

## · 论 著 ·

## · 新精神活性物质专题 ·

# QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 检测血液中 3 种色胺类新精神活性物质

侯伟<sup>1,2</sup>, 王燕燕<sup>1</sup>, 张瑛<sup>1</sup>, 张蕾萍<sup>3</sup>, 辛国斌<sup>1</sup>, 覃仕扬<sup>1</sup>, 王继芬<sup>2</sup>

1. 法庭毒物分析公安部重点实验室 北京市公安局, 北京 100192; 2. 中国人民公安大学侦查学院, 北京 100038; 3. 公安部物证鉴定中心, 北京 100038

**摘要:** 目的 建立一种 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 快速筛查和检验人体血液中 3 种色胺类新精神活性物质——*N,N*-二烯丙基-5-甲氧基色胺 (5-MeO-DALT)、*N*-甲基-*N*-异丙基-5-甲氧基色胺 (5-MeO-MiPT)、*N,N*-二异丙基-5-甲氧基色胺 (5-MeO-DiPT) 的方法。方法 分别考察了萃取剂种类、盐析剂种类及用量、吸附剂用量等条件对 3 种色胺类物质检验结果的影响。血液样品经 QuEChERS 方法处理后采用 UPLC-MS/MS 法进行检测。结果 人体血液中 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT、5-MeO-DiPT 分别在 0.5~100、0.5~100、0.2~100 ng/mL 范围内具有良好的线性关系, 相关系数均大于 0.99, 检出限为 0.1~0.2 ng/mL, 回收率范围在 84.86%~94.57%, 日内及日间精密度良好。结论 该方法简单、快速、易于操作、回收率高, 适用于血液中色胺类物质的定性定量分析, 能够为公安机关处理相关案件提供借鉴和参考。

**关键词:** 法医学; 毒物分析; 新精神活性物质; 色胺类; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; *N,N*-二烯丙基-5-甲氧基色胺; *N*-甲基-*N*-异丙基-5-甲氧基色胺; *N,N*-二异丙基-5-甲氧基色胺; 血液

中图分类号: DF795.1 文献标志码: A doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2021.310205

文章编号: 1004-5619(2021)04-0516-08



## Determination of Three Types of New Psychoactive Tryptamines in Blood by QuEChERS Combined with UPLC-MS/MS

HOU Wei<sup>1,2</sup>, WANG Yan-yan<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, ZHANG Lei-ping<sup>3</sup>, XIN Guo-bin<sup>1</sup>, QIN Shi-yang<sup>1</sup>, WANG Ji-fen<sup>2</sup>

1. Key Laboratory of Forensic Toxicology, Ministry of Public Security, Beijing Public Security Bureau, Beijing 100192, China; 2. School of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China; 3. Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China

**Abstract:** **Objective** To establish a method combining QuEChERS and ultra-high liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for rapid screening and testing of three types of new psychoactive tryptamines in human blood: 5-MeO-DALT, 5-MeO-MiPT and 5-MeO-DiPT. **Methods** The effects of the type of extractant, the type and dosage of salting-out agent, and the dosage of adsorbent on the test results of the three tryptamines were investigated. Blood samples were processed by QuEChERS method and then determined by UPLC-MS/MS. **Results** The linear relationships of 5-MeO-DALT, 5-MeO-MiPT and 5-MeO-DiPT in human blood were good in the range of 0.5–100, 0.5–100 and 0.2–100 ng/mL, respectively, with their coefficients higher than 0.99. The limits of detection (LODs) were 0.1–0.2 ng/mg. The recoveries ranged from 84.86% to 94.57%. Intra-day and inter-day precisions were good. **Conclusion** The method is simple, rapid, easy to operate and has a high recovery. It is suitable for the qualitative and quantitative study of tryptamines in blood and can provide the reference for public security organs to deal with related cases.

**Keywords:** forensic medicine; toxicological analysis; new psychoactive substance; tryptamines; QuEChERS; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); 5-MeO-DALT; 5-MeO-MiPT; 5-MeO-DiPT; blood

基金项目: 法庭毒物分析公安部重点实验室(北京市公安局)开放基金资助项目(2019FTDWF05)

作者简介: 侯伟(1996—), 男, 硕士研究生, 主要从事刑事技术研究; E-mail: 760466281@qq.com

通信作者: 王燕燕, 女, 博士, 高级工程师, 主要从事毒物毒品检验; E-mail: 61083942@qq.com

色胺类新精神活性物质是一类具有色胺结构框架并且存在致幻作用的化合物。色胺类物质具有吲哚环结构,是由苯环和吡咯环组成的融合双环,通过侧链上的乙基与氨基相连<sup>[1]</sup>,区别在于不同物质在苯环、侧链以及氮上连接有不同的取代基(图1)。

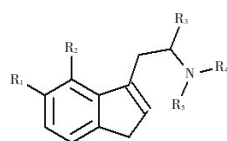


图1 色胺类物质的基本结构

Fig. 1 Basic structure of tryptamines

色胺是一类一元胺生物碱,即吲哚烷胺类物质,可以由色氨酸脱羧形成。色胺类新精神活性物质属于致幻剂,能够影响中枢系统,改变感知能力。人摄入后会产生身心上的欣快感,出现错觉和幻觉,严重时会导致感知觉紊乱,甚至精神错乱。目前已有服用色胺类物质中毒或致死的案例报道<sup>[2-5]</sup>。由于色胺类物质具有毒性延迟性的特点,不同色胺类衍生物的致幻作用和滥用风险因摄入方式、剂量以及重复摄入量的不同而有所差别。对于该类物质,国际上尚未有公约实施管制,其中一部分物质在中国、英国和芬兰等国被列管,而在很多其他国家仍未被管制。近几年,该类物质在我国非法制造、贩卖及滥用形势日益严峻,严重威胁到我国的国家安全。目前报道的色胺类新精神活性物质有40余种,我国列入管制的该类物质共11种,其中滥用较为严重的主要有*N,N*-二烯丙基-5-甲氧基色胺(5-MeO-DALT)、*N*-甲基-*N*-异丙基-5-甲氧基色胺(5-MeO-MiPT)、*N,N*-二异丙基-5-甲氧基色胺(5-MeO-DiPT)等<sup>[6]</sup>。因此,本研究选择上述3种色胺类物质作为研究对象。

目前,国外对色胺类物质的检验已有一定研究<sup>[7-9]</sup>,涉及的分析方法主要是气相色谱-质谱法和液相色谱-质谱法。国内对于色胺类新精神活性物质的研究相对较少,施妍等<sup>[10]</sup>使用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)对人体头发中5-MeO-DiPT等12种新型色胺类致幻剂进行了检验,该方法具有回收率高、选择性好等特点;王柔嘉等<sup>[1]</sup>综述了色胺类新精神活性物质的体内代谢过程和检测方法等;黑海等<sup>[6]</sup>对色胺类新精神活性物质的药理毒理学及代谢过程展开了介绍。

UPLC-MS/MS因其准确、快速、检测范围广等优势而逐渐成为法庭科学领域的一类重要检测方法。该方法具有良好的混合物分离效果,同时由于其较高的灵敏度,能够满足生物检材内痕量待测目标物的检

测要求<sup>[11-13]</sup>。目前司法鉴定领域对于血液和尿液等生物检材的常见前处理方法主要有液液萃取法、固相萃取法和沉淀蛋白法等<sup>[1]</sup>,如MEYER等<sup>[14]</sup>采用液液萃取法对血浆中的37种色胺类物质进行了定性定量分析,各物质的检出限(limit of detection, LOD)在1~100 ng/mL。但该方法所需时间较长,操作较为繁琐(需对目标物进行浓缩富集),且有机试剂使用量较大,对实验人员的健康有一定损害。TANG等<sup>[15]</sup>采用固相萃取结合UPLC-MS/MS法检测了血浆中的色胺类物质,该方法具有较高的回收率,但不足之处在于操作过程较为复杂,实验所需成本较高。TURCANT等<sup>[16]</sup>报道了采用沉淀蛋白法对血浆和尿液中的 $\alpha$ -甲基色胺( $\alpha$ -methyltryptamine, AMT)和*N,N*-二甲基-5-甲氧基色胺(5-MeO-DMT)进行检测的相关研究,与前两种方法相比,沉淀蛋白法的回收率相对偏低,基质效应较高。

为了追求更加简单、快速且高效的样品前处理方法,近年来研究人员逐步将QuEChERS方法应用于生物检材的检验研究。作为一种快速前处理技术,QuEChERS具有成本低、操作简单和安全性高等特点,同时由于使用了盐析剂和净化剂,复杂基质的影响被进一步降低,待测目标物的提取效率得到了有效提高,其适用范围也已由最初的农药残留检测逐步扩展到各类复杂基质中目标物质的检测,具有良好的提取和净化效果。如刘洋等<sup>[17]</sup>使用QuEChERS结合UPLC-MS/MS法检测了血液中苯丙胺类及其相关的9种物质,优化了前处理条件,能够实现各种物质色谱峰的良好分离;吕昱帆等<sup>[18]</sup>使用QuEChERS结合UPLC-MS/MS法检验了腐败血中4-甲基甲卡西酮和甲卡西酮,回收率较高。这些研究证明了QuEChERS对于生物检材的适用性。

基于此,本研究采用QuEChERS结合UPLC-MS/MS法建立人体血液中3种色胺类新精神活性物质的快速检测方法,以期该类物质的检验提供借鉴,为公安机关处理相关案件提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

仪器:Nexera UHPLC LC-30A超高效液相色谱仪(日本岛津公司),QTRAP® 4000 LC-MS/MS系统(美国AB Sciex公司),3-30K高速冷冻离心机(德国Sigma公司),PL203电子天平(瑞士Mettler Toledo公司),东京理化CM-1000高速振荡器(日本东京理化器械株式会社),Talboys旋涡混合器(美国Troemner公司)。

试剂:甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司),无水氯化钠、无水硫酸钠(分析纯,中国医药集团有限公司), $C_{18}$ 吸附剂(美国 Agilent 公司)。

标准品:5-MeO-DALT(纯度 $\geq 98\%$ )购自上海麦克林生化科技有限公司,5-MeO-MiPT(纯度 $\geq 98\%$ )、5-MeO-DiPT(纯度 $\geq 98\%$ )购自美国 Cayman 公司,3种标准品均为粉末状。

### 1.2 标准溶液的配制

标准储备液:分别准确称取适量 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 标准品,用甲醇溶解并配制成 1 mg/mL 的标准储备液,于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下低温保存。

混合标准溶液:借助移液枪分别吸取适量标准储备液,用甲醇稀释并配制成 1  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准溶液,于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下低温保存。

### 1.3 样品前处理

取 0.5 mL 血液样品置于 15 mL 离心管中,加入 1 mL 乙腈涡旋振荡提取 10 min,加入 20 mg 氯化钠和 30 mg 硫酸钠涡旋混匀 30 s,使用高速冷冻离心机以  $18\,000\times g$  离心 10 min,取上清液 1 mL 置于离心管中,加入 10 mg  $C_{18}$  吸附剂进行净化,振荡 15 min 后以  $18\,000\times g$  离心 10 min,取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机膜后进样检测。

### 1.4 色谱条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS  $T_3$  柱(100 mm $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ; 美国 Waters 公司)。流动相 A 为含 0.1% 甲酸的 10 mmol/L 甲酸铵水溶液,流动相 B 为甲醇,梯度洗脱共 7 min。洗脱程序按以下方式进行:0~1.0 min, 5% B; 1.0~1.1 min, 5%~20% B; 1.1~3.0 min, 20%~70% B; 3.0~4.0 min, 70%~95% B; 4.0~6.0 min, 95% B; 6.0~6.1 min, 95%~5% B; 6.1~7.0 min, 5% B。流速 0.3 mL/min,柱温  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,进样量 5  $\mu\text{L}$ 。

### 1.5 质谱条件

采用电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)正离子模式,多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM);离子源温度  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,喷雾电压 5 000 V,气帘气压力(CUR) 20 psi,雾化气压力(GS1) 40 psi,辅助加热气压力(GS2) 50 psi。

### 1.6 方法学验证

对于所建方法的特异性、线性范围、LOD、定量限(limit of quantitation, LOQ)、回收率、基质效应及精密度进行考察验证。

特异性:取 3 份来自不同个体的空白血液按照 1.3 节方法进行前处理,在 1.4 节色谱条件和 1.5 节质谱条件下进行分析,另取空白血液添加 3 种色胺类物

质标准品,按上述方法处理后进样分析,以考察空白血液基质中内源性物质对实验结果的影响。

线性范围、LOD、LOQ:取适量的 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 混合标准溶液,使用甲醇逐级稀释至 500、100、50、10 和 5 ng/mL,分别向 0.5 mL 空白血液中加入适量上述不同质量浓度的混合标准溶液,制备成含 3 种色胺类物质质量浓度分别为 100、50、20、10、5、2、1、0.5、0.2 和 0.1 ng/mL 的血液样品。采用上述优化的条件进行前处理,按照质量浓度从低到高的顺序排列进样,每个质量浓度平行进样 3 次,取平均值作为最终结果。以 3 种色胺类物质的色谱峰面积( $y$ )对其标准溶液的质量浓度( $x$ )进行线性回归,并考察血液中 3 种色胺类物质质量浓度为 0.1、0.2 和 0.5 ng/mL 时的信噪比(S/N),以  $S/N\geq 3$  为 LOD、 $S/N\geq 10$  为 LOQ<sup>[19]</sup>。

回收率、基质效应和精密度:分别配制 0.5、5、50 和 500 ng/mL 4 个质量浓度的 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 混合标准溶液。首先在不同离心管中分别加入 5、50 和 500 ng/mL 的混合标准溶液 100  $\mu\text{L}$ ,每个质量浓度平行制备 3 组并用氮气吹干,再分别加入 0.5 mL 空白血液,制备成含 3 种色胺类物质质量浓度分别为 1、10 和 100 ng/mL 的血液样品,按照 1.3 节方法进行前处理。取 9 个离心管分别加入 0.5 mL 空白血液,再加入 0.9 mL 乙腈并按照 1.3 节方法进行前处理,然后向净化后的上清液中分别加入 5、50 和 500 ng/mL 混合标准溶液 100  $\mu\text{L}$ ,每个质量浓度平行制备 3 组样品,取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机膜后置于进样瓶中待检。将以上两批样品连同 0.5、5 和 50 ng/mL 标准溶液样品分别进样检测,所得结果按照以下公式进行回收率和基质效应的计算。

$$\text{回收率}(\%)=(A/B)\times 100\%, \quad (1)$$

$$\text{基质效应}(\%)=(B/C)\times 100\%, \quad (2)$$

其中  $A$  表示空白血液中加入混合标准溶液后按照 1.3 节方法处理检测后得到的峰面积, $B$  表示空白血液进行前处理后加入混合标准溶液提取进样检测得到的峰面积, $C$  表示 3 种色胺类物质混合标准溶液检测得到的峰面积。

按照上述方法制备相同质量浓度梯度的样品并进行前处理,在 1 d 内早、中、晚 3 个不同的时间,使用上述 1.4 节色谱条件和 1.5 节质谱条件进行检测,通过计算 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 的峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)得到日内精密度;按上述同样的方法,连续 3 d 测得 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 的峰面积,并计算其 RSD 得到日间精密度。



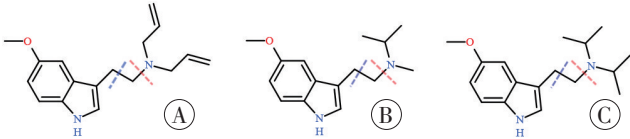
2 结果与讨论

2.1 质谱条件的优化

5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 在化学结构上具有高度的相似性(图2),并且含有相同的部分基团,因此在裂解过程中3种色胺类物质可产生相同的特征离子。由图2可知,3种物质均在红线标记的碳氮单键处发生断裂,断裂处左边部分含有吲哚环结构的基团即为3种物质共有的特征离子,其质荷比( $m/z$ )为174。另外,3种物质在裂解过程中还会产生各自的特征离子作为定量离子(图中蓝色虚线右边部分即为各自的定量离子)。

本实验对该仪器条件下3种色胺类物质特征碎

片离子的准确值进行了测定和考察,同时优化了各离子对的去簇电压和碰撞能量。以3种物质的混合标准溶液(20 ng/mL)为样本,采用针泵进样法进行质谱条件的优化,得到了5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 的质谱分析参数(表1)。



A: 5-MeO-DALT; B: 5-MeO-MiPT; C: 5-MeO-DiPT。红色虚线表示碳氮单键发生断裂,蓝色虚线表示碳碳单键发生断裂。

图2 3种色胺类物质的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of 3 types of tryptamines

表1 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 的质谱分析参数

Tab. 1 Mass spectrographic analysis parameters of 5-MeO-DALT, 5-MeO-MiPT and 5-MeO-DiPT

目标物	保留时间/min	母离子( $m/z$ )	子离子( $m/z$ )	碰撞能量/eV	去簇电压/eV
5-MeO-DALT	4.32	271.2	110.2 <sup>1)</sup>	20	54
			174.2	20	65
5-MeO-MiPT	3.95	247.5	86.3 <sup>1)</sup>	21	63
			174.3	24	63
5-MeO-DiPT	4.11	275.5	114.2 <sup>1)</sup>	22	62
			174.3	26	62

注:1)为定量离子对。

2.2 色谱条件的优化

本实验比较了不同流动相对3种色胺类物质的分离效果。流动相A有0.1%甲酸水溶液、含0.1%甲酸和5%乙腈的20 mmol/L 乙酸铵水溶液以及含0.1%甲酸的10 mmol/L 甲酸铵水溶液3种,流动相B有乙腈和甲醇2种。结果显示:流动相A使用0.1%甲酸水溶液时,流动相B无论选择哪种,3种色胺类物质的峰形均较差,双峰现象较为明显;流动相A使用含0.1%甲酸和5%乙腈的20 mmol/L 乙酸铵水溶液,B相为甲醇或乙腈时,5-MeO-MiPT的峰形较差,且3种色胺类物质的分离效果不好;流动相A使用含0.1%甲酸的10 mmol/L 甲酸铵水溶液,流动相B为甲醇时,3种色胺类物质的峰形最好。最终,本实验选择含0.1%甲酸的10 mmol/L 甲酸铵水溶液作为流动相A,甲醇作为流动相B。5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 在质量浓度为2 ng/mL时的色谱图见图3。

2.3 前处理方法的优化

2.3.1 萃取剂种类的优化

本实验考察了甲醇、乙腈、 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=1:1$ 、 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=$

$1:2$ 、 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=1:3$ 、 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1:1$  6种萃取剂对血液中3种色胺类物质的提取效果,结果见图4。由图4可知,当乙腈作为萃取剂时,3种色胺类物质的提取效果最好,其次为 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1:1$ ,而当甲醇以及甲醇与乙腈的混合溶液作为萃取剂时,3种色胺类物质的提取效果较差,因此,本实验选择乙腈作为最优萃取剂。

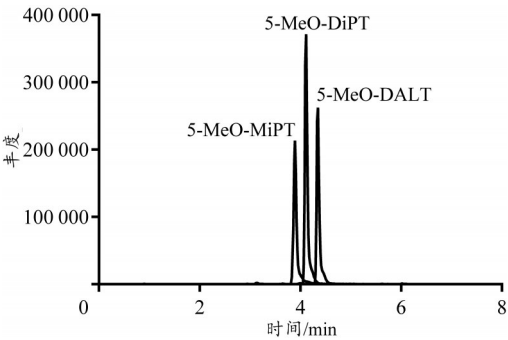
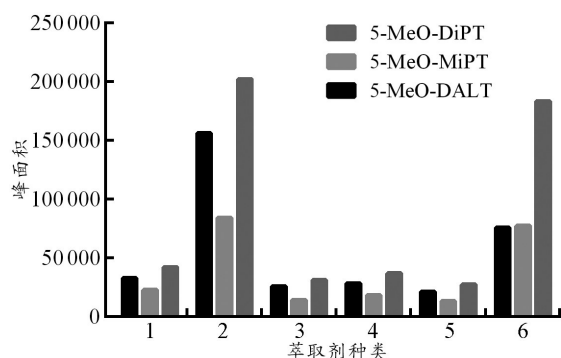


图3 5-MeO-DALT、5-MeO-DiPT 和 5-MeO-MiPT 的色谱图(质量浓度2 ng/mL)

Fig. 3 Chromatogram of 5-MeO-DALT, 5-MeO-DiPT and 5-MeO-MiPT (mass concentration of 2 ng/mL)



1: 甲醇; 2: 乙腈; 3:  $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=1:1$ ; 4:  $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=1:2$ ; 5:  $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}=1:3$ ; 6:  $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1:1$ 。

图4 不同萃取剂对3种色胺类物质的提取效果

Fig. 4 Extracting effects of 3 types of tryptamines based on different extractants

### 2.3.2 盐析剂的优化

本实验考察了氯化钠、硫酸钠和硫酸镁3种盐析剂对血液中3种色胺类物质的提取效果,采用控制变量法分别对盐析剂的种类及用量进行了考察和优化。称取氯化钠、硫酸钠和硫酸镁各20 mg分别加入盛有0.5 mL血液样品的离心管中,每个样品平行制备3份,按1.3节方法进行前处理并进样检测,结果见图5。

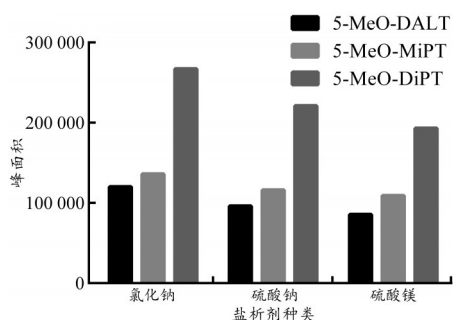


图5 不同盐析剂对3种色胺类物质的提取效果

Fig. 5 Extracting effects of 3 types of tryptamines based on different salting-out agents

由图5可知,盐析剂的种类对3种色胺类物质的提取效果具有一定的影响,其中氯化钠的效果最好,硫酸钠次之,硫酸镁相对稍差。因此,本实验拟选用氯化钠和硫酸钠两种物质作为前处理过程中的盐析剂,同时考察了氯化钠和硫酸钠这两种盐析剂的用量对3种色胺类物质提取效果的影响。用电子天平分别称取10、20、30、40、50 mg的两种盐加入血液中进行后续处理并进样检测,结果表明,当氯化钠和硫酸钠的用量分别在20 mg和30 mg时3种色胺类物质的提取效果最好,因此,本实验选择20 mg氯化钠和30 mg硫酸钠作为前处理过程中的最优盐析剂。

### 2.3.3 吸附剂的优化

血液作为一种基质复杂的检材,其所含杂质会对目标物的提取和检测带来一定的影响,因此在前处理

过程中需加入一定量的吸附剂对血液检材中的杂质进行吸附净化,以排除相关干扰,提高目标物质的回收率。 $C_{18}$ 作为一种常见的吸附剂,疏水作用较强,对非极性的组分有吸附作用,能够有效吸附血液中的脂肪类杂质<sup>[20]</sup>。因此,本实验选择 $C_{18}$ 吸附剂,同时对 $C_{18}$ 吸附剂的用量进行了考察和优化,相关实验结果见图6。

由图6可知, $C_{18}$ 吸附剂的用量对于5-MeO-DiPT提取效果影响较大,对5-MeO-MiPT和5-MeO-DALT提取效果影响相对较小。随着 $C_{18}$ 吸附剂用量的增加,3种色胺类物质的提取率基本呈现先升高后降低的趋势,并在10 mg处达到最高。这可能是由于过量的吸附剂在去除杂质的同时也对目标物质产生了一定量的吸附,造成了提取率的下降,因此,本实验选择10 mg作为最优吸附剂用量。

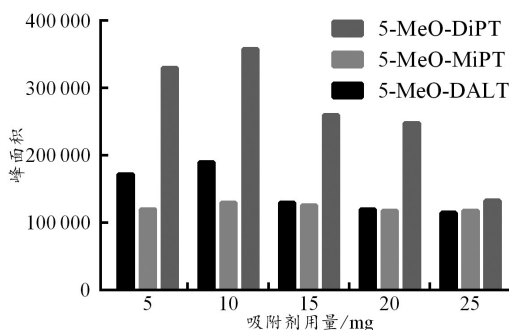


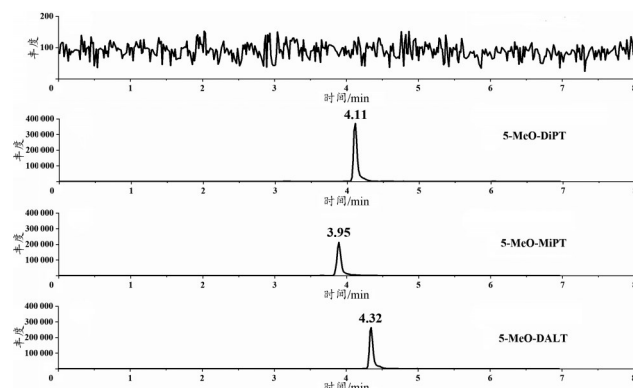
图6 不同用量吸附剂对3种色胺类物质的提取效果

Fig. 6 Extracting effects of 3 types of tryptamines based on different content of adsorbent

## 2.4 方法学验证结果

### 2.4.1 特异性

空白血液和空白血液加标样品按照1.3节方法处理进样分析后得到各物质的色谱图见图7。结果显示,血液中内源性物质不会对3种色胺类物质产生干扰,该方法对3种色胺类物质的检验具有较高的特异性。



A: 空白血液样品; B: 2 ng/mL 5-MeO-DiPT添加血液样品; C: 2 ng/mL 5-MeO-MiPT添加血液样品; D: 2 ng/mL 5-MeO-DALT添加血液样品。

图7 3种色胺类物质的MRM色谱图

Fig. 7 MRM chromatograms of 3 types of tryptamines

2.4.2 线性范围、LOD、LOQ

3种色胺类物质的线性方程、相关系数、LOD和LOQ如表2所示。结果表明,3种色胺类物质在相应的线性范围内线性良好,相关系数( $r$ )>0.999 0,该方法的灵敏度和线性范围能够满足法庭科学毒物检验的需要。

2.4.3 回收率、基质效应和精密度

该方法下3种色胺类物质的回收率和基质效应见表3。由表3可知,3种色胺类物质在上述前处理方法下的回收率在84.86%~94.57%,基质效应在87.50%~99.60%,证明在该实验条件下回收率较高且基质对于实验结果的影响不大,同时日内精密度和日间精密度较好,仪器基本处于较为稳定的状态,能够满足检验要求。

由以上方法学验证结果可知,QuEChERS前处理方法在血液中色胺类物质的检验方面具有良好的效果。3种物质的LOD为0.1~0.2 ng/mL,基质对于目标物检测的影响较小,回收率均在80%以上。与液液萃取、固相萃取和沉淀蛋白法相比,QuEChERS更加方便快捷,同时小剂量溶剂的使用在节约成本的同时也最大程度地降低了对人体的危害。另外,QuEChERS方法在前处理过程中引入了盐析剂和吸附剂,其中盐析剂的作用是去除有机相中的部分水相,促使目标物更多地转移至萃取剂中,而吸附剂的作用是吸附基质中的脂质和糖类等干扰物质,提高目标物的检测灵敏度<sup>[21]</sup>,这两者的存在使得QuEChERS与其他前处理方法相比更加具有回收率和基质效应等方面的优势,本实验结果也证实了这一结论。

表2 3种色胺类物质的线性方程、相关系数、LOD及LOQ

Tab. 2 The linear equation, correlation coefficient, LOD and LOQ of 3 types of tryptamines

目标物	线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> )	回归方程	相关系数( $r$ )	LOD/(ng·mL <sup>-1</sup> )	LOQ/(ng·mL <sup>-1</sup> )
5-MeO-DALT	0.5~100	$y=6\,139.4x+223.45$	0.999 9	0.2	0.5
5-MeO-MiPT	0.5~100	$y=-4\,760.6x+1\,166.2$	0.999 7	0.2	0.5
5-MeO-DiPT	0.2~100	$y=-13\,769x-6\,051.1$	0.999 6	0.1	0.2

注: $x$ 表示质量浓度, $y$ 表示该质量浓度下对应的色谱峰峰面积。

表3 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT和5-MeO-DiPT的回收率、基质效应和精密度

Tab. 3 The recovery rate, matrix effect and precision of 5-MeO-DALT, 5-MeO-MiPT and 5-MeO-DiPT

目标物	质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	回收率/%	基质效应/%	精密度/%	
				日内( $n=3$ )	日间( $n=9$ )
5-MeO-DALT	0.5	93.85	97.01	4.07	4.24
	5	85.00	93.97	2.19	2.54
	50	88.44	87.50	1.26	3.59
5-MeO-MiPT	0.5	92.69	96.17	4.11	2.95
	5	94.36	99.60	0.34	2.86
	50	86.95	88.65	3.14	0.41
5-MeO-DiPT	0.5	88.65	95.10	5.78	6.47
	5	84.86	90.24	1.32	7.50
	50	94.57	88.36	5.80	4.05

2.5 案例应用

某日,警方在执行任务过程中抓获一名疑似吸毒男子,经询问得知该男子所使用的是一款名为“犀牛液”的违禁品,其主要成分为5-MeO-DiPT。警方后续采集了这名男子的血液样品送至本单位进行分析检验,该血液样品经上述方法处理后得到的结果如图8所示。经检验,该涉案男子血液样品中确实存在5-MeO-DiPT,质量浓度约为1.4 ng/mL,由此可以证明上述建立的人体血液中色胺类新精神活性物质的检验方法能够应用于实际案件。

目前国内外关于3种色胺类物质的阳性案例报

道相对较少,GRAFINGER等<sup>[22]</sup>对1名疑似吸毒男子的血液和尿液进行了检验,共筛查出5种滥用药物,其中包括5-MeO-MiPT,其在血液和尿液中的质量浓度分别为0.16和3.38 μg/mL。WILSON等<sup>[4]</sup>报道了1名23岁白人男子服用含有5-MeO-DiPT的胶囊后接受治疗和检测的案例,在其服药4 h内取血液和尿液进行气相色谱-质谱联用检测,结果显示,5-MeO-DiPT的质量浓度分别为0.14和1.6 μg/mL。本案例经后续调查了解到,该吸毒男子从使用药物到被公安机关抓获时间间隔较长,大部分药物已经代谢,因此血液中5-MeO-DiPT的质量浓度相对较低。



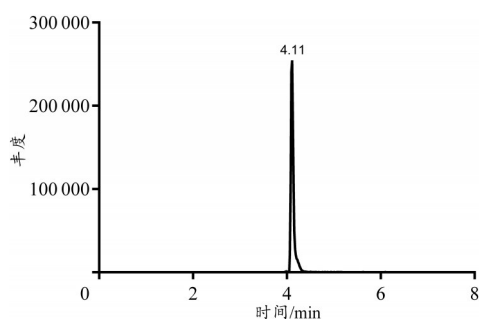


图8 涉案血液样品经本研究方法检验后的色谱图

Fig. 8 Chromatogram of the blood sample involved in the case tested by the method of this study

## 2.6 结论

本研究建立了 QuEChERS 前处理结合 UPLC-MS/MS 检测血液中 5-MeO-DALT、5-MeO-MiPT 和 5-MeO-DiPT 的方法,具有操作简单、LOD 低、回收率高等特点。该方法可以实现血液中 3 种色胺类新精神活性物质的快速定性定量分析,能够为其他色胺类物质的检验以及公安机关处理相关案件提供一定的借鉴与参考。

## 参考文献:

- [1] 王柔嘉,向平,于治国,等. 色胺类新精神活性物质的研究进展[J]. 中国司法鉴定,2019(4):43-55. doi:10.3969/j.issn.1671-2072.2019.04.007.  
WANG R J, XIANG P, YU Z G, et al. Research progress on new psychoactive tryptamines[J]. Zhongguo Sifa Jianding,2019(4):43-55.
- [2] NARIMATSU S, YONEMOTO R, SAITO K, et al. Oxidative metabolism of 5-methoxy-*N,N*-diisopropyltryptamine (Foxy) by human liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes[J]. Biochem Pharmacol,2006,71(9):1377-1385. doi:10.1016/j.bcp.2006.01.015.
- [3] TANAKA E, KAMATA T, KATAGI M, et al. A fatal poisoning with 5-methoxy-*N,N*-diisopropyltryptamine, Foxy[J]. Forensic Sci Int,2006,163(1/2):152-154. doi:10.1016/j.forsciint.2005.11.026.
- [4] WILSON J M, MCGEORGE F, SMOLINSKE S, et al. A foxy intoxication[J]. Forensic Sci Int,2005,148(1):31-36. doi:10.1016/j.forsciint.2004.04.017.
- [5] MARTINS C P B, FREEMAN S, ALDER J F, et al. Profiling psychoactive tryptamine-drug synthesis by focusing on detection using mass spectrometry[J]. TrAC,2010,29(4):285-296. doi:10.1016/j.trac.2010.01.009.
- [6] 黑海,王继芬. 色胺类新精神活性物质检验方法研究进展[J]. 化学研究与应用,2019,31(11):1869-1878.  
HEI H, WANG J F. Advances in the methods for detecting new psychoactive substances of tryptamine[J]. Huaxue Yanjiu Yu Yingyong,2019,31(11):1869-1878.
- [7] CORKERY J M, DURKIN E, ELLIOTT S, et al. The recreational tryptamine 5-MeO-DALT (*N,N*-diethyl-5-methoxytryptamine): A brief review[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,2012,39(2):259-262. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.05.022.
- [8] ISHIDA T, KUDO K, KIYOSHIMA A, et al. Sensitive determination of  $\alpha$ -methyltryptamine (AMT) and 5-methoxy-*N,N*-diisopropyltryptamine (5MeO-DIPT) in whole blood and urine using gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2005,823(1):47-52. doi:10.1016/j.jchromb.2004.10.067.
- [9] VORCE S P, SKLEROV J H. A general screening and confirmation approach to the analysis of designer tryptamines and phenethylamines in blood and urine using GC-EI-MS and HPLC-electrospray-MS[J]. J Anal Toxicol,2004,28(6):407-410. doi:10.1093/jat/28.6.407.
- [10] 施妍,王柔嘉,强火生,等. 头发中 5-MeO-DiPT 等 12 种新型色胺类致幻剂的 UPLC-MS/MS 分析方法研究[J]. 中国司法鉴定,2020(2):17-24. doi:10.3969/j.issn.1671-2072.2020.02.003.  
SHI Y, WANG R J, QIANG H S, et al. Research on the analytical method of new tryptamine hallucinogens such as 5-MeO-DiPT in hair samples by UPLC-MS/MS[J]. Zhongguo Sifa Jianding,2020(2):17-24.
- [11] 郭建军,陈波,郑海燕,等. LC-MS/MS 测定人血浆中厄贝沙坦和氢氯噻嗪的含量及其应用[J]. 中国现代应用药学,2021,38(1):63-70. doi:10.13748/j.cnki.issn.1007-7693.2021.01.010.  
GUO J J, CHEN B, ZHENG H Y, et al. Determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in human plasma by LC-MS/MS and its application[J]. Zhongguo Xiandai Yingyong Yaoxue,2021,38(1):63-70.
- [12] 杨杨,张晓光,于峰,等. 血液中常见除草剂的 UPLC-HRMS 分析[J]. 法医学杂志,2018,34(6):590-594,600. doi:10.12116/j.issn.1004-5619.2018.06.003.  
YANG Y, ZHANG X G, YU F, et al. Analysis of common herbicides in blood by UPLC-HRMS[J]. Fayixue Zazhi,2018,34(6):590-594,600.
- [13] 刘筱雪,黄晨蓉,薛领,等. UPLC-MS/MS 法测定人尿液中替芬泰及其代谢物浓度[J]. 中国新药杂志,2020,29(14):1628-1635. doi:10.3969/j.issn.1003-3734.2020.14.013.  
LIU X X, HUANG C R, XUE L, et al. A validated UPLC-MS/MS method for determination of Y101 and its metabolites in human urine[J]. Zhongguo Xinyao Zazhi,2020,29(14):1628-1635.
- [14] MEYER M R, CASPAR A, BRANDT S D, et al. A qualitative/quantitative approach for the detection of 37 tryptamine-derived designer drugs, 5 $\beta$ -carbolines, ibogaine, and yohimbine in human urine and plasma using standard urine screening and multi-analyte approaches[J]. Anal Bioanal Chem,2014,406(1):225-237. doi:10.1007/s00216-013-7425-9.
- [15] TANG M H Y, CHING C K, LEE C Y W, et

- al. Simultaneous detection of 93 conventional and emerging drugs of abuse and their metabolites in urine by UHPLC-MS/MS[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2014, 969: 272-284. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.08.033.
- [16] TURCANT A, DEGUIGNE M, FEREC S, et al. A 6-year review of new psychoactive substances at the *Centre antipoison Grand-Ouest d'Angers*: Clinical and biological data[J]. Toxicologie Analytique et Clinique, 2017, 29(1): 18-33. doi: 10.1016/j.toxac.2016.12.001.
- [17] 刘洋, 何小维, 刘晓云, 等. QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 检测血液中苯丙胺类及其相关 9 种物质[J]. 分析试验室, 2020, 39(1): 101-106. doi: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2019.042303.
- LIU Y, HE X W, LIU X Y, et al. Analysis of nine kinds of amphetamine-type compounds in blood by method of QuEChERS combined with UPLC-MS/MS[J]. Fenxi Shiyanshi, 2020, 39(1): 101-106.
- [18] 吕昱帆, 王继芬, 李超, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法检验腐败血中 4-甲基甲卡西酮和甲卡西酮[J]. 分析试验室, 2018, 37(9): 998-1002. doi: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2018.0193.
- LÜ Y F, WANG J F, LI C, et al. Analysis of 4-methyl methcathinone and methcathinone in putrefied blood using QuEChERS with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Fenxi Shiyanshi, 2018, 37(9): 998-1002.
- [19] 郑茜, 温美强, 贾娟, 等. HPLC-MS/MS 法测定大鼠血浆样品中 4-FMA 含量[J]. 法医学杂志, 2019, 35(4): 419-422. doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2019.04.007.
- ZHENG Q, WEN M Q, JIA J, et al. Determination of the content of 4-FMA in rat plasma samples by HPLC-MS/MS method[J]. Fayixue Zazhi, 2019, 35(4): 419-422.
- [20] 黎小鹏, 李拥军, 刘红梅, 等. QuEChERS 前处理—高效液相色谱仪检测多种蔬菜水果中 10 种氨基甲酸酯农药残留[J]. 现代农业科技, 2014(13): 138-140.
- LI X P, LI Y J, LIU H M, et al. The multi-residues analysis of 10 carbamate pesticides in fruits and vegetables with QuEChERS by liquid chromatography[J]. Xiandai Nongye Keji, 2014(13): 138-140.
- [21] 宓捷波, 许迪明, 李淑静, 等. 奶粉中残留兽药的 QuEChERS 方法应用研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 121-125. doi: 10.3969/j.issn.1005-6521.2015.02.030.
- MI J B, XU D M, LI S J, et al. Applied research on QuEChERS using to determine veterinary drugs residues in milk powder[J]. Shipin Yanjiu Yu Kaifa, 2015, 36(2): 121-125.
- [22] GRAFINGER K E, HÄDENER M, KÖNIG S, et al. Study of the *in vitro* and *in vivo* metabolism of the tryptamine 5-MeO-MiPT using human liver microsomes and real case samples[J]. Drug Test Anal, 2018, 10(3): 562-574. doi: 10.1002/dta.2245.

(收稿日期: 2021-02-03)

(本文编辑: 严慧)

(上接第 515 页)

- [6] 张润生, 张玉荣, 王威. 赛洛新的气相色谱-质谱分析研究[J]. 质谱学报, 2004, 25(2): 73-76.
- ZHANG R S, ZHANG Y R, WANG W. Analysis of psilocine by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Zhipu Xuebao, 2004, 25(2): 73-76.
- [7] RAMBOUSEK L, PALENICEK T, VALES K, et al. The effect of psilocin on memory acquisition, retrieval, and consolidation in the rat[J]. Front Behav Neurosci, 2014, 8: 180. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00180.
- [8] HOFMANN A, TROXLER F. Identification of psilocin[J]. Experientia, 1959, 15(3): 101-102. doi: 10.1007/BF02166696.
- [9] SHERWOOD A M, HALBERSTADT A L, KLEIN A K, et al. Synthesis and biological evaluation of tryptamines found in hallucinogenic mushrooms: Norbaeocystin, baeocystin, norpsilocin, and aeruginascin[J]. J Nat Prod, 2020, 83(2): 461-467. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01061.
- [10] FRICKE J, SHERWOOD A, KARGBO R, et al. Enzymatic route toward 6-methylated baeocystin and psilocybin[J]. Chembiochem, 2019, 20(22): 2824-2829. doi: 10.1002/cbic.201900358.
- [11] LENZ C, WICK J, HOFFMEISTER D. Identification of  $\omega$ -N-methyl-4-hydroxytryptamine (norpsilocin) as a *Psilocybe* natural product[J]. J Nat Prod, 2017, 80(10): 2835-2838. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00407.
- [12] LEUNG A Y, PAUL A G. Baeocystin and norbaeocystin: New analogs of psilocybin from *Psilocybe baeocystis*[J]. J Pharm Sci, 1968, 57(10): 1667-1671. doi: 10.1002/jps.2600571007.
- [13] GOTVALDOVÁ K, HÁJKOVÁ K, BOROVIČKA J, et al. Stability of psilocybin and its four analogs in the biomass of the psychotropic mushroom *Psilocybe cubensis*[J]. Drug Test Anal, 2021, 13(2): 439-446. doi: 10.1002/dta.2950.

(收稿日期: 2021-03-31)

(本文编辑: 严慧)