZHANG Z J, WU L L, et al. Determination of dexmedetomidine in human plasma using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection: Application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(5):897-904. doi:10.1016/j.jpba.2009.06.012.
- [14] 赵燕, 李鹏博, 李坤潮, 等. UPLC-MS/MS同时检测比格犬血浆地佐辛及右美托咪定浓度[J]. *中国药师*, 2020, 23(10):2033-2036. doi:10.3969/j.issn.1008-049X.2020.10.037.
- ZHAO Y, LI P B, LI K C, et al. Simultaneous determination of dozosin and dexmedetomidine in beagle plasma by UPLC-MS/MS[J]. *Zhongguo Yaoshi*, 2020, 23(10):2033-2036.
- [15] LIU H C, SUN W, WANG C Y, et al. Determination of dexmedetomidine in children's plasma by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and application to pharmacokinetic study[J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1023/1024:30-35. doi:10.1016/j.jchromb.2016.04.051.
- [16] 王瑞花, 栾玉静, 董颖, 等. UPLC-MS/MS检测血液中的东莨菪碱和右美托咪定[J]. *刑事技术*, 2018, 43(4):301-305. doi:10.16467/j.1008-3650.2018.04.009.
- WANG R H, LUAN Y J, DONG Y, et al. Simultaneous determination of scopolamine and dexmedetomidine in blood sample using ultra-performance liquid chromatography mass spectrometry[J]. *Xingshi Jishu*, 2018, 43(4):301-305.
- [17] PETERS F T, DRUMMER O H, MUSSHOFF F. Validation of new methods[J]. *Forensic Sci Int*, 2007, 165(2/3):216-224. doi:10.1016/j.forsciint.2006.05.021.