

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质

LCMSMS-759

**摘要：** 本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 测定血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质。本实验用甲卡西酮-D3 作为内标，采用内标法建立基质校准曲线，线性范围为 2~200 ng/mL，各目标物相关系数均大于 0.998，准确度在 84.8%~119.8% 之间。重复性保留时间和峰面积 RSD% 分别在 0.01 %~0.23 % 和 0.07 %~8.67 % 之间。样品中各化合物的加标回收率在 76.1~103.9% 之间，RSD% 在 0.39 ~8.44% 之间。

**关键词：** CLAM-2030 在线自动前处理 血液 合成卡西酮

## 技术特点：

- ❖ 自动前处理仪 CLAM-2030 与 LCMS/MS 在线联用，无需手动操作，前处理简单方便。
- ❖ 13 分钟完成 15 种合成卡西酮类化合物的定性定量分析。

合成卡西酮是一种具有强烈兴奋和致幻作用的新精神活性物质。起初用作抗抑郁和抗震颤麻痹的药物，但最终都由于成瘾和滥用的问题而退出使用。吸食卡西酮类物质能导致类似甲基苯丙胺的兴奋作用和类似麦角酸二乙胺（LSD）的致幻作用，同时还伴有心动过速、血压升高等反应。我国对合成卡西酮类新精神活性物质主要采取列管的方式，目前已列管 50 多种合成卡西酮。

合成卡西酮类物质种类繁多，主要的检测方法有气相色谱质谱法、液相色谱质谱法和光谱法等，常存在前处理复杂，耗时长，有机溶剂污染等问题。蛋白沉淀法是毒物分析过程中对生物样品进行前处理的一种常用方

式。对于富含蛋白质的检材，在进行分离、提取时要将大量干扰测定的蛋白质沉淀除去，使待测毒物仍留存于溶液中。但是离线蛋白沉淀法操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀剂和生物样品，具有潜在的生物危害风险。

岛津开发的 CLAM-2030 与 LC-MS/MS 联用系统，可对全血、血浆、血清、尿液、唾液等生物样品自动进行蛋白沉淀操作，然后将上清液自动传输至 LC-MS/MS 进行定量检测。本文利用该系统建立了血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质检测方法，分析速度快，准确度高，可供公安司法领域检测人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20A	质谱仪：	LCMS-8050
前处理模块：	CLAM-2030	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.93



图 1 CLAM-2030+LCMS-8050 联用系统

## 1.2 分析条件

## 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)  
 流 动 相 : A-10mM 甲酸铵 +0.1% 甲酸 - 水溶液; B-0.1% 甲酸 - 乙腈溶液  
 进 样 体 积 : 1  $\mu$ L 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C  
 流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇 / 水 =1:1 (v:v)  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B Conc	5
6.00	泵	B Conc	16
7.00	泵	B Conc	16
9.00	泵	B Conc	70
10.00	泵	B Conc	70
10.10	泵	B Conc	5
13.00	控制器	STOP	

## 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)  
 加热气流速 : 空气 10.0 L/min  
 雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min  
 干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min  
 扫描模式 : 多反应监测 (MRM)

加热模块温度 : 400 $^{\circ}$ C  
 接 口 温 度 : 300 $^{\circ}$ C  
 D L 温 度 : 250 $^{\circ}$ C  
 接 口 电 压 : 4 kV  
 MRM 参 数 : 见表 2

表 2 15 种卡西酮类新精神活性物质和内标的 MRM 参数

序号	中文名称	英文缩写	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	(S)- 卡西酮	(S)-Cathinone	150.05	117.10*	-19	-24	-22
				132.10	-29	-17	-30
2	甲卡西酮	MC	164.10	131.05*	-19	-21	-21
				146.15	-13	-17	-28
3	3,4- 亚甲二氧基甲卡西酮	Methylone	208.05	160.05*	-13	-19	-14
				132.05	-18	-28	-23
4	2- 氟甲卡西酮	2-FMC	182.05	149.10*	-11	-23	-24
				164.10	-23	-17	-30
5	4- 氟甲卡西酮	4-FMC	182.05	149.10*	-15	-22	-23
				164.10	-24	-17	-29
6	乙卡西酮	Ethcathinone	178.10	130.05*	-23	-30	-22
				160.15	-24	-17	-30
7	4- 氯乙卡西酮	4-CEC	212.05	144.05*	-12	-29	-25
				194.05	-26	-14	-30

8	3,4-亚甲二氧基丙卡西酮	Propylone	236.10	188.10 *	-11	-19	-19
				218.15	-14	-16	-22
9	4-氟乙卡西酮	4-FEC	196.10	150.10*	-16	-19	-14
				178.10	-12	-16	-29
10	4-溴乙卡西酮	4-BEC	256.00	159.10 *	-22	-18	-14
				144.05	-30	-29	-26
11	6-甲氧基-3,4-亚甲二氧基甲卡西酮	6-MeO-Methylone	238.05	58.15*	-15	-13	-20
				190.10	-30	-18	-30
12	4-甲基甲卡西酮	4-MMC	178.10	145.10*	-22	-21	-23
				160.15	-23	-16	-30
13	3-甲基甲卡西酮	3-MMC	178.10	145.10*	-21	-23	-24
				160.10	-23	-17	-30
14	4-溴甲卡西酮	4-BMC	242.00	145.10*	-11	-17	-22
				132.00	-21	-22	-26
15	3,4-亚甲二氧基乙卡西酮	Ethylone	222.10	174.10 *	-11	-20	-17
				204.10	-13	-15	-21
16	甲卡西酮-D3	MC-D3	167.10	149.15*	-22	-16	-23
				131.10	-20	-22	-25

\* 代表定量离子对。

### 1.3 校准曲线溶液配制

分别取 15 种卡西酮类新精神活性物质对照品储备液 (100 µg/mL)，用甲醇逐级稀释，分别得到 20, 50, 100, 250, 500, 1000 和 2000 ng/mL 的混合标准工作溶液。分别取各浓度的混合标准工作溶液 100 µL，加入 900 µL 空白血液得到浓度分别为 2, 5, 10, 25, 50, 100 和 200 ng/mL 基质校准曲线溶液。

### 1.4 样品前处理

在 CLAM-2030 工作站界面优化自动前处理参数、蛋白沉淀剂使用量、震摇转速、震摇时间、抽滤时间等。确定样品自动前处理程序具体操作为：

- (1) 吸取 20 µL 甲醇活化过滤管，准备上样；
- (2) 吸取基质校准曲线溶液或血液样品 60 µL 上样；
- (3) 吸取样本提取剂 180 µL；
- (4) 转速 3500 rpm 震摇 120 s 进行提取；
- (5) 使用 -50~-60 kPa 的负压抽滤过滤管 90 s；
- (6) 接收管转移至自动进样器，进样 1 µL (详见图 2)。

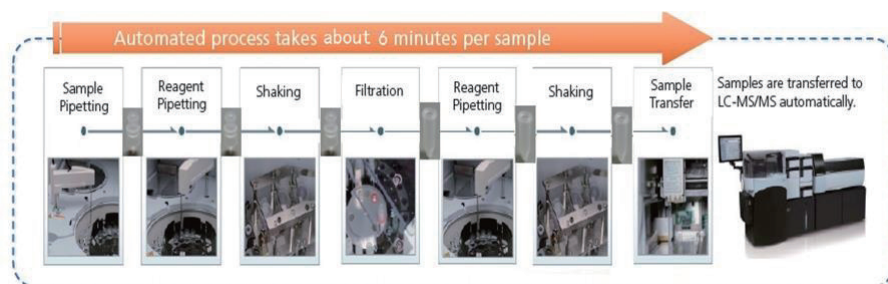


图 2 CLAM-2030 在线自动前处理过程

## ■ 结果与讨论

### 2.1 基质校准曲线溶液 MRM 色谱图

按 1.2 中的分析条件进行测定，2 ng/mL 的基质校准曲线溶液中各化合物的 S/N 均大于 10，灵敏度良好，符合定量要求。部分卡西酮类物质的 MRM 色谱图如下图 3 所示。

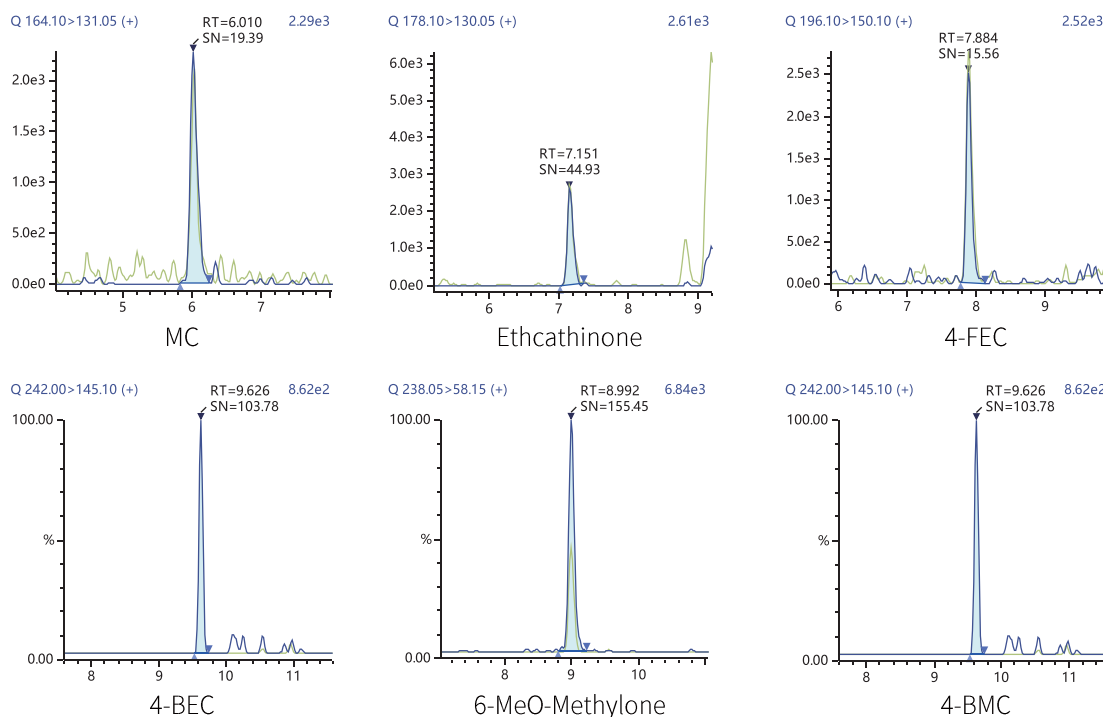


图 3 部分卡西酮类新精神活性物质基质校准曲线溶液 MRM 色谱图 (2 ng/mL)

### 2.2 线性范围

按 1.2 中的分析条件进行测定，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以内标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性范围为 2~200 ng/mL，线性关系良好，相关系数均大于 0.998，准确度在 84.8%~119.8% 之间，线性方程等参数见表 3。

表 3 校准曲线参数 (权重 1/C)

序号	名称	校准曲线	相关系数 r	准确度 %
1	(S)-Cathinone	$Y = (0.0776441)X + (0.00151952)$	0.9994	84.8~110.2
2	MC	$Y = (0.176612)X + (0.00171417)$	0.9996	91.4~111.5
3	Methylone	$Y = (0.647316)X + (-0.000257633)$	0.9994	95.3~104.6
4	2-FMC	$Y = (0.0578112)X + (-0.00286812)$	0.9988	91.5~111.0
5	4-FMC	$Y = (0.220839)X + (-0.00264703)$	0.9995	93.4~106.0
6	Ethcathinone	$Y = (0.242044)X + (-0.00240607)$	0.9994	96.2~105.3
7	4-CEC	$Y = (0.0597824)X + (-0.000973565)$	0.9986	91.3~112.2
8	Propylone	$Y = (0.409115)X + (0.000807178)$	0.9997	96.6~103.3
9	4-FEC	$Y = (0.165579)X + (0.000854461)$	0.9989	90.9~106.5
10	4-BEC	$Y = (0.0769105)X + (-0.00434444)$	0.9981	89.4~119.8
11	6-MeO-Methylone	$Y = (0.441806)X + (0.00453396)$	0.9998	96.2~103.9

12	4-MMC	$Y = (0.181843)X + (-0.00813112)$	0.9985	85.2~119.8
13	3-MMC	$Y = (0.770083)X + (0.00770517)$	0.9992	97.2~106.2
14	4-BMC	$Y = (0.0645581)X + (-0.00190425)$	0.9996	93.4~106.0
15	Ethylone	$Y = (0.527000)X + (0.00488459)$	0.9995	93.3~107.8

### 2.3 精密度实验

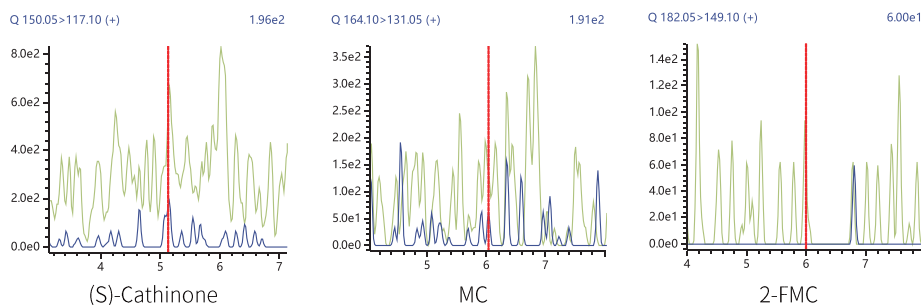
按 1.2 中的分析条件进行测定，选择低中高三个浓度对照品溶液，分别连续进样测定 3 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的相对标准偏差如表 4 所示，RSD% 分别在 0.01%~0.23% 和 0.07%~8.67% 之间，实验结果表明，该分析方法具有良好的精密度。

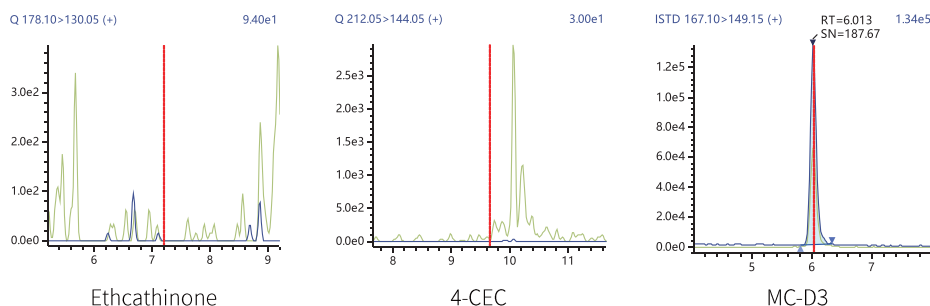
表 4 保留时间和峰面积精密度结果 (n=3)

序号	名称	低浓度 (5 ng/mL)		中浓度 (25 ng/mL)		高浓度 (200 ng/mL)	
		保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
1	(S)-Cathinone	0.23	7.00	0.18	5.93	0.06	0.07
2	MC	0.08	2.98	0.04	3.79	0.03	0.90
3	Methylone	0.04	4.23	0.04	3.49	0.05	0.77
4	2-FMC	0.06	8.62	0.13	4.07	0.06	3.96
5	4-FMC	0.01	7.36	0.05	6.17	0.02	1.48
6	Ethcathinone	0.07	7.48	0.05	6.21	0.05	0.91
7	4-CEC	0.02	3.97	0.02	6.95	0.05	1.78
8	Propylone	0.01	5.90	0.01	7.20	0.04	3.04
9	4-FEC	0.10	8.40	0.03	4.84	0.04	1.22
10	4-BEC	0.01	2.27	0.02	6.81	0.05	1.17
11	6-MeO-Methylone	0.05	4.00	0.01	6.03	0.04	2.67
12	4-MMC	0.04	8.67	0.01	3.51	0.05	1.04
13	3-MMC	0.02	3.09	0.01	5.53	0.05	1.67
14	4-BMC	0.02	6.03	0.03	6.03	0.04	0.55
15	Ethylone	0.02	5.17	0.03	5.92	0.04	2.67

### 2.4 实际样品分析

取 1 mL 血液样品置于标准样品杯中，放置在 CLAM-2030 的样品盘上，仪器自动按 1.4 程序前处理后，输送到 LC-MS/MS 自动进样器进行分析，结果如图 4 所示，所测样品中未检出 15 种合成卡西酮类新精神活性物质，检出内标物甲卡西酮 -D3。





注：图中红色竖线表示目标物的出峰位置

图 4 血液样品溶液中部分化合物和内标物的 MRM 色谱图

## 2.5 回收率

向血液样品溶液添加 15 种卡西酮类新精神活性物质标准品溶液，配制成 15 种卡西酮类新精神活性物质浓度为 25 和 200 ng/mL 的样品加标溶液，每个水平重复测定 3 次，质控样品的准确度和精密度结果如表 5 所示，平均回收率在 76.1~103.9% 之间，RSD% 在 0.39~8.44% 之间。

表 5 方法回收率结果 (n=3)

序号	名称	加标浓度 (25 ng/mL)		加标浓度 (200 ng/mL)	
		回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)	回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)
1	(S)-Cathinone	85.7	6.35	103.9	3.96
2	MC	86.7	6.49	100.2	3.61
3	Methylone	91.7	4.27	102.2	3.63
4	2-FMC	85.6	0.39	87.7	4.69
5	4-FMC	82.9	2.55	96.9	4.10
6	Ethcathinone	85.3	3.24	97.8	2.69
7	4-CEC	76.1	3.92	88.9	5.14
8	Propylone	89.7	3.51	98.0	3.42
9	4-FEC	84.0	2.23	96.6	4.63
10	4-BEC	91.0	8.44	87.6	5.59
11	6-MeO-Methylone	89.7	3.46	103.1	4.44
12	4-MMC	82.5	1.08	98.3	4.55
13	3-MMC	85.9	2.03	98.7	3.37
14	4-BMC	81.6	3.88	88.1	1.78
15	Ethylone	91.9	2.24	102.2	3.37

## ■ 结论

本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 测定血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质。此联用系统从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤以及将处理完的样品输送到 LCMS/MS 自动进样器，全部仪器自动完成。不涉及手动前处理操作，减小了人为误差，提高分析的准确度。本实验的方法学数据表明，该方法线性、重复性和加标回收率均满足检测需求，可供公安司法领域检测人员参考。

岛津应用云

