

尿液中苯乙胺類之檢驗方法(一)

Method of Test for Synthetic Phenethylamines in Urine (1)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於尿液中amphetamine等74品項苯乙胺類成分(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：Kinetex[®] Phenyl-hexyl, 1.7 μm ，內徑2.1 mm \times 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；甲酸及醋酸銨均採用試藥特級；人工尿液(UTAK 88121-CDF(L)，或同級品)；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 M Ω ·cm以上)；amphetamine等74品項對照用標準品；amphetamine-d₈等10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：1 mL及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：

取甲醇與去離子水以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 $^{\circ}\text{C}$ 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500

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°C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20 µL，加入內部標準溶液20 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20 µL，分別添加標準溶液2~100 µL，加入內部標準溶液20 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。就各苯乙胺類及其內部標準品之波峰面積比，與對應之各苯乙胺類濃度，分別製作1~50 ng/mL之檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註)

層析管：Kinetex® Phenyl-hexyl，1.7 µm，內徑2.1 mm × 10 cm。

層析管溫度：40°C。

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	95 → 95	5 → 5
0.5 → 1.0	95 → 70	5 → 30
1.0 → 1.5	70 → 70	30 → 30
1.5 → 2.0	70 → 63	30 → 37
2.0 → 2.5	63 → 63	37 → 37
2.5 → 2.6	63 → 60	37 → 40
2.6 → 3.0	60 → 60	40 → 40
3.0 → 5.0	60 → 54	40 → 46
5.0 → 5.5	54 → 54	46 → 46
5.5 → 8.0	54 → 50	46 → 50
8.0 → 9.5	50 → 35	50 → 65
9.5 → 10.5	35 → 0	65 → 100
10.5 → 11.0	0 → 0	100 → 100
11.0 → 11.1	0 → 95	100 → 5
11.1 → 14.0	95 → 95	5 → 5

移動相流速：0.3 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°C。

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
檢體中各苯乙胺類之含量(ng/mL)：

$$\text{檢體中各苯乙胺類之含量(ng/mL)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中各苯乙胺類之濃度(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

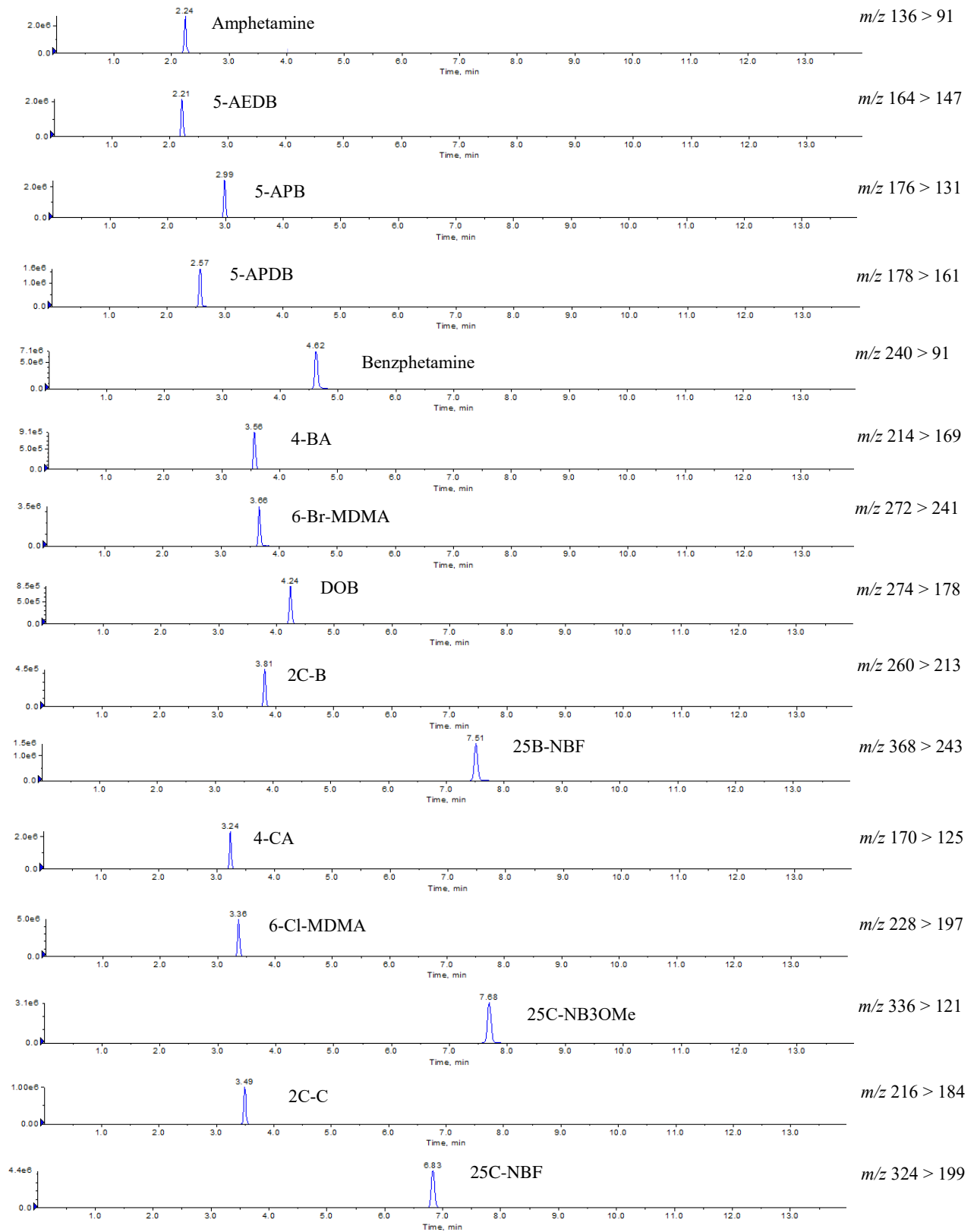
附註：1. 本檢驗方法之定量極限，amphetamine等74品項均為50
ng/mL。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

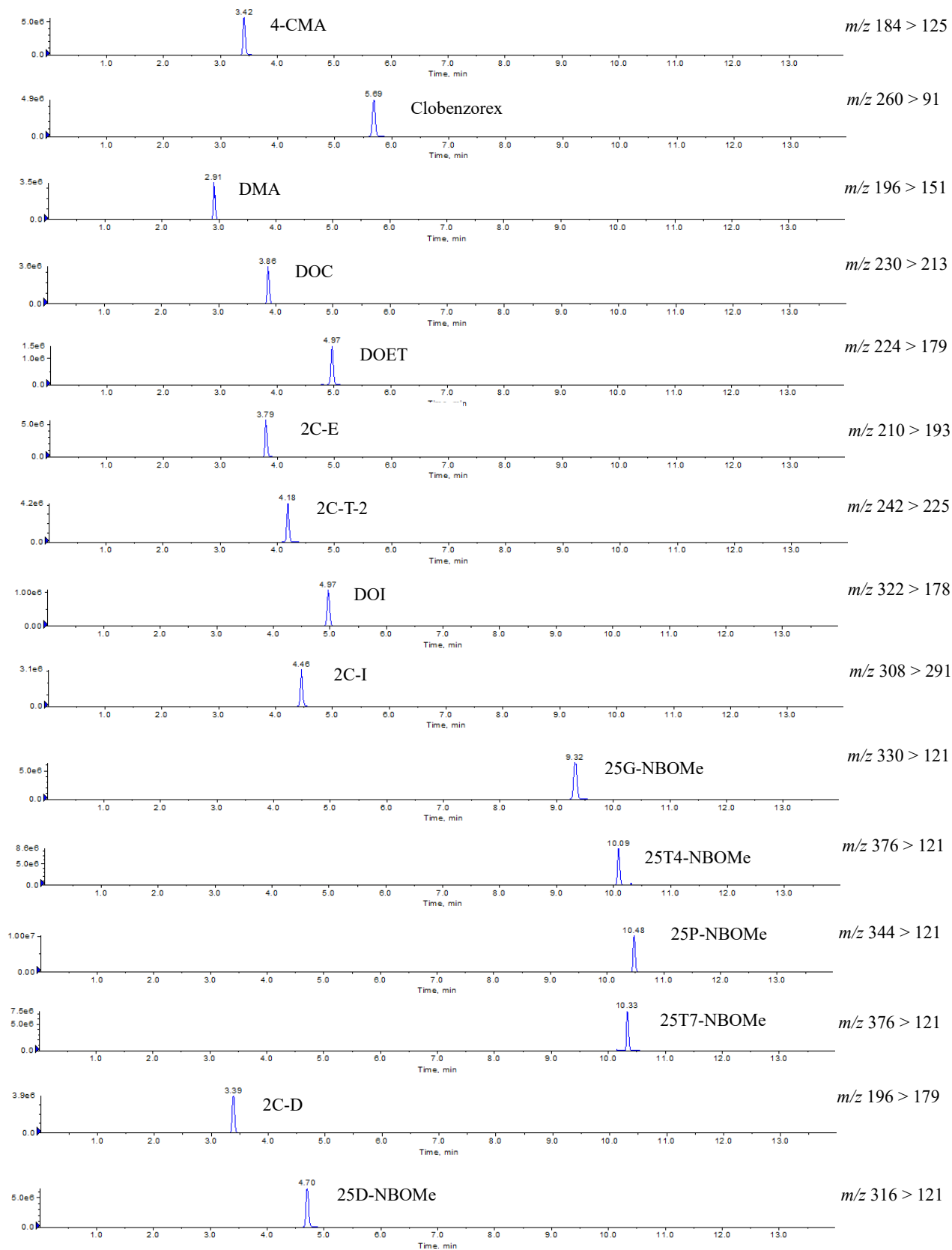
參考文獻：

Dong, Y., Yan, K., Ma, Y., Wang, S., He, G., Deng, J. and Yang, Z. 2015. A sensitive dilute-and-shoot approach for the simultaneous screening of 71 stimulants and 7 metabolites in human urine by LC-MS-MS with dynamic MRM. *J. Chromatogr. Sci.* 53: 1528-1535.

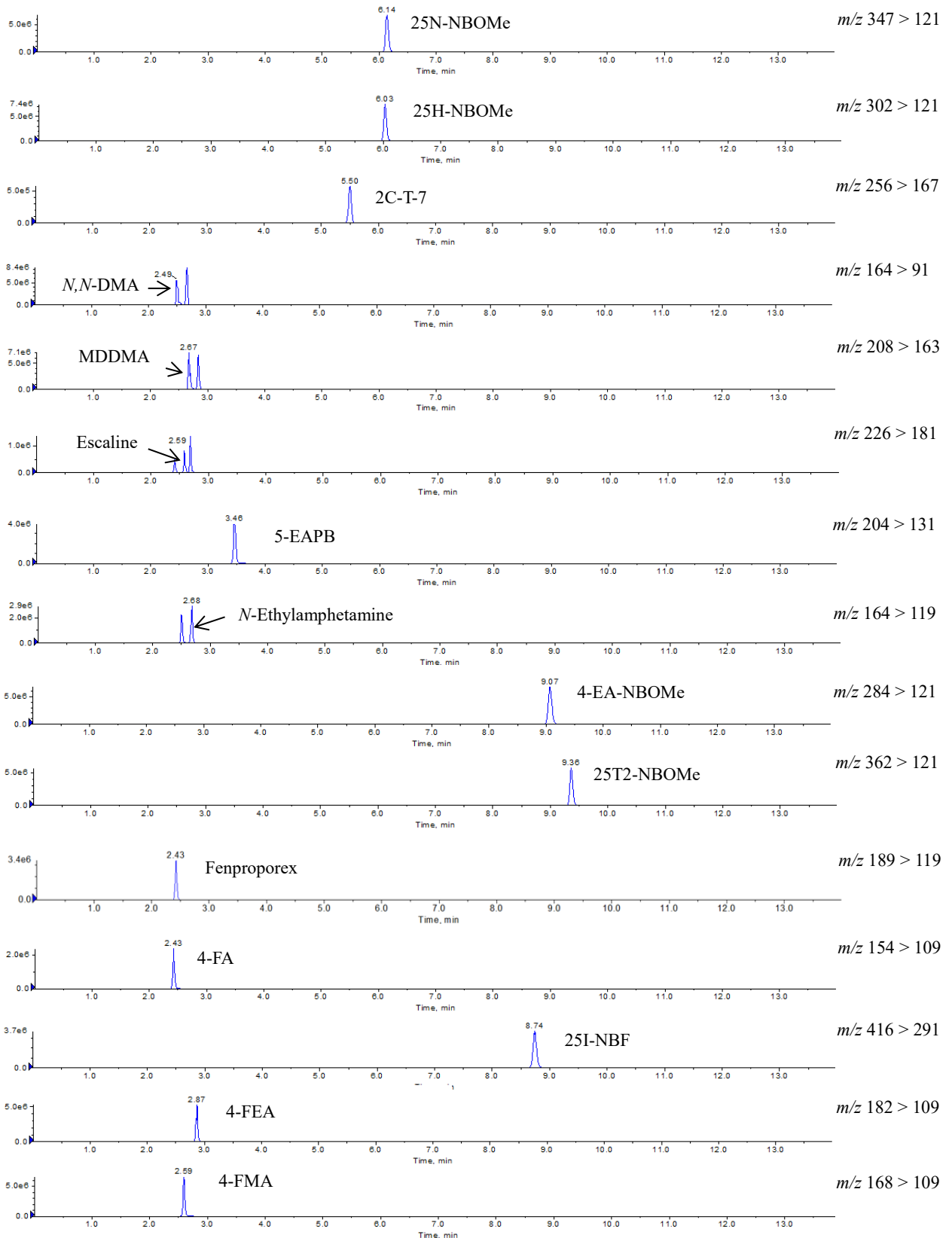
參考層析圖譜



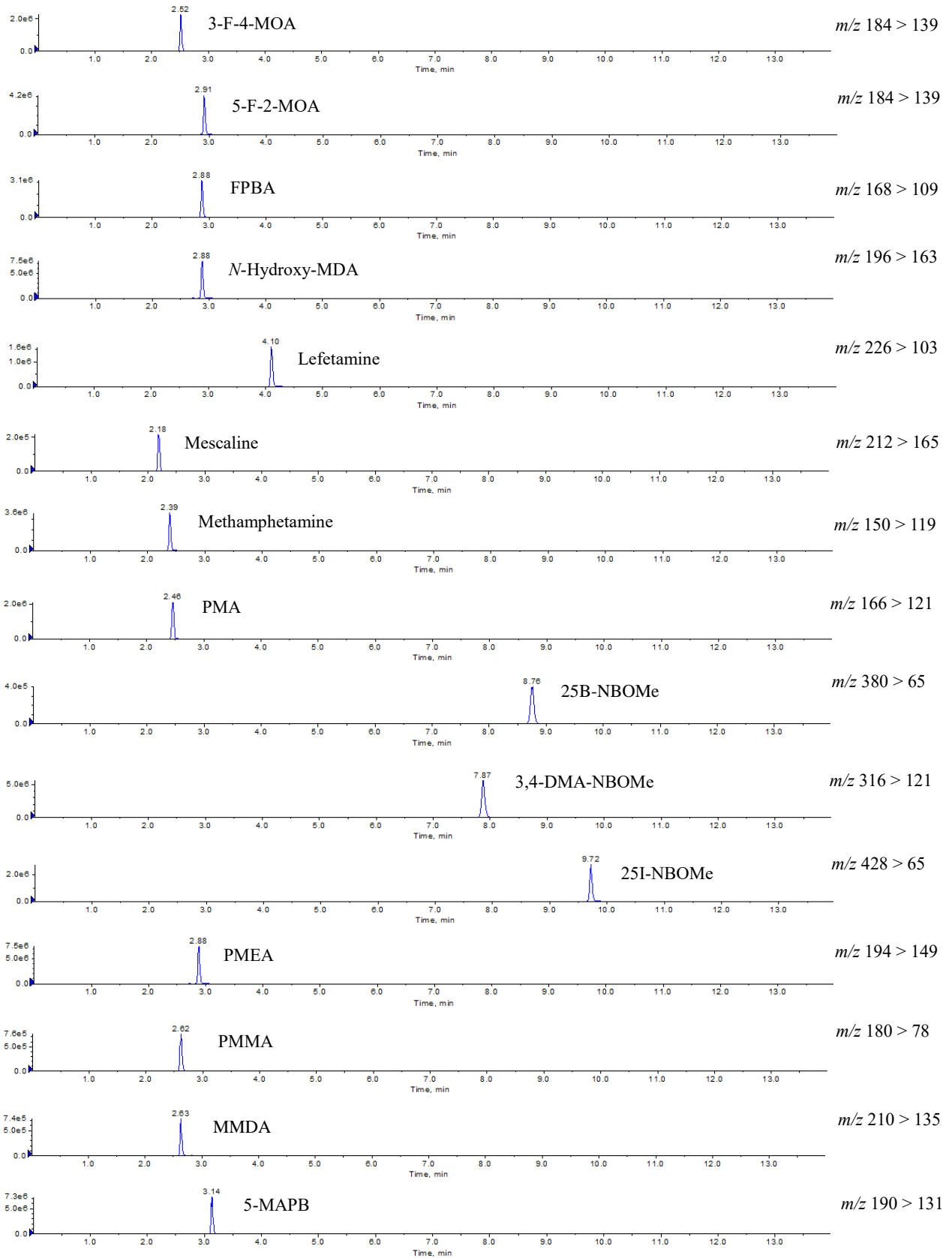
圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜



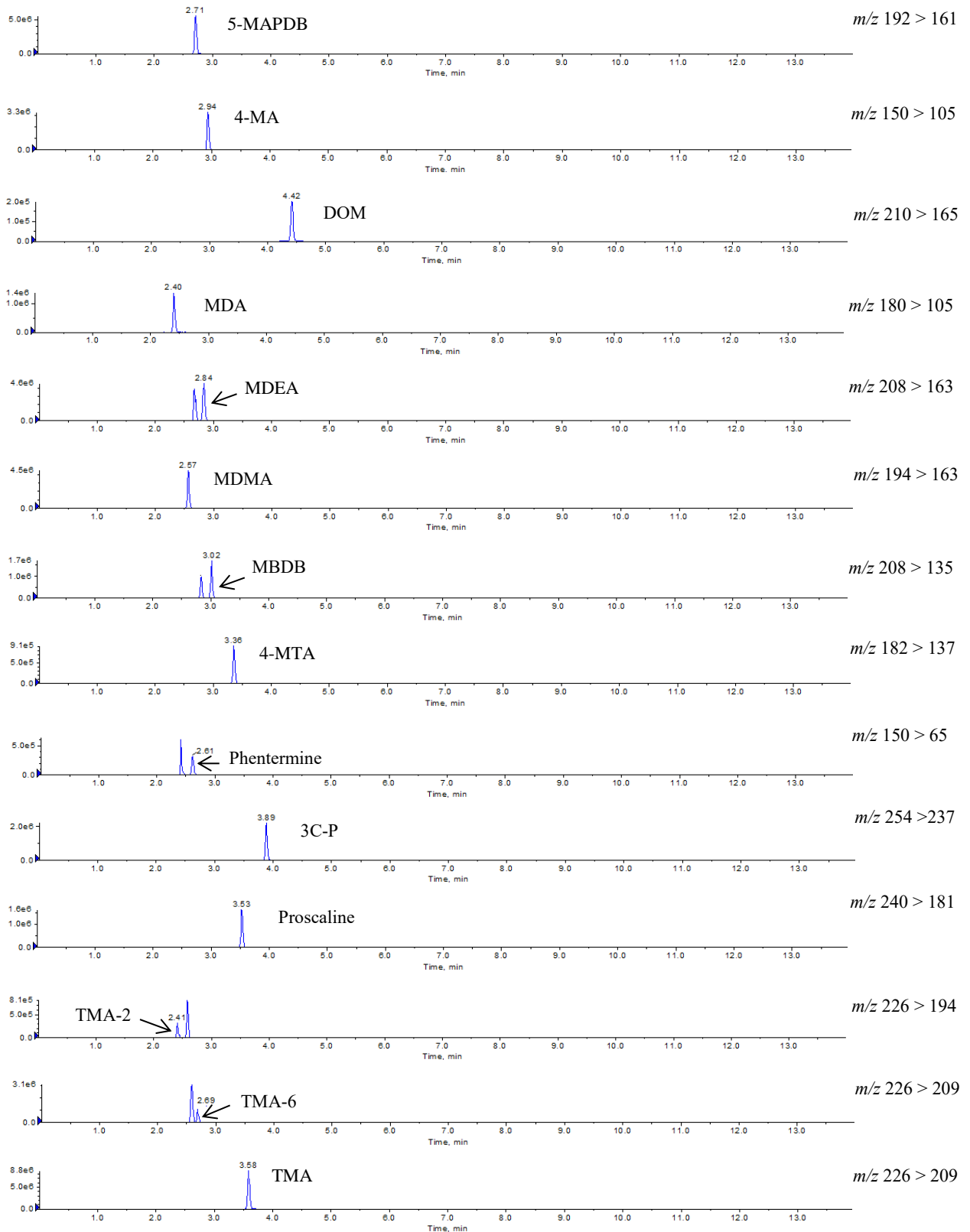
圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



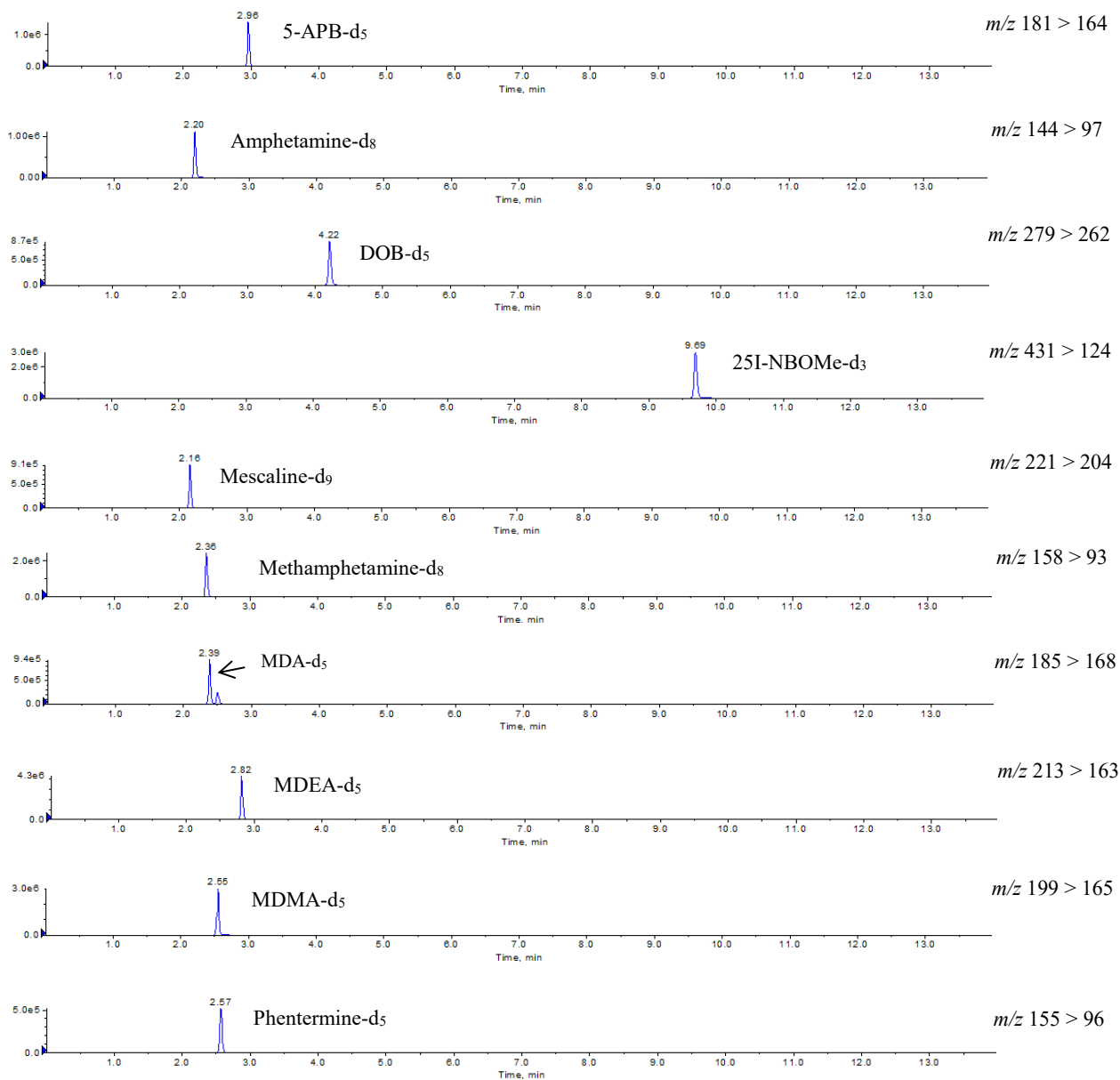
圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析尿液中amphetamine等74項苯乙胺類標準品及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM圖譜(續)

附表、Amphetamine等74項苯乙胺類及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM質譜參數

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)			
Amphetamine	136	> 91*	39	21	Amphetamine-d ₈
	136	> 119	39	12	
5-(2-Aminoethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (5-AEDB)	164	> 147*	17	15	5-APB-d ₅
	164	> 91	17	34	
5-(2-Aminopropyl)benzofuran (5-APB)	176	> 131*	13	27	5-APB-d ₅
	176	> 159	13	12	
5-(2-Aminopropyl)-2,3-dihydrobenzofuran (5-APDB)	178	> 161*	13	15	5-APB-d ₅
	178	> 133	13	27	
Benzphetamine	240	> 91*	70	36	DOB-d ₅
	240	> 65	70	77	
4-Bromoamphetamine (4-BA)	214	> 169*	57	27	DOB-d ₅
	214	> 117	57	40	
1-(6-Bromo-1,3-benzodioxol-5-yl)-N- methylpropan-2-amine (6-Br-MDMA)	272	> 241*	16	19	DOB-d ₅
	272	> 213	16	32	
4-Bromo-2,5-dimethoxyamphetamine (DOB)	274	> 178*	58	28	DOB-d ₅
	274	> 199	58	38	
4-Bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B)	260	> 213*	32	44	DOB-d ₅
	260	> 91	32	58	
4-Bromo-N-[(2-fluorophenyl)methyl]-2,5- dimethoxybenzeneethanamine (25B-NBF)	368	> 243*	28	28	25I-NBOMe-d ₃
	368	> 228	28	37	
4-Chloroamphetamine (4-CA)	170	> 125*	40	31	5-APB-d ₅
	170	> 153	40	15	
1-(6-Chloro-1,3-benzodioxol-5-yl)-N- methylpropan-2-amine (6-Cl-MDMA)	228	> 197*	33	18	DOB-d ₅
	228	> 169	33	32	
4-Chloro-2,5-dimethoxy-N-[(3- methoxyphenyl)methyl]benzeneethanamine (25C-NB3OMe)	336	> 121*	44	27	25I-NBOMe-d ₃
	336	> 199	44	25	
4-Chloro-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-C)	216	> 184*	39	29	DOB-d ₅
	216	> 199	39	16	
4-Chloro-N-[(2-fluorophenyl)methyl]-2,5- dimethoxybenzeneethanamine (25C-NBF)	324	> 199*	61	27	DOB-d ₅
	324	> 184	61	39	

*定量離子對

附表、Amphetamine等74項苯乙胺類及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM質譜參數(續)

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(m/z) >	產物離子(m/z)			
4-Chloromethamphetamine (4-CMA)	184 > 125*		68	31	DOB-d
	184 > 153		68	16	
Clobenzorex	260 > 91*		79	34	DOB-d ₅
	260 > 125		79	37	
2,5-Dimethoxyamphetamine (DMA)	196 > 151*		66	23	Amphetamine-d ₈
	196 > 179		66	14	
2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC)	230 > 213*		54	17	DOB-d ₅
	230 > 155		54	34	
2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET)	224 > 179*		61	27	DOB-d ₅
	224 > 192		61	27	
2,5-Dimethoxy-4-ethylphenethylamine (2C-E)	210 > 193*		68	15	MDA-d ₅
	210 > 178		68	24	
2,5-Dimethoxy-4-ethylthiophenethylamine (2C-T-2)	242 > 225*		55	15	DOB-d ₅
	242 > 91		55	59	
2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI)	322 > 178*		54	29	DOB-d ₅
	322 > 135		54	41	
2,5-Dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I)	308 > 291*		48	18	DOB-d ₅
	308 > 276		48	31	
2,5-Dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-3,4-dimethylbenzeneethanamine (25G-NBOMe)	330 > 121*		43	24	25I-NBOMe-d ₃
	330 > 91		43	60	
2,5-Dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-4-[(1-methylethyl)thio]benzeneethanamine (25T4-NBOMe)	376 > 121*		48	27	25I-NBOMe-d ₃
	376 > 91		48	64	
2,5-Dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-4-propyl-benzeneethanamine (25P-NBOMe)	344 > 121*		24	25	25I-NBOMe-d ₃
	344 > 91		24	66	
2,5-Dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-4-(propylthio)benzeneethanamine (25T7-NBOMe)	376 > 121*		26	29	25I-NBOMe-d ₃
	376 > 91		26	64	
2,5-Dimethoxy-4-methylphenethylamine (2C-D)	196 > 179*		51	16	Amphetamine-d ₈
	196 > 164		51	27	
2-(2,5-Dimethoxy-4-methylphenyl)-N-(2-methoxybenzyl)ethanamine (25D-NBOMe)	316 > 121*		51	25	DOB-d ₅
	316 > 91		51	54	

*定量離子對

附表、Amphetamine 等 74 項苯乙胺類及 amphetamine-d₈ 等 10 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(<i>m/z</i>) >	產物離子(<i>m/z</i>)			
2-(2,5-Dimethoxy-4-nitrophenyl)- <i>N</i> -(2-methoxybenzyl)ethanamine (25N-NBOMe)	347 > 121*		30	23	DOB-d ₅
	347 > 91		30	59	
2-(2,5-Dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -(2-methoxybenzyl)ethanamine (25H-NBOMe)	302 > 121*		33	23	DOB-d ₅
	302 > 91		33	51	
2,5-Dimethoxy-4-n-propylthiophenethylamine (2C-T-7)	256 > 167*		67	35	DOB-d ₅
	256 > 224		67	24	
<i>N,N</i> -Dimethylamphetamine (<i>N,N</i> -DMA)	164 > 91*		57	30	MDA-d ₅
	164 > 119		57	18	
<i>N,N</i> -Dimethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDDMA)	208 > 163*		21	19	MDMA-d ₅
	208 > 135		21	29	
Escaline	226 > 181*		60	22	Mescaline-d ₉
	226 > 91		60	44	
5-(2-Ethylaminopropyl)benzofuran (5-EAPB)	204 > 131*		34	29	5-APB-d ₅
	204 > 159		34	9	
<i>N</i> -Ethylamphetamine	164 > 119*		68	16	MDA-d ₅
	164 > 65		68	56	
4-Ethyl- <i>N</i> -(<i>o</i> -methoxybenzyl)amphetamine (4-EA-NBOMe)	284 > 121*		44	24	25I-NBOMe-d ₃
	284 > 91		44	59	
4-(Ethylthio)-2,5-dimethoxy- <i>N</i> -[(2-methoxyphenyl)methyl]benzeneethanamine (25T2-NBOMe)	362 > 121*		23	27	25I-NBOMe-d ₃
	362 > 91		23	65	
Fenproporex	189 > 119*		40	15	Amphetamine-d ₈
	189 > 65		40	59	
4-Fluoroamphetamine (4-FA)	154 > 109*		40	28	Amphetamine-d ₈
	154 > 137		40	15	
<i>N</i> -(2-Fluorobenzyl)-4-iodo-2,5-dimethoxyphenethylamine (25I-NBF)	416 > 291*		47	25	25I-NBOMe-d ₃
	416 > 276		47	39	
4-Fluoroethamphetamine (4-FEA)	182 > 109*		65	31	MDEA-d ₅
	182 > 137		65	17	
4-Fluoromethamphetamine (4-FMA)	168 > 109*		50	30	Amphetamine-d ₈
	168 > 83		50	52	

*定量離子對

附表、Amphetamine等74項苯乙胺類及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM質譜參數(續)

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)			
3-Fluoro-4-methoxyamphetamine (3-F-4-MOA)	184	139*	36	24	Amphetamine-d ₈
	184	167	36	35	
5-Fluoro-2-methoxyamphetamine (5-F-2-MOA)	184	139*	40	25	Amphetamine-d ₈
	184	109	40	14	
1-(4-Fluorophenyl)butan-2-amine (FPBA)	168	109*	47	28	5-APB-d ₅
	168	83	47	51	
<i>N</i> -Hydroxy-3,4-methylenedioxyamphetamine (<i>N</i> -Hydroxy-MDA)	196	163*	34	15	Amphetamine-d ₈
	196	135	34	28	
Lefetamine	226	103*	61	41	DOB-d ₅
	226	165	61	38	
Mescaline	212	165*	40	30	Mescaline-d ₉
	212	180	40	24	
Methamphetamine	150	119*	40	14.5	Methamphetamine-d ₈
	150	65	40	55.5	
4-Methoxyamphetamine (PMA)	166	121*	39	25	Amphetamine-d ₈
	166	91	39	42	
<i>N</i> -(2-Methoxybenzyl)-4-bromo-2,5- dimethoxyphenethylamine (25B-NBOMe)	380	65*	72	105	25I-NBOMe-d ₃
	380	93	72	44	
<i>N</i> -(<i>o</i> -Methoxybenzyl)-3,4- dimethoxyamphetamine (3,4-DMA-NBOMe)	316	121*	17	24	25I-NBOMe-d ₃
	316	91	17	55	
<i>N</i> -(2-Methoxybenzyl)-4-iodo-2,5- dimethoxyphenethylamine (25I-NBOMe)	428	65*	117	113	25I-NBOMe-d ₃
	428	272	117	23	
Methoxyethylamphetamine (PMEA)	194	149*	42	18	Methamphetamine-d ₈
	194	121	42	27	
Methoxymethamphetamine (PMMA)	180	78*	33	55	Amphetamine-d ₈
	180	65	33	62	
5-Methoxy-3,4-methylenedioxyamphetamine (MMDA)	210	135*	51	27	Amphetamine-d ₈
	210	165	51	26	
5-(2-Methylaminopropyl)benzofuran (5-MAPB)	190	131*	27	26	5-APB-d ₅
	190	159	27	16	

*定量離子對

附表、Amphetamine等74項苯乙胺類及amphetamine-d₈等10項同位素內部標準品之MRM質譜參數(續)

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)			
5-(2-Methylaminopropyl)-2,3-dihydrobenzofuran (5-MAPDB)	192	> 161*	15	19	5-APB-d ₅
	192	> 133	15	33	
4-Methylamphetamine (4-MA)	150	> 105*	42	26	Amphetamine-d ₈
	150	> 133	42	12	
4-Methyl-2,5-dimethoxyamphetamine (DOM)	210	> 165*	63	24	DOB-d ₅
	210	> 178	63	25	
3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	180	> 105*	51	27	MDA-d ₅
	180	> 135	51	25	
3,4-Methylenedioxy-N-ethylamphetamine (MDEA)	208	> 163*	57	17	MDEA-d ₅
	208	> 135	57	30	
3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)	194	> 163*	54	16	MDMA-d ₅
	194	> 105	54	36	
N-Methyl-α-ethyl-3,4-methylenedioxyphenethylamine (MBDB)	208	> 135*	60	25	5-APB-d ₅
	208	> 51	60	83	
4-Methylthioamphetamine (4-MTA)	182	> 137*	44	24	DOB-d ₅
	182	> 115	44	50	
Phentermine	150	> 65*	38	52	Phentermine-d ₅
	150	> 133	38	14	
4-Propoxy-3,5-dimethoxyamphetamine (3C-P)	254	> 237*	54	12	DOB-d ₅
	254	> 107	54	38	
Proscaline	240	> 181*	23	21	DOB-d ₅
	240	> 121	23	33	
2,4,5-Trimethoxyamphetamine (TMA-2)	226	> 194*	47	28	25I-NBOMe-d ₃
	226	> 179	47	34	
2,4,6-Trimethoxyamphetamine (TMA-6)	226	> 209*	72	16	25I-NBOMe-d ₃
	226	> 181	72	28	
3,4,5-Trimethoxyamphetamine (TMA)	226	> 209*	64	14	25I-NBOMe-d ₃
	226	> 181	64	25	

*定量離子對

附表、Amphetamine 等 74 項苯乙胺類及 amphetamine-d₈ 等 10 項同位素內部標準品之 MRM 質譜參數(續)

分析物	離子對		去集簇 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	內部標準品
	前驅離子(<i>m/z</i>)	> 產物離子(<i>m/z</i>)			
5-(2-Aminopropyl)benzofuran-d ₅ (5-APB-d ₅) (I.S.)	181	> 164	27	12	-
Amphetamine-d ₈ (I.S.)	144	> 97	50	24	-
4-Bromo-2,5-dimethoxyamphetamine-d ₅ (DOB-d ₅) (I.S.)	279	> 262	67	16	-
4-Iodo-2,5-dimethoxy- <i>N</i> -[(2-methoxyphenyl)-methyl]benzeneethanamine-d ₃ (25I-NBOMe-d ₃) (I.S.)	431	> 124	26	26	-
Mescaline-d ₉ (I.S.)	221	> 204	59	16	-
Methamphetamine-d ₈ (I.S.)	158	> 93	36	33	-
3,4-Methylenedioxyamphetamine-d ₅ (MDA-d ₅) (I.S.)	185	> 168	58	14	-
3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -ethylamphetamine-d ₅ (MDEA-d ₅) (I.S.)	213	> 163	61	18	-
3,4-Methylenedioxymethamphetamine-d ₅ (MDMA-d ₅) (I.S.)	199	> 165	22	19	-
Phentermine-d ₅ (I.S.)	155	> 96	42	32	-