尿液中卡西酮類之檢驗方法(三)

Method of Test for Synthetic Cathinones in Urine (3)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於尿液中cathinone等73品項卡西酮類及代謝物(品項詳見附表)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經稀釋後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。

2.1. 裝置：

2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：

2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。

2.1.1.2. 層析管：Phenomenex Kinetex® Biphenyl，1.7 µm，內徑2.1 mm × 10 cm，或同級品。

2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。

2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。

2.2. 試藥：甲醇、甲酸及醋酸銨均採用液相層析級；人工尿液(UTAK 88121-CDF(L)，或同級品)採用試藥級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；cathinone等73品項對照用標準品；methcathinone-d_3等14品項同位素內部標準品(品項詳見附表)。

2.3. 器具與材料：

2.3.1. 容量瓶：10 mL。

2.3.2. 濾膜：孔徑0.22 µm，PVDF材質。

2.4. 50%甲醇溶液之調製：

取甲醇及去離子水以1：1 (v/v)比例混勻。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液A：

稱取醋酸銨0.4 g，以去離子水溶解使成1000 mL，加入甲酸1 mL，混合均勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2.5.2. 移動相溶液B：

取甲醇1000 mL，加入甲酸1 mL，混合均勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

2.6. 內部標準溶液之配製：

取同位素內部標準品各約1 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，於-20°C避光儲存。臨用時取適量各內部標準原液混合，以50%甲醇溶液稀釋至100

ng/mL，供作內部標準溶液。

2.7. 標準溶液之配製：

取對照用標準品各約1 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，於-20℃避光儲存。臨用時取適量各標準原液混合，以50%甲醇溶液稀釋至500 ng/mL，供作標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

將檢體混勻，精確量取50 μL，加入內部標準溶液50 μL，以50%甲醇溶液定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.9. 檢量線之製作：

將人工尿液作為空白檢體精確量取50 μL，分別添加標準溶液5～100 μL，加入內部標準溶液50 μL，以50%甲醇溶液定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢量線溶液，依下列條件進行分析。就各卡西酮類及其內部標準品之波峰面積比，與對應之各卡西酮類濃度，分別製作2.5～50 ng/mL之檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件(註)

層析管：Phenomenex Kinetex® Biphenyl，1.7 μm，內徑2.1 mm × 10 cm。

層析管溫度：40℃。

注入量：3 μL。

移動相溶液：A液與B液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 0.5	98 → 80	2 → 20
0.5 → 3.0	80 → 62	20 → 38
3.0 → 3.2	62 → 62	38 → 38
3.2 → 5.0	62 → 41	38 → 59
5.0 → 5.4	41 → 41	59 → 59
5.4 → 6.6	41 → 33	59 → 67
6.7 → 7.0	33 → 10	67 → 90
7.0 → 8.0	10 → 0	90 → 100
8.0 → 8.5	0 → 0	100 → 100
8.5 → 8.6	0 → 98	100 → 2
8.6 → 11.0	98 → 98	2 → 2

移動相流速：0.5 mL/min。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：5.5 kV。

離子化模式：ESI正離子。

加熱管溫度(Turbo heater temperature)：550℃。

霧化氣體(Nebulizer gas, GS1)：50 psi。

輔助加熱氣體(Heated gas, GS2)：60 psi。

氣簾氣體(Curtain gas)：30 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：Medium。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)如附表。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.10. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及檢量線溶液各3 μL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.9.節條件進行分析。就檢體與檢量線溶液所得波峰之滯留時間及相對離子強度(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各卡西酮類之含量(ng/mL)：

$$\text{檢體中各卡西酮類之含量(ng/mL)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中各卡西酮類之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之體積(mL)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20～50	± 25
> 10～20	± 30
≦ 10	± 50

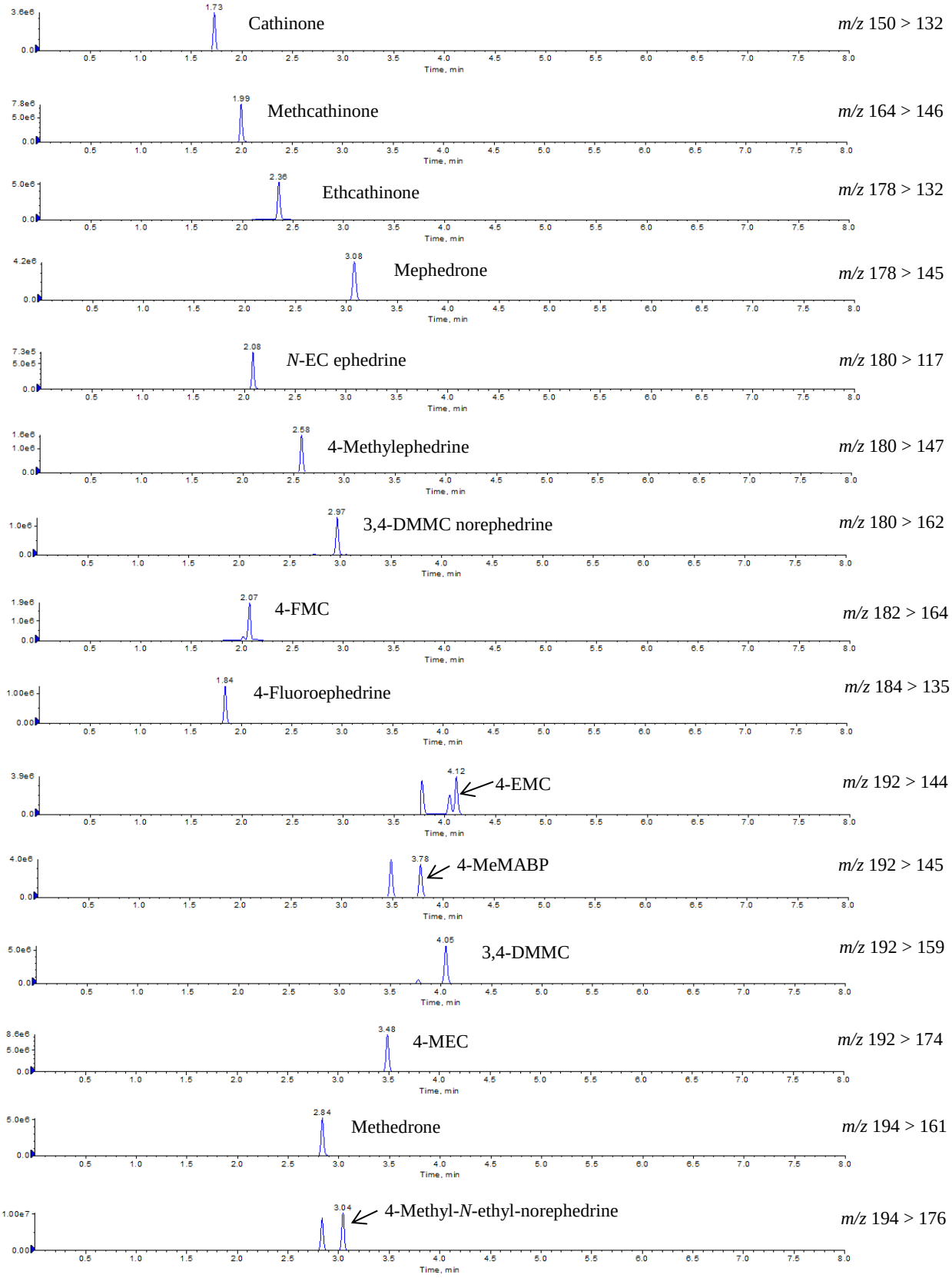
附註：1. 本檢驗方法之定量極限，cathinone等73品項均為50 ng/mL。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

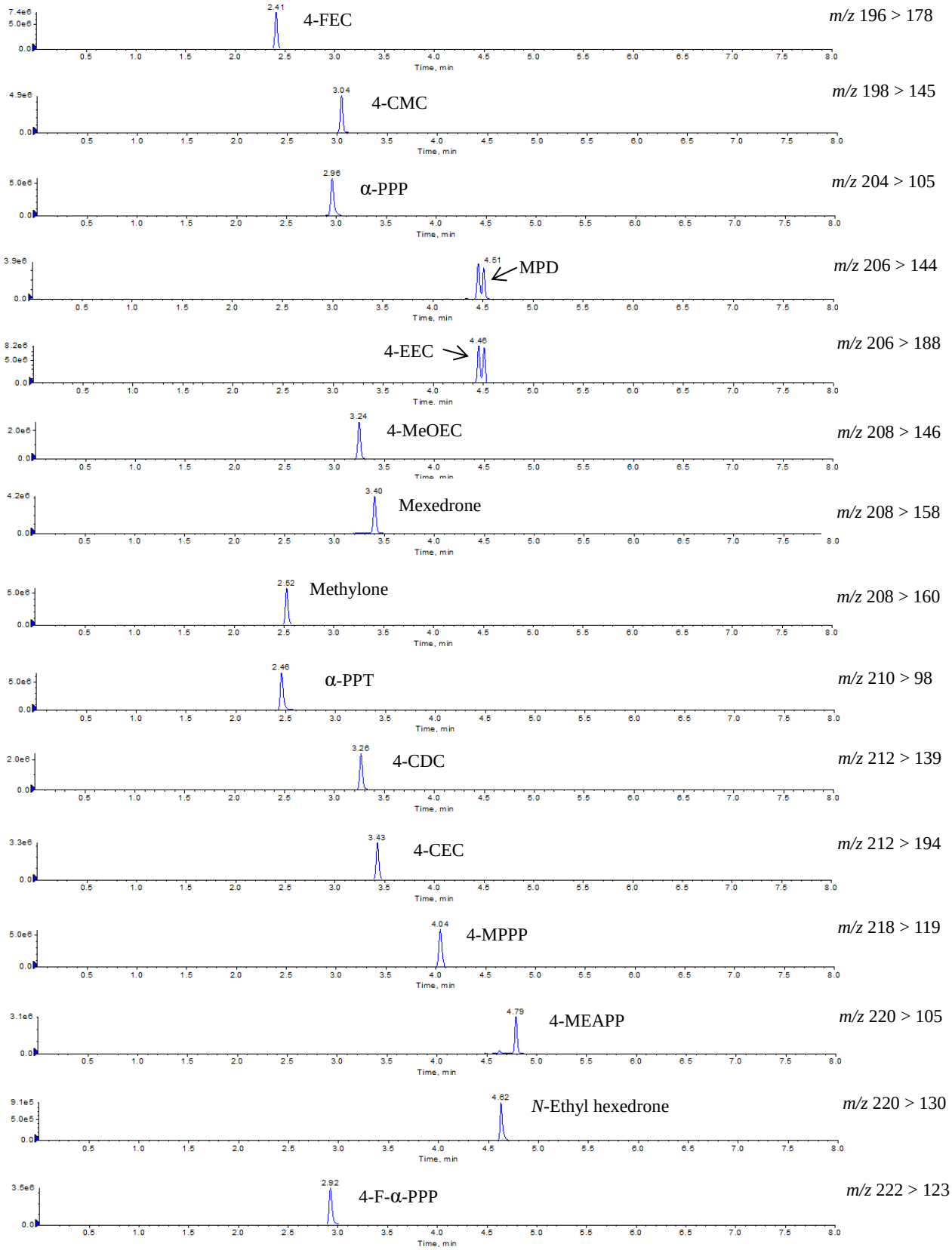
參考文獻：

Al-Saffar, Y., Stephanson, N. N. and Beck, O. 2013. Multicomponent LC-MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine-experience from the Swedish population. J. Chromatogr. B 930: 112-120.

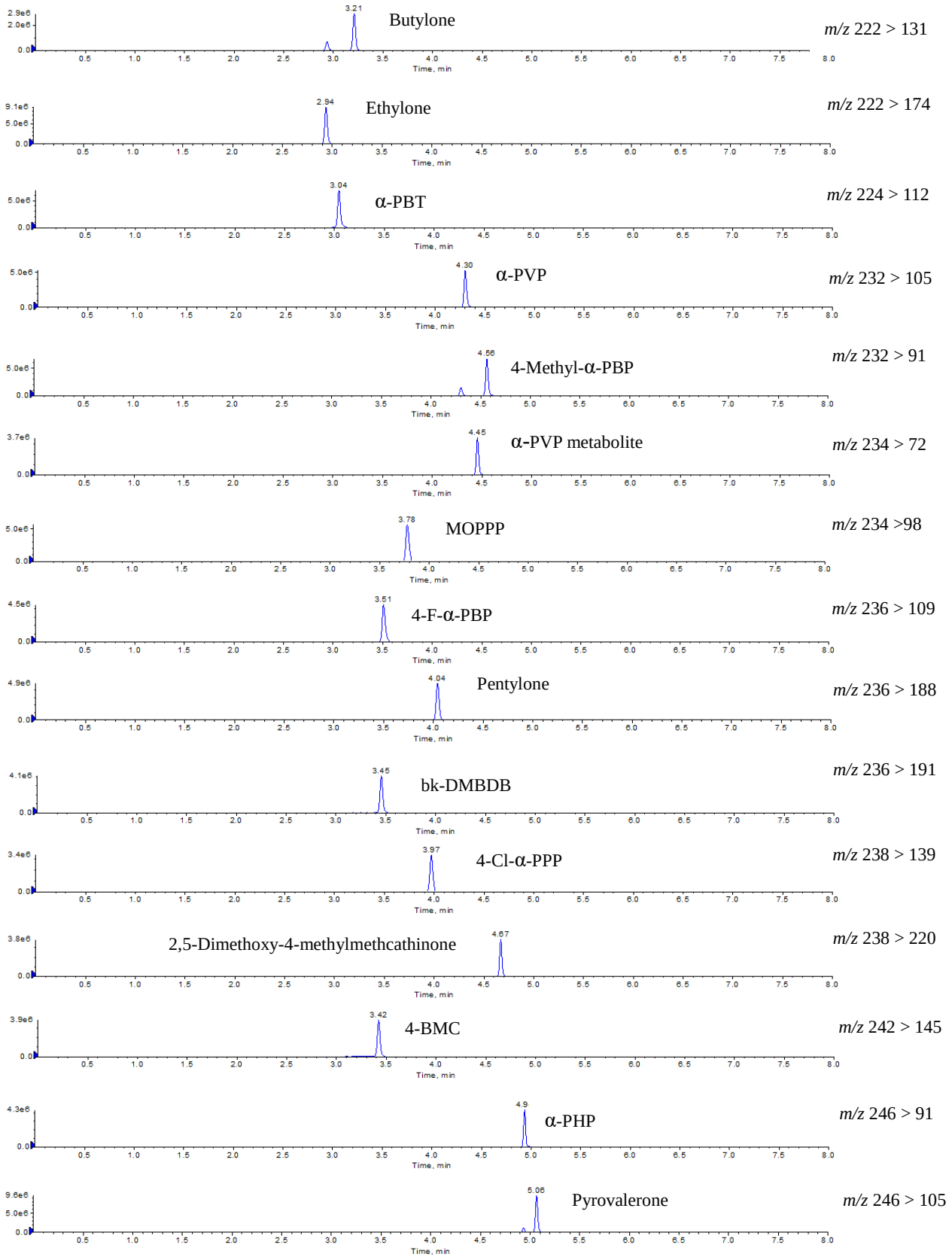
參考層析圖譜



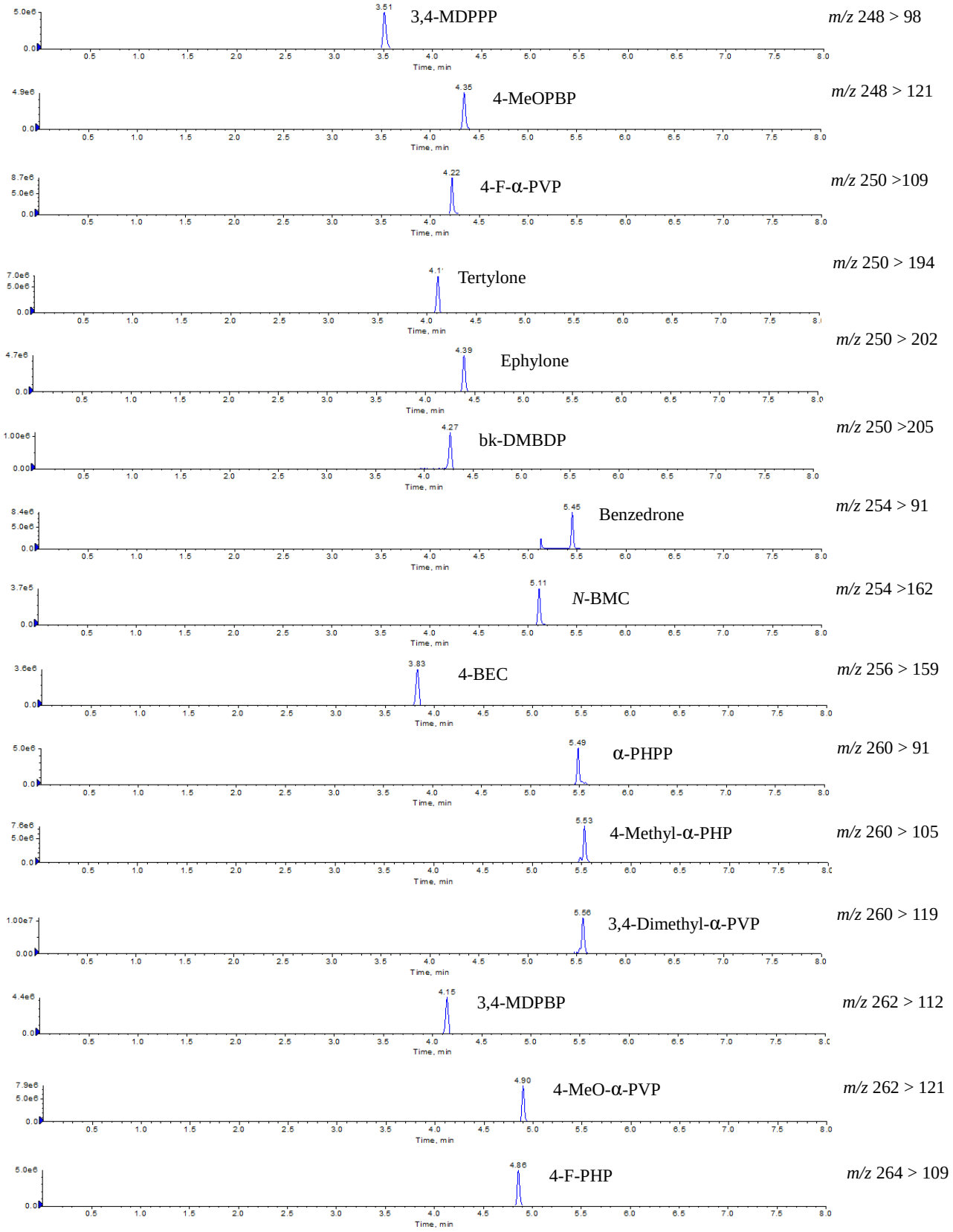
圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜



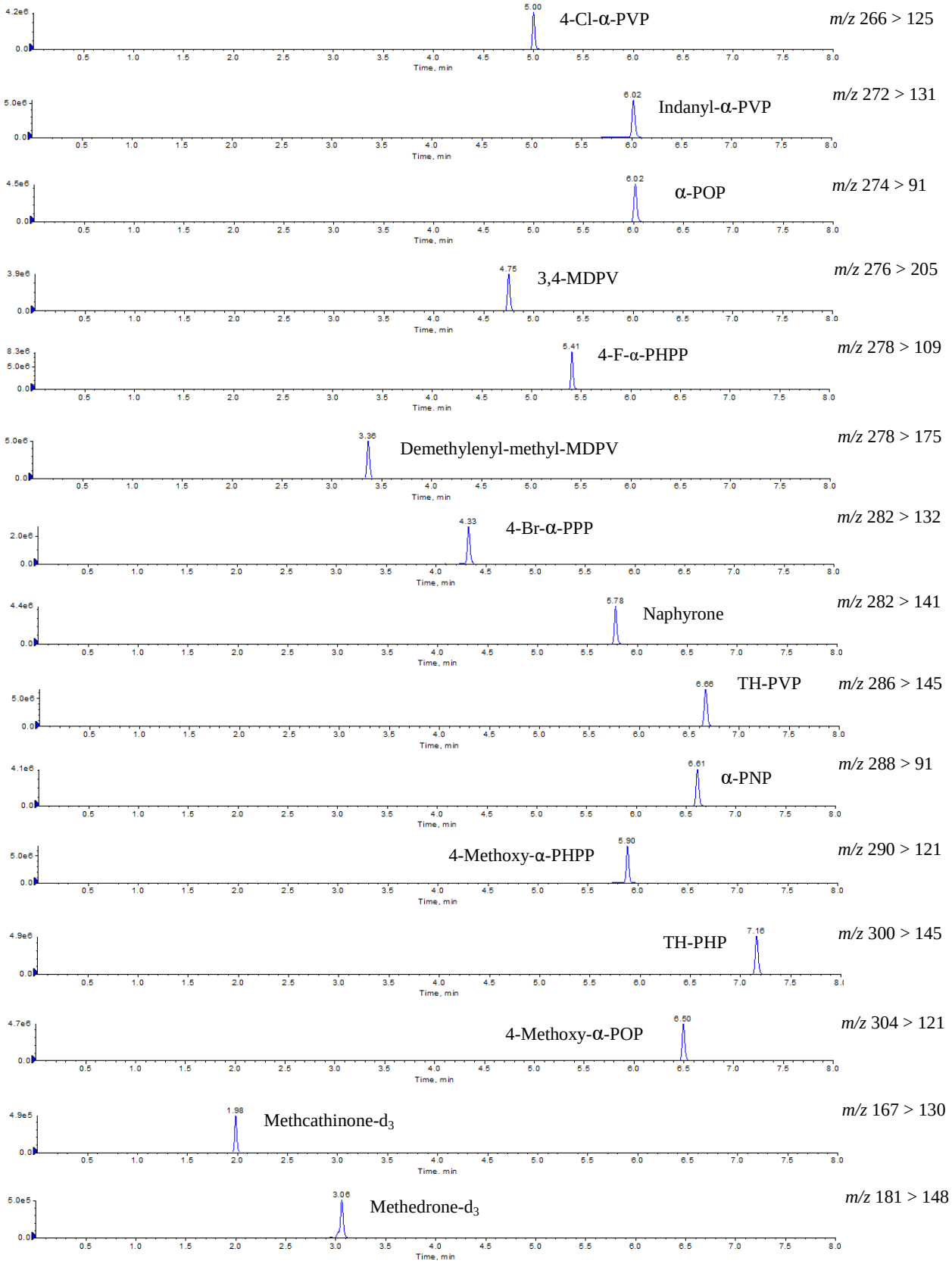
圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



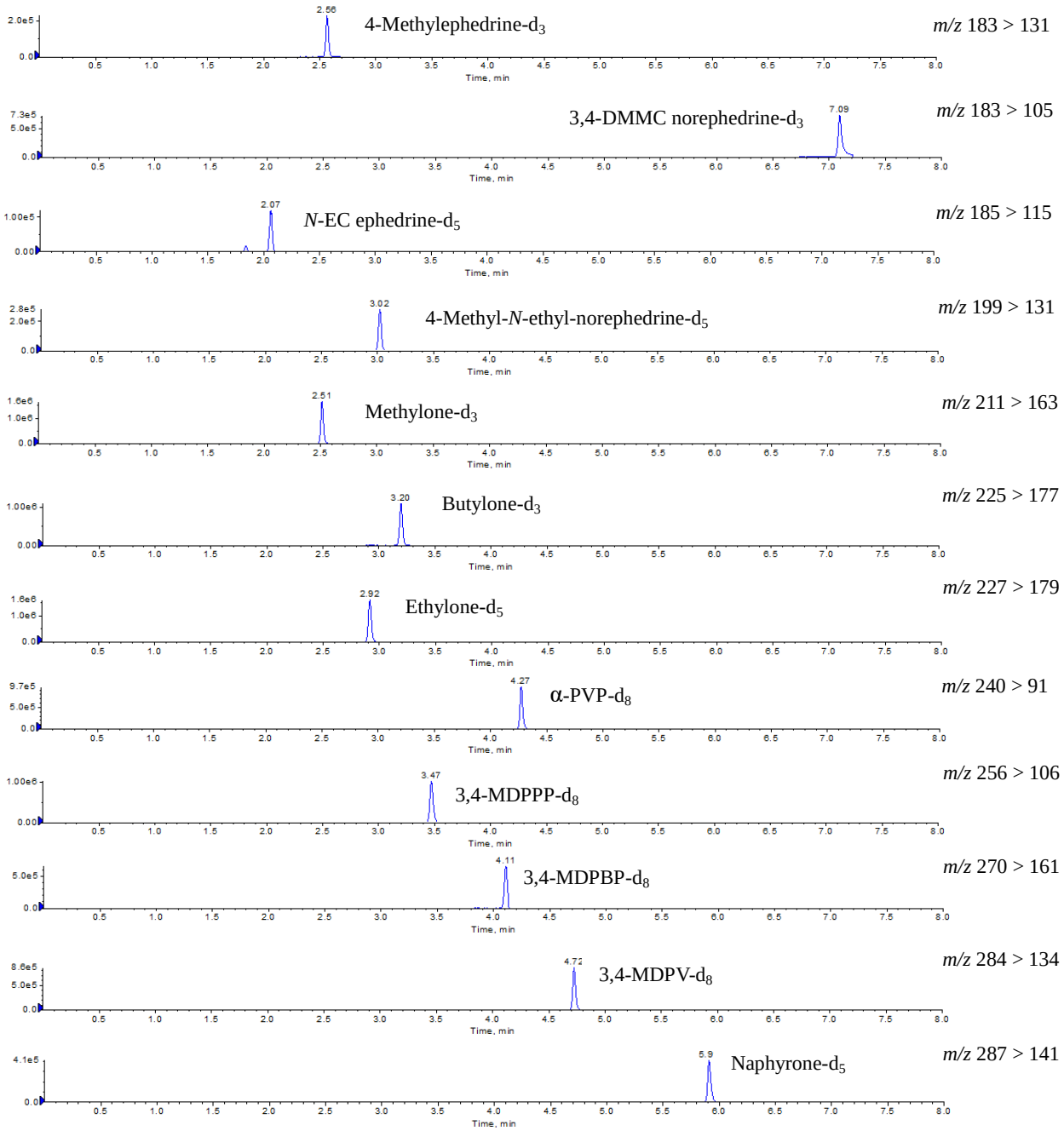
圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC/MS/MS分析尿液中cathinone等73項卡西酮類標準品及methcathinone-d_3等14項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
Cathinone	150 > 132*	19	16	Methylone-d_3
	150 > 117	19	30	
Methcathinone	164 > 146*	33	17	Methcathinone-d_3
	164 > 131	33	28	
Ethcathinone	178 > 132*	48	24	α-PVP-d_8
	178 > 130	48	40	
4-Methylmethcathinone (Mephedrone)	178 > 145*	37	28	Methedrone-d_3
	178 > 144	37	39	
N-Ethylcathinone ephedrine	180 > 117*	19	29	*N*-EC ephedrine-d_5
(*N*-EC ephedrine)	180 > 115	19	39	
4-Methylephedrine	180 > 147*	24	29	4-Methylephedrine-d_3
	180 > 91	24	35	
3,4-Dimethylmethcathinone norephedrine	180 > 162*	22	15	3,4-DMMC norephedrine-d_3
(3,4-DMMC norephedrine)	180 > 130	22	33	
4-Fluoromethcathinone (4-FMC)	182 > 164*	25	18	*N*-EC ephedrine-d_5
	182 > 149	25	28	
4-Fluoroephedrine	184 > 135*	17	27	3,4-DMMC norephedrine-d_3
	184 > 151	17	29	
4-Ethylmethcathinone (4-EMC)	192 > 144*	54	40	α-PVP-d_8
	192 > 77	54	67	
4-Methylbuphedrone (4-MeMABP)	192 > 145*	28	29	Methylone-d_3
	192 > 161	28	16	
3,4-Dimethylmethcathinone (3,4-DMMC)	192 > 159*	63	30	Methedrone-d_3
	192 > 158	63	41	
4-Methylethcathinone (4-MEC)	192 > 174*	41	17	Methedrone-d_3
	192 > 130	41	48	
4-Methoxymethcathinone (Methedrone)	194 > 161*	38	27	Butylone-d_3
	194 > 118	38	50	
4-Methyl-*N*-ethyl-norephedrine	194 > 176*	33	17	4-Methyl-*N*-ethyl-norephedrine-d_5
	194 > 131	33	28	

*定量離子對

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
4-Fluoroethcathinone (4-FEC)	196 > 178*	44	17	Methylone-d_3
	196 > 150	44	26	
4-Chloromethcathinone (4-CMC)	198 > 145*	34	26	3,4-MDPBP-d_8
	198 > 144	34	40	
α-Pyrrolidinopropiophenone (α-PPP)	204 > 105*	70	29	α-PVP-d_8
	204 > 98	70	33	
4-Methylpentedrone (MPD)	206 > 144*	62	44	Methylone-d_3
	206 > 105	62	27	
4-Ethylethcathinone (4-EEC)	206 > 188*	44	18	α-PVP-d_8
	206 > 159	44	27	
4-Methoxyethcathinone (4-MeOEC)	208 > 146*	55	40	Methedrone-d_3
	208 > 175	55	26	
Mexedrone	208 > 158*	41	19	Methylone-d_3
	208 > 176	41	17	
Methylone	208 > 160*	30	24	Methylone-d_3
	208 > 132	30	37	
α-Pyrrolidinopropiothiophenone (α-PPT)	210 > 98*	68	29	3,4-MDPPP-d_8
	210 > 111	68	33	
4-Chlorodimethylcathinone (4-CDC)	212 > 139*	43	28	Methylone-d_3
	212 > 167	43	22	
4-Chloroethcathinone (4-CEC)	212 > 194*	49	19	Methylone-d_3
	212 > 159	49	25	
4-Methyl-α-pyrrolidinopropiophenone (4-MPPP)	218 > 119*	30	34	Methylone-d_3
	218 > 147	30	25	
4-Methyl-α-ethylaminopentiophenone (4-MEAPP)	220 > 105*	54	30	Methcathinone-d_3
	220 > 160	54	26	
α-Ethylaminohexanophenone (*N*-Ethyl hexedrone)	220 > 130*	59	48	Methylone-d_3
	220 > 146	59	25	
4-Fluoro-α-pyrrolidinopropiophenone (4-F-α-PPP)	222 > 123*	34	32	3,4-MDPBP-d_8
	222 > 98	34	34	

*定量離子對

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
Butylone	222 > 131*	35	48	Butylone-d_3
	222 > 91	35	17	
Ethylone	222 > 174*	33	25	Ethylone-d_5
	222 > 146	33	35	
α-Pyrrolidinobutiothiophenone (α-PBT)	224 > 112*	66	29	3,4-MDPBP-d_8
	224 > 153	66	22	
α-Pyrrolidinovalerophenone (α-PVP)	232 > 91*	55	31	α-PVP-d_8
	232 > 123	55	35	
4-Methyl-α-pyrrolidinobutiophenone (4-Methyl-α-PBP)	232 > 105*	78	35	3,4-MDPBP-d_8
	232 > 161	78	24	
α-Pyrrolidinovalerophenone metabolite (α-PVP metabolite)	234 > 72*	63	25	α-PVP-d_8
	234 > 91	63	39	
4-Methoxy-α-pyrrolidinopropiophenone (MOPPP)	234 > 98*	78	28	Naphyrone-d_5
	234 > 135	78	32	
4-Fluoro-α-pyrrolidinobutiophenone (4-F-α-PBP)	236 > 109*	43	36	α-PVP-d_8
	236 > 165	43	24	
Pentylone	236 > 188*	32	24	Methylone-d_3
	236 > 218	32	18	
Dibutylone (bk-DMBDB)	236 > 191*	50	20	Methylone-d_3
	236 > 149	50	32	
4-Chloro-α-pyrrolidinopropiophenone (4-Cl-α-PPP)	238 > 139*	66	34	Ethylone-d_5
	238 > 98	66	39	
2,5-Dimethoxy-4-methylmethcathinone (2,5-Dimethoxy mephedrone)	238 > 220*	26	17	Methedrone-d_3
	238 > 189	26	28	
4-Bromomethcathinone (4-BMC)	242 > 145*	37	23	Methedrone-d_3
	242 > 128	37	61	
α-Pyrrolidinohexanophenone (α-PHP)	246 > 91*	81	32	3,4-MDPBP-d_8
	246 > 140	81	35	
Pyrovalerone	246 > 105*	81	32	3,4-MDPBP-d_8
	246 > 126	81	33	

*定量離子對

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 Methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
3,4-Methylenedioxy-α-pyrrolidinopropiophenone (3,4-MDPPP)	248 > 98*	73	30	Methylone-d_3
	248 > 149	73	34	
4-Methoxy-α-pyrrolidinobutiophenone (4-MeOPBP)	248 > 121*	58	38	Ethylone-d_5
	248 > 135	58	36	
4-Fluoro-α-pyrrolidinovalerophenone (4-F-α-PVP)	250 > 109*	64	32	Methylone-d_3
	250 > 126	64	35	
3,4-Methylenedioxy-*N*-tert-butylcathinone (Tertylone)	250 > 194*	18	18	Methylone-d_3
	250 > 146	18	29	
N-Ethylpentylone (Ephylone)	250 > 202*	40	26	3,4-MDPBP-d_8
	250 > 232	40	21	
N,*N*-Dimethylpentylone (bk-DMBDP)	250 > 205*	59	22	Methylone-d_3
	250 > 175	59	28	
Benzedrone	254 > 91*	36	45	3,4-MDPBP-d_8
	254 > 65	36	73	
N-Benzylmethcathinone (*N*-BMC)	254 > 162*	42	21	Methcathinone-d_3
	254 > 146	42	22	
4-Bromoethcathinone (4-BEC)	256 > 159*	50	24	Methcathinone-d_3
	256 > 144	50	39	
α-Pyrrolidinoheptiophenone (α-PHPP)	260 > 91*	85	32	3,4-MDPBP-d_8
	260 > 154	85	38	
4-Methyl-α-pyrrolidinohexanophenone (4-Methyl-α-PHP)	260 > 105*	93	31	3,4-MDPBP-d_8
	260 > 140	93	37	
3,4-Dimethyl-α-pyrrolidinovalerophenone (3,4-Dimethyl-α-PVP)	260 > 119*	45	31	3,4-MDPBP-d_8
	260 > 126	45	34	
3,4-Methylenedioxy-α-pyrrolidinobutiophenone (3,4-MDPBP)	262 > 112*	60	32	Methylone-d_3
	262 > 161	60	31	
4-Methoxy-α-pyrrolidinovalerophenone (4-MeO-α-PVP)	262 > 121*	75	34	3,4-MDPBP-d_8
	262 > 126	75	30	
4-Fluoro-α-pyrrolidinohexanophenone (4-F-PHP)	264 > 109*	80	33	3,4-MDPV-d_8
	264 > 140	80	37	

*定量離子對

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 Methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
4-Chloro-α-pyrrolidinovalerophenone (4-Cl-α-PVP)	266 > 125*	69	34	3,4-MDPBP-d_8
	266 > 195	69	25	
3,4-Trimethylene-α-pyrrolidinovalerophenone (Indanyl-α-PVP)	272 > 131*	74	34	3,4-MDPBP-d_8
	272 > 201	74	26	
α-Pyrrolidinooctanophenone (α-POP)	274 > 91*	97	33	3,4-MDPBP-d_8
	274 > 168	97	36	
3,4-Methylenedioxypyrovalerone (3,4-MDPV)	276 > 205*	79	25	3,4-MDPV-d_8
	276 > 126	79	35	
4-Fluoro-α-pyrrolidinoheptiophenone (4-F-α-PHPP)	278 > 109*	44	33	3,4-MDPBP-d_8
	278 > 154	44	38	
3,4-Methylenedioxypyrovalerone metabolite (Demethylenyl-methyl-MDPV)	278 > 175*	80	27	3,4-MDPV-d_8
	278 > 126	80	34	
4-Bromo-α-pyrrolidinopropiophenone (4-Br-α-PPP)	282 > 132*	72	32	α-PVP-d_8
	282 > 98	72	34	
Naphyrone	282 > 141*	100	36	Naphyrone-d_5
	282 > 211	100	26	
3,4-Tetramethylene-α-Pyrrolidinovalerophenone (TH-PVP)	286 > 145*	82	35	Naphyrone-d_5
	286 > 215	82	28	
α-Pyrrolidinononanophenone (α-PNP)	288 > 91*	40	35	3,4-MDPBP-d_8
	288 > 182	40	39	
4-Methoxy-α-pyrrolidinoheptiophenone (4-Methoxy-α-PHPP)	290 > 121*	87	33	Naphyrone-d_5
	290 > 219	87	25	
3,4-Tetramethylene-α-pyrrolidinohexanophenone (TH-PHP)	300 > 145*	76	36	Naphyrone-d_5
	300 > 140	76	39	
4-Methoxy-α-pyrrolidinooctanophenone (4-Methoxy-α-POP)	304 > 121*	73	34	Naphyrone-d_5
	304 > 233	73	26	

*定量離子對

附表、Cathinone 等 73 項卡西酮類及 Methcathinone-d_3 等 14 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對 前驅離子(*m/z*) > 產物離子(*m/z*)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	內部標準品
Methcathinone-d_3 (I.S.)	167 > 130	26	40	-
4-Methylmethcathinone-d_3 (Methedrone-d_3) (I.S.)	181 > 148	31	31	-
4-Methylephedrine-d_3 (I.S.)	183 > 131	22	27	-
3,4-Dimethylmethcathinone norephedrine-d_3 (3,4-DMMC norephedrine-d_3) (I.S.)	183 > 105	27	24	-
N-Ethylcathinone ephedrine-d_5 (*N*-EC ephedrine-d_5) (I.S.)	185 > 115	24	41	-
4-Methyl-*N*-ethyl-norephedrine-d_5 (I.S.)	199 > 131	33	28	-
Methylone-d_3 (I.S.)	211 > 163	29	25	-
Butylone-d_3 (I.S.)	225 > 177	35	26	-
Ethylone-d_5 (I.S.)	227 > 179	28	26	-
α-Pyrrolidinovalerophenone-d_8 (α-PVP-d_8) (I.S.)	240 > 91	85	32	-
3,4-Methylenedioxy-α-pyrrolidinopropiophenone-d_8 (3,4-MDPPP-d_8) (I.S.)	256 > 106	80	31	-
3,4-Methylenedioxy-α-pyrrolidinobutiophenone-d_8 (3,4-MDPBP-d_8) (I.S.)	270 > 161	82	33	-
3,4-Methylenedioxypyrovalerone-d_8 (3,4-MDPV-d_8) (I.S.)	284 > 134	91	36	-
Naphyrone-d_5 (I.S.)	287 > 141	80	34	-