

SF

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0094—2021

毛发中 5F-MDMB-PICA 等 7 种合成大麻素类
新精神活性物质的液相色谱-串联质谱检验
方法

Determination of 7 synthetic cannabinoids including 5F-MDMB-PICA in hair by
liquid chromatography- tandem mass spectrometry

2021 - 11 - 17 发布

2021 - 11 - 17 实施

中华人民共和国司法部 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 试剂、仪器和材料 1

6 操作方法 2

7 分析结果评价 5

附录 A（资料性） 毛发中 7 种合成大麻素类新精神活性物质的线性范围、线性方程、相关系数、检出限及定量限 7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由司法鉴定科学研究院提出。

本文件由司法部信息中心归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院。

本文件主要起草人：向平、施妍、刘伟、沈保华、严慧、卓先义、沈敏、吴何坚。

毛发中 5F-MDMB-PICA 等 7 种合成大麻素类新精神活性物质的液相色谱-串联质谱检验方法

1 范围

本文件描述了毛发中 5F-MDMB-PICA 等 7 种合成大麻素类新精神活性物质的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 检验方法, 包括原理、试剂、仪器和材料、操作方法以及分析结果评价。

本文件适用于毛发中 5F-MDMB-PICA 等 7 种合成大麻素类新精神活性物质的定性与定量分析, 其它检材中 5F-MDMB-PICA 等 7 种合成大麻素类新精神活性物质的定性定量分析参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中, 注日期的引用文件, 仅该日期对应的版本适用于本文件; 不注日期的引用文件, 其最新版本 (包括所有的修改单) 适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GA/T 122 毒物分析名词术语

3 术语和定义

GA/T 122 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

毛发样品经清洗和冷冻研磨后, 以甲醇超声法提取, 采用液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 进行检测, 经与平行操作的空白样品和添加样品作对照, 以保留时间、特征离子对和离子对丰度比进行定性分析; 以定量离子对峰面积为依据, 采用内标法进行定量分析。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

试验用水应为符合 GB/T 6682 规定的一级水, 所用试剂和要求如下:

- a) 甲醇: HPLC 级;
- b) 乙腈: HPLC 级;
- c) 甲酸: $\geq 98\%$, 优级纯;
- d) 乙酸铵: 色谱纯;
- e) 丙酮: 分析纯;
- f) 标准物质溶液:

- 1) 标准物质储备溶液: 2-(1-(5-氟戊基)-1H-吡啶-3-甲酰氨基)-3,3-二甲基丁酸甲酯 (5F-MDMB-PICA)、2-[1-(4-氟丁基)-1H-吡啶-3-甲酰氨基]-3,3-二甲基丁酸甲酯 (4F-MDMB-BUTINACA)、1-(5-氟戊基)-N-(2-苯基丙-2-基)-1H-吡啶-3-甲酰胺 (5F-CUMYL-PINACA)、3,3-二甲基-2-[1-(4-戊烯-1-基)-1H-吡啶-3-甲酰氨基]丁酸丁酯 (MDMB-4en-PINACA)、3,3-二甲基-2-[1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯 (5F-ADB)、3,3-二甲基-2-[1-(4-氟丁基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯 (4F-MDMB-BICA)、1-(4-氰基丁基)-N-(2-苯基丙-2-基)-1H-吡啶-3-甲酰胺 (4CN-CUMYL-BUTINACA) 对照品, 加甲醇配制成质量浓度为 1mg/mL 的标准物质储备液, 置于冰箱中冷冻保存, 有效期为 12 个月;

- 2) 标准物质工作溶液：试验中所用其它浓度的标准物质工作溶液均从符合 5.1 f) 1) 的标准物质储备溶液用甲醇逐级稀释而得。密封，置于冰箱中冷藏保存，有效期 3 个月。
- g) 内标溶液：
- 1) 内标储备溶液：1mg/mL N-(1-金刚烷基)-1-戊基吡啶-3-甲酰胺-d₉ (APINACA-d₉) 标准品溶液（或其它性质相近物），置于冰箱中冷冻保存，有效期 12 个月；
- 2) 内标工作溶液：试验中所用内标工作溶液从符合 5.1 g) 1) 的内标储备溶液用甲醇稀释而得，浓度为 1ng/mL。密封，置于冰箱中冷藏保存，有效期 3 个月。

5.2 仪器和材料

仪器和材料包括：

- a) 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源 (ESI)；
- b) 电子天平：分度值 ≤ 0.1mg；
- c) 高速离心机；
- d) 超声波清洗仪；
- e) 离心管；
- f) 冷冻研磨仪；
- g) 微量移液器；
- h) 微孔滤膜：0.22μm。

6 操作方法

6.1 定性分析

6.1.1 样品前处理

6.1.1.1 案件样品

毛发样品依次用适量的水和丙酮振荡洗涤两次，晾干后剪成约 1mm 段，称取毛发样品 20mg 于 2mL 研磨管中，加研磨珠适量，再加入内标工作溶液 1mL，冷冻研磨，超声 15min 后，13,000r/min 离心 5min，取上清液，过 0.22μm 微孔滤膜，滤液直接供仪器分析。

6.1.1.2 空白样品

取空白毛发样品 20mg，按照 6.1.1.1 方法操作。

6.1.1.3 添加样品

若案件样品中出现可疑合成大麻素类新精神活性物质，则取空白毛发 20mg，添加案件样品中出现的可疑合成大麻素类新精神活性物质对照品，制得检出限浓度的添加样品，按照 6.1.1.1 方法操作。

6.1.2 仪器分析

6.1.2.1 仪器条件

6.1.2.1.1 液相色谱条件

以下为液相色谱条件，可根据不同品牌仪器实际情况进行调整。

- a) 色谱柱：Acquity™ UPLC HSS T₃ (100mm×2.1mm×1.8μm) 或其它等效柱；

注：Acquity™ UPLC HSS T₃ 柱为美国 waters 公司产品的商品名称，给出这一信息是为了方便本文件的使用者，并不是表示对该产品的认可。如果其它等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效产品。

- b) 流动相：流动相 A 为 20mmol/L 乙酸铵缓冲溶液（含 0.1% 甲酸和 5% 乙腈），流动相 B 为乙腈；采用梯度洗脱，洗脱程序见表 1；
- c) 流速：300μL/min（或适宜流速）；
- d) 柱温：室温；

e) 进样量: 5 μ L。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0	50	50
1	50	50
6	90	10
9	90	10
9.1	50	50
10	50	50

6.1.2.1.2 质谱条件

以下为质谱条件, 可根据不同品牌仪器实际情况进行调整。

- 离子源: 电喷雾电离-正离子模式 (ESI+);
- 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- 离子源电压 (IS): 5500V;
- 碰撞气 (CAD)、气帘气 (CUR)、雾化气 (GS1)、辅助气 (GS2) 均为高纯氮气, 使用前调节各气流流量以使质谱灵敏度达到检测要求;
- 去簇电压 (DP)、碰撞能量 (CE) 应优化至最佳灵敏度。

在符合 6.1.2.1.1 和 6.1.2.1.2 的液相色谱条件和质谱条件下, 7 种合成大麻素类新精神活性物质、内标的质谱参数和保留时间见表 2。

表2 7 种合成大麻素类新精神活性物质、内标的质谱参数和保留时间

中文名	英文名	简称	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇 电压 V	碰撞 能量 ev	保留时间 min
2-(1-(5-氟戊基)-1H-吡啶-3-甲酰胺基)-3,3-二甲基丁酸甲酯	Methyl 2-(1-(5-fluoropentyl)-1H-indole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate	5F-MDMB-PICA	377.2	232.2 ^a	50	25	4.46
				144.0	50	55	
2-[1-(4-氟丁基)-1H-吡啶-3-甲酰胺基]-3,3-二甲基丁酸甲酯	Methyl 2-(1-(4-fluorobutyl)-1H-indazole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate	4F-MDMB-BUTINACA	364.1	219 ^a	60	34	4.71
				304	60	20	
1-(5-氟戊基)-N-(2-苯基丙-2-基)-1H-吡啶-3-甲酰胺	1-(5-Fluoropentyl)-N-(2-phenylpropan-2-yl)-1H-indazole-3-carboxamide	5F-CUMYL-PINACA	368.2	233.1 ^a	40	25	5.38
				213.1	40	40	
3,3-二甲基-2-[1-(4-戊烯-1-基)-1H-吡啶-3-甲酰胺基]丁酸丁酯	Methyl 3,3-dimethyl-2-(1-(pent-4-en-1-yl)-1H-indazole-3-carboxamido)butanoate	MDMB-4en-PINACA	358.5	213.1 ^a	45	31	5.84
				298.2	45	20	
3,3-二甲基-2-[1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰胺基]丁酸甲酯	N-(1-Methoxy-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(5-fluoropentyl)-1H-indazole-3-carboxamide	5F-ADB	378.2	233.1 ^a	70	31	5.16
				145.0	70	57	

表 2 (续)

3, 3-二甲基-2-[1-(4-氟丁基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	Methyl 2-([1-(4-fluorobutyl)-1H-indol-3-yl]carbonyl)amino)-3, 3-dimethylbutanoate	4F-MDMB-BICA	363. 2	218. 2 ^a	52	20	4. 01
				144. 2	52	55	
1-(4-氰基丁基)-N-(2-苯基丙-2-基)-1H-吡啶-3-甲酰胺	1-(4-Cyanobutyl)-N-(2-phenylpropan-2-yl)-1H-indazole-3-carboxamide	4CN-CUMYL-BUTINACA	361. 2	226. 1 ^a	60	28	4. 12
				243. 1	60	17	
N-(1-金刚烷基)-1-戊基吡啶-3-甲酰胺-d ₉	N-(1-Adamantyl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide-d ₉	APINACA-d ₉	375. 3	135. 0 ^a	50	30	8. 63
				107. 1	50	67	
^a 为定量离子对。							

6.1.2.2 进样

分别吸取案件样品、空白样品和添加样品提取液，按 6.1.2.1 条件进样分析。

6.1.3 记录

记录案件样品、空白样品和添加样品中可疑色谱峰的保留时间、特征离子对和离子对丰度比。方法检出限参见附录 A。

6.1.4 定性判断依据

以保留时间、质谱特征碎片离子峰和相对丰度比作为定性判断依据。

如果案件样品中出现目标物的两对定性离子对的色谱峰，保留时间与添加样品中相应目标物的色谱峰保留时间比较，相对误差在±2.5%内，且定性离子对丰度比与浓度相近添加样品的离子对丰度比之相对误差不超过表 3 规定的范围，则可判定案件样品中存在该种目标物。

表3 离子对丰度比的最大允许相对误差

单位为百分数(%)

离子对丰度比	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对误差	±20	±25	±30	±50

6.2 定量分析

6.2.1 分析方法

采用内标-工作曲线法或内标-单点校正法定量分析。

6.2.2 样品前处理

取案件样品毛发 20mg 两份，余下样品前处理按照 6.1.1.1 方法。

另取空白毛发若干份，添加适量目标物，制得系列质量分数或单点质量分数的添加样品，与案件样品平行操作。

案件样品中目标物的质量分数应在工作曲线的线性范围内。配制单点质量分数的添加样品时，案件样品中目标物质量分数应在该质量分数的±50%内。

6.2.3 仪器分析

6.2.3.1 仪器条件

仪器条件符合 6.1.2.1 的规定。

6.2.3.2 进样

分别将案件样品、系列质量分数的添加样品或单点质量分数添加样品，按 6.1.2.1 条件进样分析。

6.2.4 记录与计算

6.2.4.1 记录

记录案件样品、系列质量分数的添加样品或单点质量分数添加样品中目标物及内标的峰面积值，然后计算含量。

6.2.4.2 内标-工作曲线法

在系列质量分数的添加样品中，以目标物与内标的峰面积比(Y)为纵坐标、目标物质量分数(C)为横坐标进行线性回归，得线性方程。

根据各样品中目标物及内标的峰面积值，按式(1)计算出案件样品中目标物的质量分数。

$$C = \frac{Y - a}{b} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——案件样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

Y ——案件样品中目标物与内标的峰面积比；

a ——线性方程的截距；

b ——线性方程的斜率。

6.2.4.3 内标-单点校正法

根据案件样品和添加样品中目标物与内标定量离子对的峰面积值，按式(2)计算出案件样品中目标物的质量分数。

$$C = \frac{A \times c}{A'} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——案件样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

A ——案件样品中目标物与内标的峰面积比；

A' ——添加样品中目标物与内标的峰面积比；

c ——添加样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)。

6.2.5 计算相对相差

案件样品同时平行测定两份，双样相对相差按公式(3)计算：

$$\text{RD} = \frac{|C_1 - C_2|}{\overline{C}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

RD ——相对相差(%)；

C_1 、 C_2 ——两份案件样品平行定量测定的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

$\overline{C}$ ——两份案件样品中平行定量测定质量分数的平均值 $(C_1 + C_2)/2$ ，单位为纳克每毫克(ng/mg)。

7 分析结果评价

7.1 定性分析结果评价

7.1.1 阴性结果评价

阴性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中仅检出内标，未检出 7 种合成大麻素类新精神活性物质成分，则阴性结果可靠；
- b) 如果案件样品中未检出内标，则阴性结果不可靠，应按 6.1 重新检验。

7.1.2 阳性结果评价

阳性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中检出合成大麻素类新精神活性物质成分且空白样品无干扰，则阳性结果可靠；
- b) 如果案件样品中检出合成大麻素类新精神活性物质成分且空白样品亦呈阳性，则阳性结果不可靠，应按 6.1 重新检验。

7.2 定量分析结果评价

两份案件样品的相对相差不超过20%时，结果按两份案件样品的平均值计算，否则应重新测定。

附录 A

(资料性)

毛发中 7 种合成大麻素类新精神活性物质的线性范围、线性方程、相关系数、检出限及定量限

毛发中 7 种合成大麻素类新精神活性物质的线性范围、线性方程、相关系数、检出限及定量限见表 A. 1。

表A.1 毛发中 7 种合成大麻素类新精神活性物质的线性范围、线性方程、相关系数、检出限及定量限

目标物	线性范围 ng/mg	线性方程	相关系数 r	检出限 ng/mg	定量限 ng/mg
5F-MDMB-PICA	0.02-2	$y=0.07073x+0.01786$	0.999	0.01	0.02
4F-MDMB-BUTINACA	0.02-2	$y=0.09150x+0.02797$	0.998	0.01	0.02
5F-CUMYL-PINACA	0.02-2	$y=0.04302x+0.04891$	0.995	0.01	0.02
MDMB-4en-PINACA	0.02-2	$y=0.06242x+0.00146$	0.996	0.01	0.02
5F-ADB	0.02-2	$y=0.09588x+0.01569$	0.996	0.01	0.02
4F-MDMB-BICA	0.02-2	$y=0.03944x+0.00867$	0.996	0.01	0.02
4CN-CUMYL-BUTINACA	0.05-2	$y=0.02293x+0.04946$	0.996	0.02	0.05