

# 同时测定尿液中七种安非他命类毒品的法医毒理学研究

Jeremy Netto, 沃特世公司

## 目的

验证使用在线SPE系统（ACQUITY® 在线SPE自动样品前处理系统）能够有效消除样品的基质效应，并改进尿液中安非他命的LC/MS分析。

## 背景

安非他命可增强大脑中与神经递质多巴胺和去甲肾上腺素有关的活动。上世纪六、七十年代，安非他命在随着“流行文化”广泛传播（俗称Speed）并常被滥用，但目前安非他命的使用已经受到严格的控制与监督。

然而，在过去几年中，安非他命和它的一些衍生物（如甲基苯丙胺、MDMA、MDA等）作为消遣性毒品的和违禁药物，在全世界范围内变得非常流行。遗憾的是，这些精神药物通常是以非法的药物生产操作进行制造，并很快流入市场。高剂量的安非他命类药物可产生狂喜的感觉或者高度兴奋状态，但同时潜在非常大的毒性、极

## 通过样品制备提升安非他命的分析灵敏度

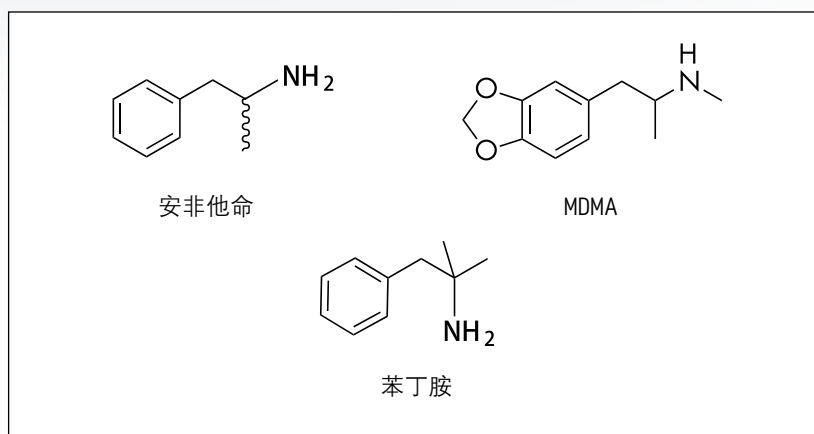


图1. 几种安非他命类药品的结构。

易上瘾，甚至致命。这类药品中的许多化合物（例如甲基苯丙胺）对制造者和使用者都特别危险。因此，此类药品导致了許多死亡或者过量服用产生的严重状况，因此针对某些人群进行药物检测的需求与日俱增。在世界各地的派对和夜店，此类毒品的使用已经达到愈演愈烈的地步，故而此类化合物的有效检测在犯罪案例或法医研究中也变得至关重要。

许多毒品测试实验室都会对嫌疑对象的尿液样品中安非他命及其衍生物进行筛查和测定。GC或LC/MS能够完成这些化合物的分析。对于LC/MS分析来说，通常仅选择简单稀释法作为尿液样品制备方法。但是，由于尿液是一种含有多种潜在干扰物的样品基质，这种相对粗糙的样品制备方法会给分析造成一些问题。尿液中潜在的基质干扰会使方法灵敏度降低，并且潜在的交叉污染也会加重仪器维护的负担。同样地，这些干扰物会很快降低分析型LC色谱柱的性能。

### 解决方案

本方案开发了一种结合LC/MS和在线SPE系统（ACQUITY在线SPE自动样品前处理系统-OSM）的法医毒理学方法，用以完成尿液中一组安非他命类化合物的分析。对LC/MS分析前的尿液样品使用SPE样品前处理方法和简单稀释法的结果进行了对比。对比参数包括背景信号、基质干扰和安非他命的分析灵敏度。

### 实验

#### 样品制备方法

将适当浓度的标准品加入到尿液样品中，然后以1:10稀释于10 mM的甲酸铵中。稀释后直接进样，并与使用下述分析条件的在线SPE方法进行对比。

#### 分析系统配置：

|          |  |
|----------|--|
| 系统：      | ACQUITY UPLC®  |
| 质谱仪：     | Xevo® TQD  |
| 色谱柱：     | ACQUITY UPLC HSS T3, 100 Å, 1.8 µm, 2.1 × 50 mm (部件号186003538) |
| UPLC流速：  | 0.5 mL/min   |
| SPE样品制备： | ACQUITY在线SPE管理器 (OSM)  |
| SPE：     | ACQUITY在线SPE管理器C <sub>18</sub> 小柱 (部件号186005672)               |

#### 色谱条件：

|       |  |    |    |
|-------|--|----|----|
| 流动相A： | H <sub>2</sub> O + 5% NH <sub>4</sub> OH |    |    |
| 流动相B： | 乙腈                                       |    |    |
| 流速：   | 0.5 mL/min                               |    |    |
| 梯度：   | 时间                                       | %A | %B |
|       | 初始                                       | 70 | 30 |
|       | 2.0                                      | 5  | 95 |
|       | 2.5                                      | 5  | 95 |
|       | 2.6                                      | 70 | 30 |
|       | 3.5                                      | 70 | 30 |
| 进样体积： | OSM小柱进样25 µL                             |    |    |

## [技术简报]

在线SPE（OSM）系统按照以下步骤进行SPE：

| 步骤   | 溶剂                    | 体积 (mL) |
|------|-----------------------|---------|
| 活化   | MeOH                  | 1.00    |
| 平衡   | 5% NH <sub>4</sub> OH | 1.00    |
|      | H <sub>2</sub> O      | 1.00    |
| 上样   | 5% NH <sub>4</sub> OH | 0.5     |
| 清洗   | 5% NH <sub>4</sub> OH | 0.5     |
| 清洗2  | H <sub>2</sub> O      | 0.5     |
| 钳夹冲洗 | 0.2%三乙胺               | 0.5     |
|      | ACN                   | 0.5     |
|      | H <sub>2</sub> O      | 0.5     |

OSM洗脱时间： 1 min

### 质谱条件：

MS系统： Waters Xevo TQD  
 采集模式： ESI +ve  
 毛细管电压： 2.0 kV  
 采样锥孔电压： 20.0 V  
 离子源温度： 120 °C  
 脱溶剂气温度： 500 °C  
 脱溶剂气流速： 1000 L/h  
 锥孔气流速： 20 L/h

### 多反应监测条件：

| 化合物   | 母离子 (m/z) | 子离子 (m/z) | 锥孔电压 (V) | 碰撞电压 (V) |
|-------|-----------|-----------|----------|----------|
| 安非他命  | 136.01    | 91.08     | 22       | 20       |
|       |           | 119.05    | 22       | 8        |
| 甲基苯丙胺 | 150.09    | 91.04     | 20       | 16       |
|       |           | 119.1     | 20       | 10       |
| 苯丁胺   | 150.09    | 91.04     | 20       | 16       |
|       |           | 119.1     | 20       | 10       |
| 丙基苯丙胺 | 178.18    | 91.04     | 32       | 18       |
|       |           | 119.02    | 32       | 12       |
| MDA   | 180.06    | 105.03    | 18       | 20       |
|       |           | 135.54    | 18       | 20       |
| MDMA  | 194.08    | 105.04    | 24       | 22       |
|       |           | 163.09    | 24       | 12       |
| MDEA  | 208.16    | 105.03    | 26       | 24       |
|       |           | 163.05    | 26       | 14       |

## 结果

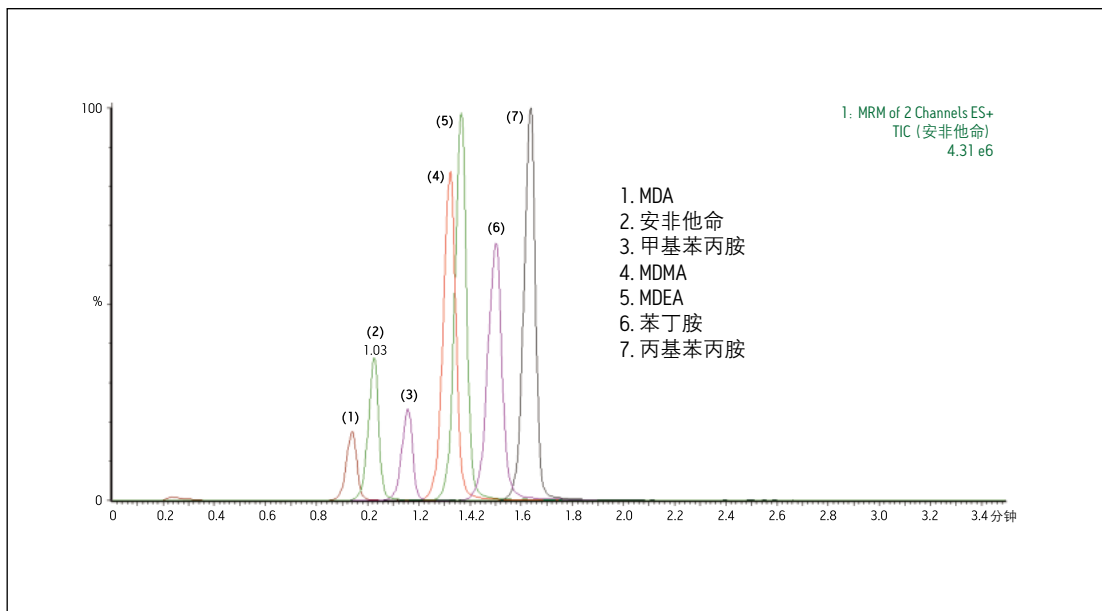


图2. 使用OSM-LC/MS系统对7种10 ppb安非他命类药物混合物加标尿液样品进行分离。

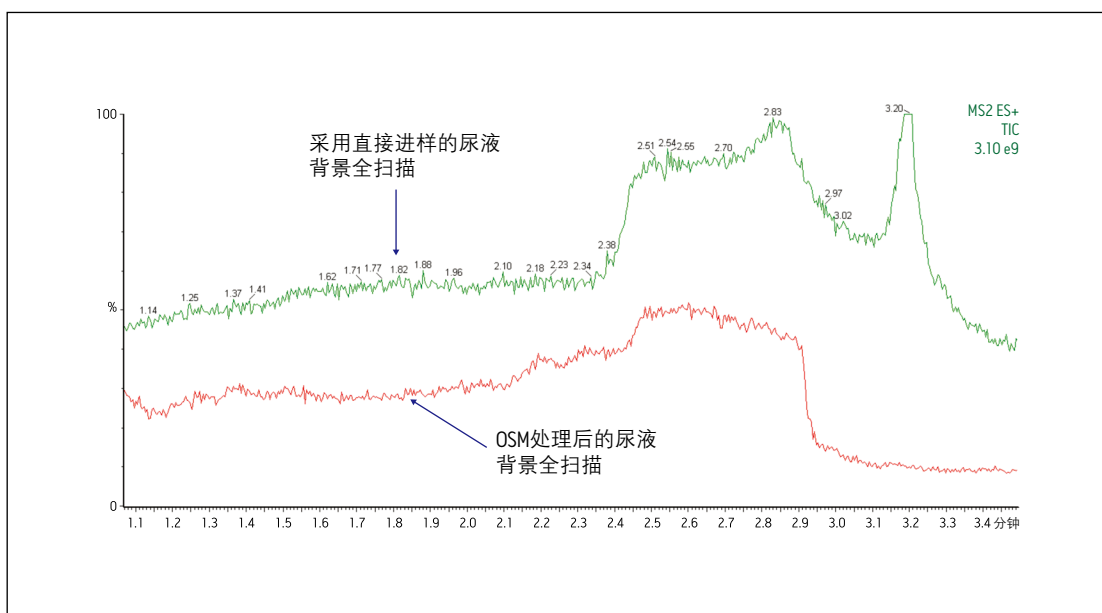


图3. 使用SPE消除背景信号。此图对比了直接进样（绿色谱线）和使用在线SPE方法（红色谱线）的尿液样品背景信号差异。尿液样品经在线SPE系统处理后，样品中潜在的大部分干扰基质背景信号得以消除。

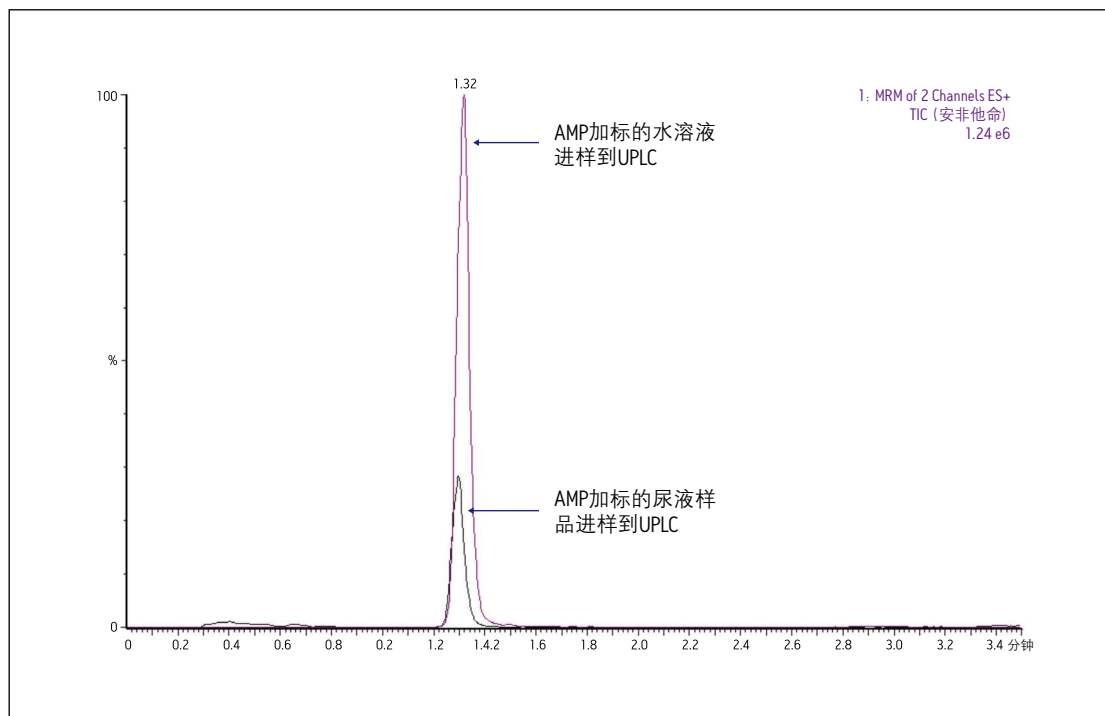


图4A. 尿液样品的离子抑制作用。经相同浓度安非他命加标的水和尿液样品的分析结果。值得注意的是，尿液样品中安非他命信号发生锐减，这表明因基质干扰产生了离子抑制作用。

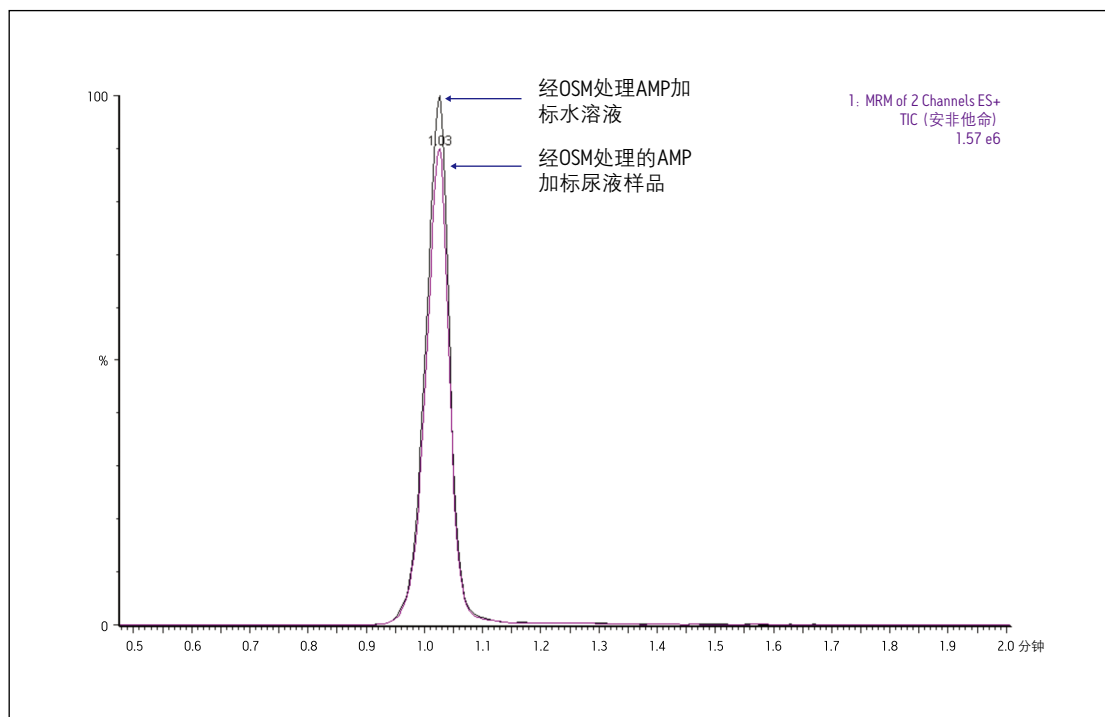


图4B. 尿液样品的基质效应得到消除。使用在线SPE处理样品后，水和尿液样品中相同浓度安非他命的信号对比。与图4A使用稀释法测得的信号差异不同，使用上述方法得到的信号响应差别十分微小。

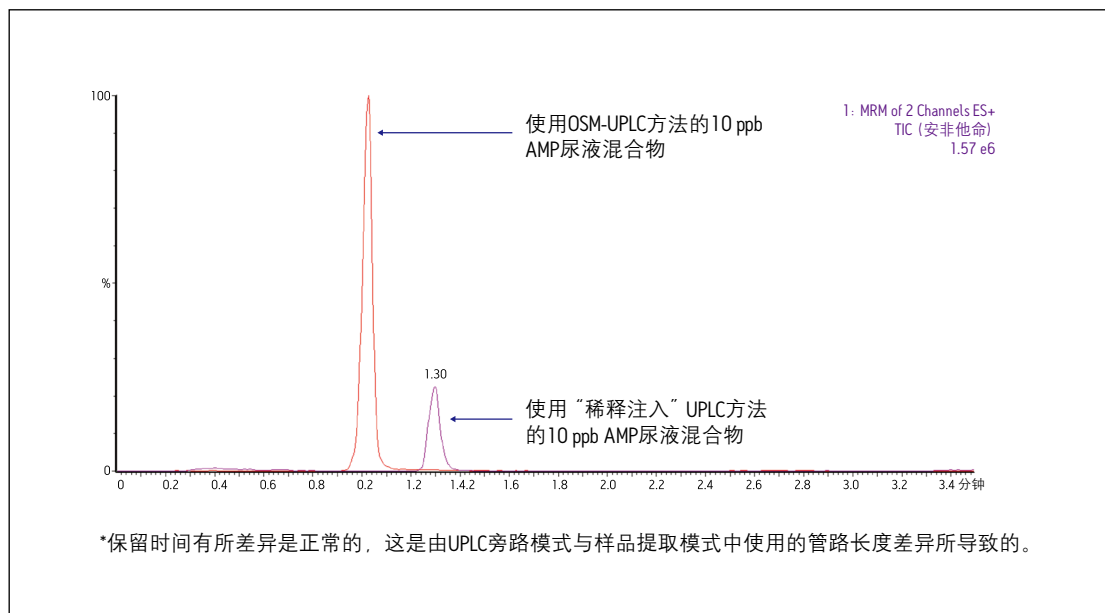


图4C. 安非他命分析方法的灵敏度取决于两种方法（在线SPE/OSM-UPLC方法和简单稀释法）得到的10 ppb安非他命的样本制备差异。在线SPE方法给出了明显不同的信号，信号强度是简单“稀释进样”法的数倍。

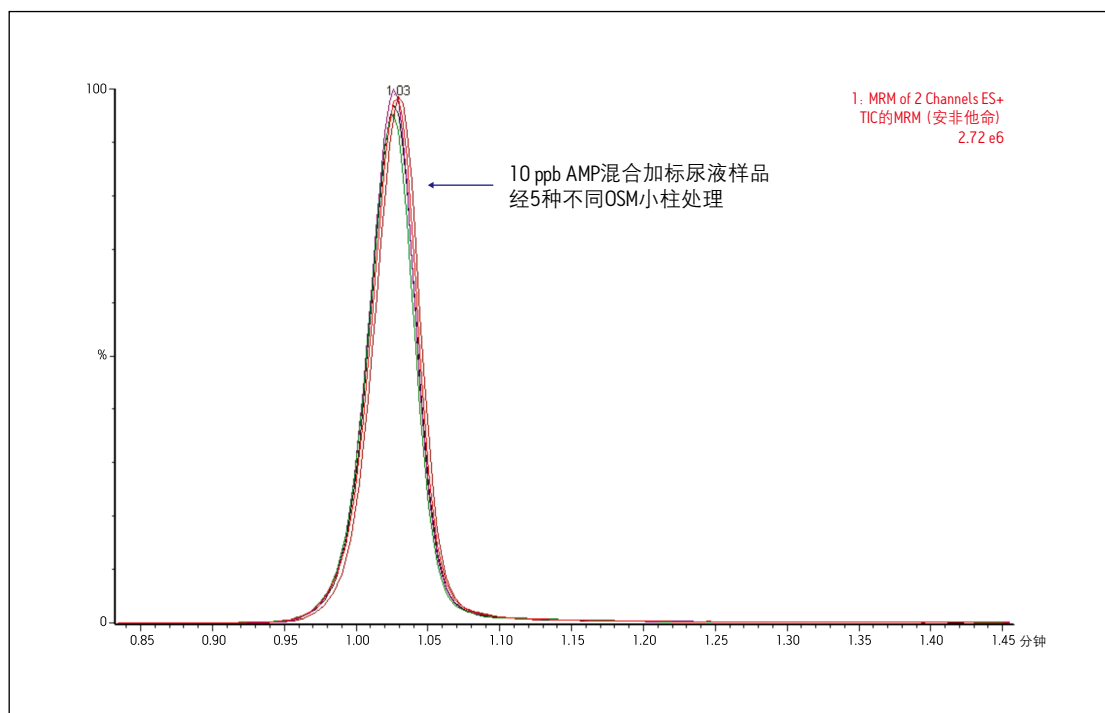


图5. 安非他命经不同OSM小柱测量的差异。在线SPE系统(OSM)使用一次性SPE小柱。此图显示了使用5种不同OSM小柱分析尿液中100ppb的安非他命的信号对比。全部5种小柱的信号几乎相同。

## 总结

本研究开发了一种同时测定尿液中安非他命类毒品的方法。该方法使用LC/MS和在线SPE系统。SPE自动样品前处理与LC/MS分析能力的结合，实现了这类普遍滥用违禁药物的高效分析。

显而易见，尿液样品含有显著的基质干扰，这对安非他命分析产生了离子抑制作用。要对安非他命的尿液样品基质分析方法的灵敏度进行优化，必须清除这些干扰。本方案使用的在线SPE样品制备可大大减少尿液中的基质效应，并且可测得的安非他命含量显著低于简单稀释进样法。

实验证明在线SPE样品分析方法的重现性十分杰出，即便是使用不同的一次性在线SPE小柱进样。本方案使用的LC/MS系统完成了SPE样品制备和LC/MS分析方法在单一平台的全自动化、高效整合。

为测量尿液中的安非他命，本研究开发了结合在线SPE样品制备与LC/MS的法医毒理学方法，从而能够实现：

- 尿液中多种安非他命类典型毒物的分析 (>10 ppb)
- 消除尿液中的基质效应和离子抑制作用
- 安非他命分析灵敏度比“简单稀释进样”有所提高
- 样品制备重现性在多种在线SPE小柱 (n=5) 之间表现优异
- 与LC/MS相集成的高效在线SPE样品制备

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, ACQUITY, ACQUITY UPLC, Xevo和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2013 年沃特世公司。印制于中国。2013年12月 720004881ZH IH-PDF

沃特斯中国有限公司  
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866  
上海：021 - 6156 2666  
广州：020 - 2829 6555  
成都：028 - 6554 5999  
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676  
[www.waters.com](http://www.waters.com)