

## 尿液中類大麻活性物質之檢驗方法(一)

### Method of Test for Synthetic Cannabinoids in Urine (1)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於尿液中AB-CHMINACA等39品項類大麻活性物質及代謝物(品項詳見附表)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經水解及淨化後，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：Sunshell<sup>®</sup> RP-AQUA，2.6  $\mu\text{m}$ ，內徑2.1 mm  $\times$  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)。
    - 2.1.4. 往復式振盪恆溫水槽(Reciprocal shaking water bath)。
    - 2.1.5. 吹氮濃縮加熱裝置(Nitrogen evaporator)。
    - 2.1.6. 真空固相萃取裝置(Solid phase vacuum extraction manifold)。
  - 2.2. 試藥：甲醇及乙腈均採用液相層析級； $\beta$ -葡萄糖醛酸苷酶溶液(含 $\beta$ -glucuronidase 100,000 units/mL)；乙酸採用分析級；乙酸乙酯及乙酸鈉( $\text{CH}_3\text{COONa}$ )均採用試藥級；甲酸採用試藥特級；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  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；AB-CHMINACA等39品項對照用標準品；AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18品項內部標準品(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. 離心管：15 mL，PP材質。
    - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22  $\mu\text{m}$ ，PVDF材質。
    - 2.3.4. 固相支持液液萃取匣(Solid-supported liquid-liquid extraction cartridge)：Novum<sup>™</sup> SLE cartridge，3 mL，或同級品。
  - 2.4. 試劑之調製：
    - 2.4.1. 0.1 M乙酸鈉溶液：

取乙酸鈉0.82 g，以去離子水溶解使成100 mL。
    - 2.4.2. 20%乙酸溶液：

取乙酸20 mL，加去離子水80 mL使成100 mL。

## 2.5. 移動相溶液之調製：

### 2.5.1. 移動相溶液A：

取甲酸1 mL，加入去離子水使成1000 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：

取甲酸1 mL，加入甲醇與乙腈以1：1 (v/v)比例配製之溶液，使成1000 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AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18品項內部標準品各約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，以甲醇稀釋至1 µg/mL，供作內部標準溶液。

## 2.7. 標準溶液之配製：

取AB-CHMINACA等39品項對照用標準品各約1 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至1 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，以甲醇稀釋至1 µg/mL，供作標準溶液。

## 2.8. 檢液之調製：

### 2.8.1. 水解：

將檢體混勻，精確量取1 mL，加入內部標準溶液20 µL及0.1 M乙酸鈉溶液1 mL，再加入β-葡萄糖醛酸苷酶溶液500 µL，混合均勻，置於往復式振盪恆溫水槽中，振盪速度80 rpm，於56°C下反應15分鐘，取出靜置冷卻至室溫。加入20%乙酸溶液500 µL，供作淨化用之水解液。

### 2.8.2. 淨化：

精確量取2.8.1.節供淨化用之水解液400 µL，注入固相支持液液萃取匣中，靜置5分鐘，以乙酸乙酯0.9 mL沖提二次，合併沖提液，於40°C以氮氣吹乾，殘留物以甲醇1 mL溶解，經濾膜過濾，供作檢液。

## 2.9. 檢量線之製作：

以人工尿液作為空白檢體，分別添加標準溶液5~100 µL，使體積為1 mL，依2.8.節調製檢量線溶液，並依下列條件進行分析。

就各類大麻活性物質與其內部標準品之波峰面積比，與對應之各類大麻活性物質濃度，分別製作5~100 ng/mL之檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件<sup>(註)</sup>

層析管：SunShell® RP-AQUA，2.6 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	60 → 60	40 → 40
0.5 → 12.0	60 → 10	40 → 90
12.0 → 12.5	10 → 10	90 → 90
12.5 → 12.6	10 → 60	90 → 40
12.6 → 14.5	60 → 60	40 → 40

移動相流速：0.4 mL/min。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：

ESI正離子採用5.5 kV；

ESI負離子採用-4.5 kV。

加熱溫度(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：

精確量取檢液與檢量線溶液各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。就檢液與檢量線溶液所得波峰之滯留時間及相對離子強度<sup>(註)</sup>鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各類大麻活性物質之含量(ng/mL)：

$$\text{檢體中各類大麻活性物質之含量(ng/mL)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中各類大麻活性物質之濃度(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( $\leq 100\%$ )，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	$\pm 20$
> 20~50	$\pm 25$
> 10~20	$\pm 30$
$\leq 10$	$\pm 50$

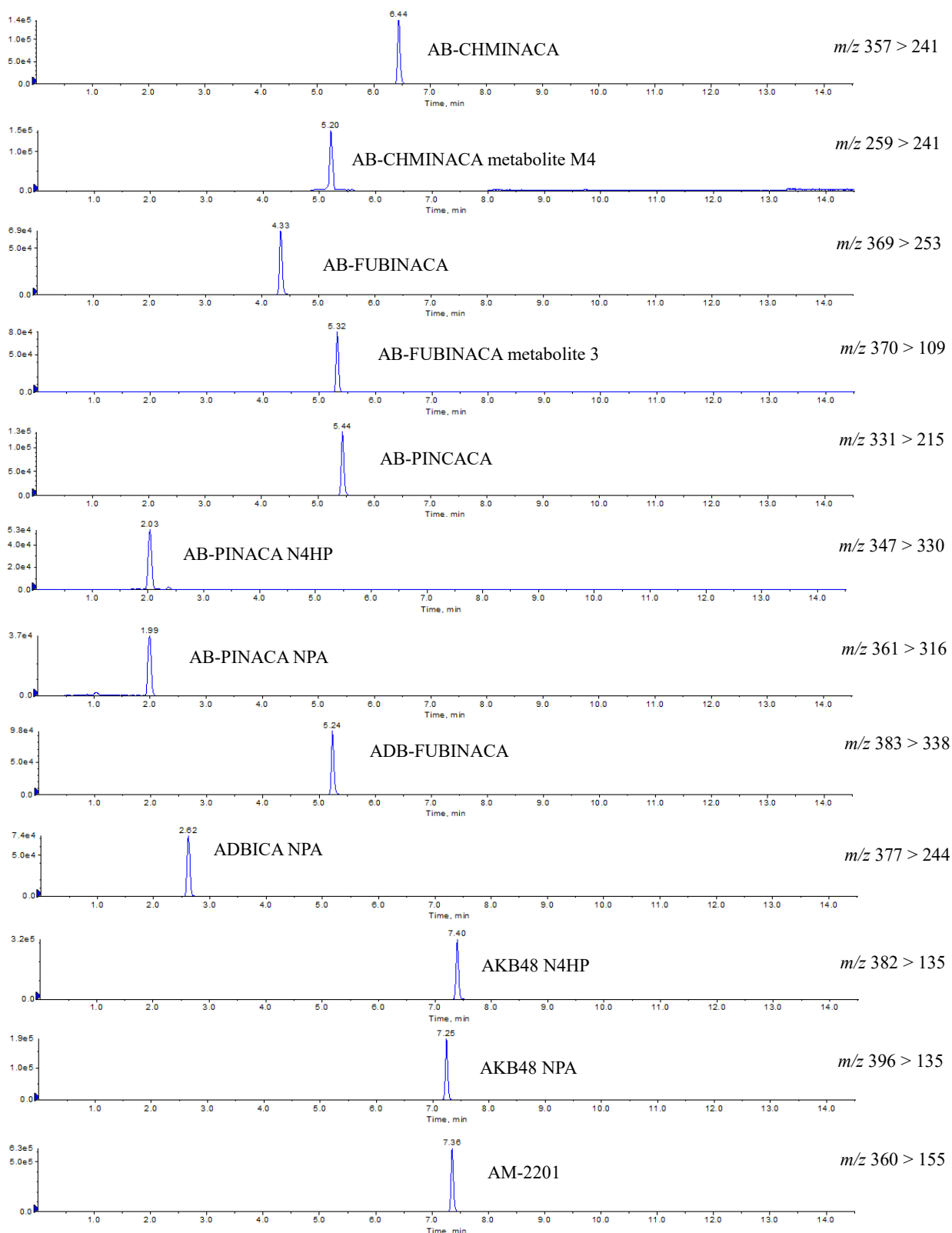
附註：1. 本檢驗方法之定量極限，AB-CHMINACA等39品項均為50 ng/mL。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

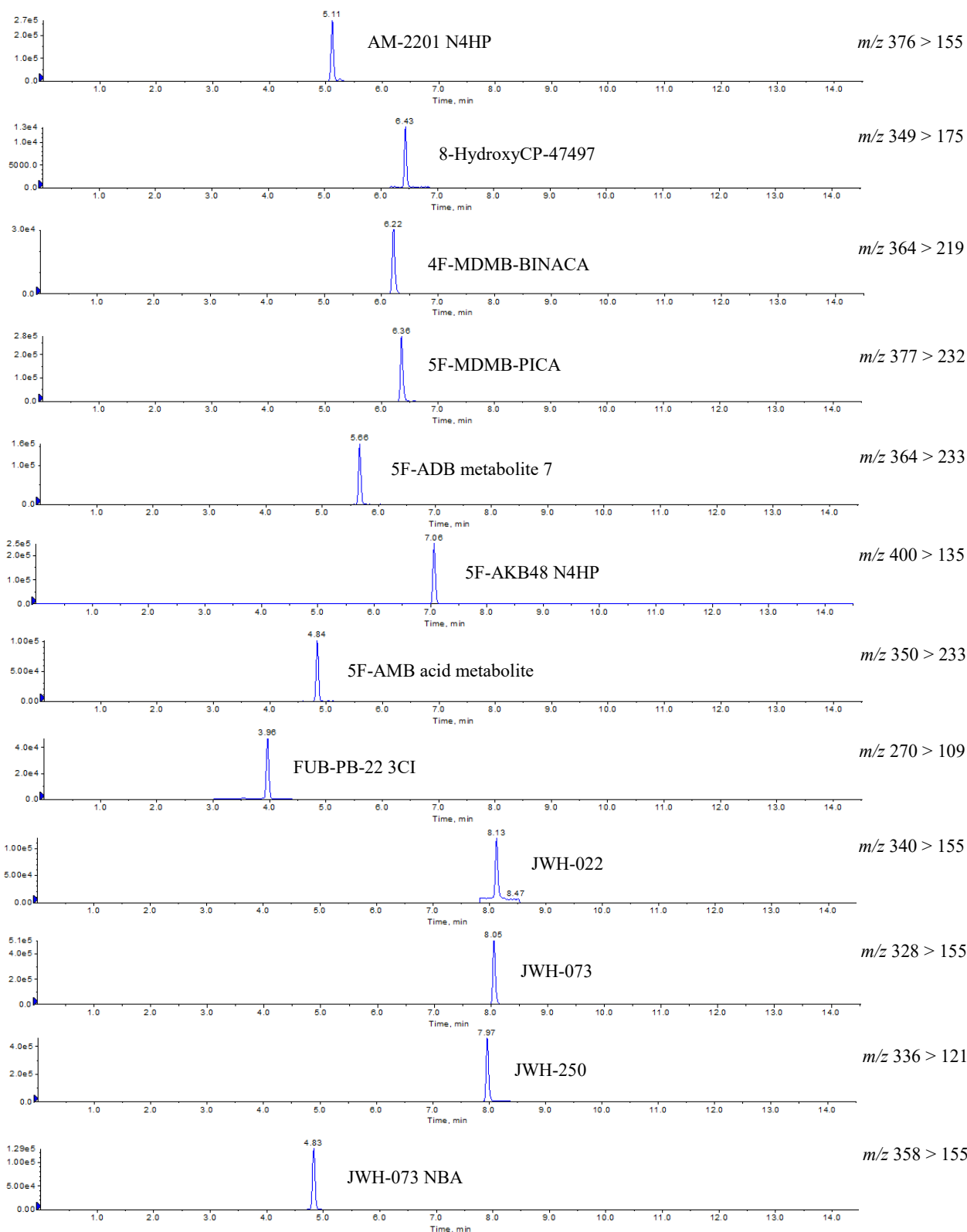
參考文獻：

Scheidweiler, K. B. and Huestis, M. A. 2014. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1327: 105-117.

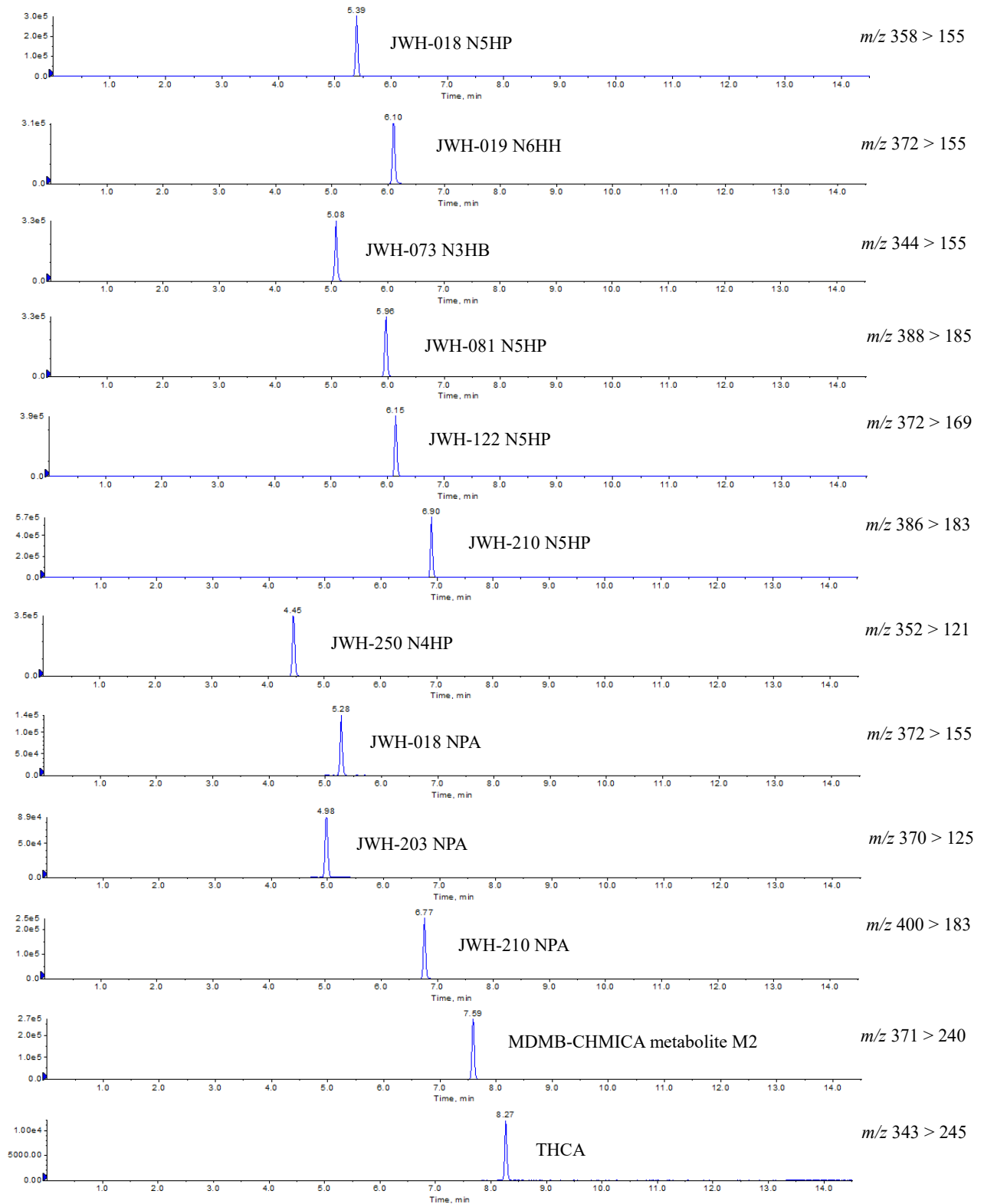
### 參考層析圖譜



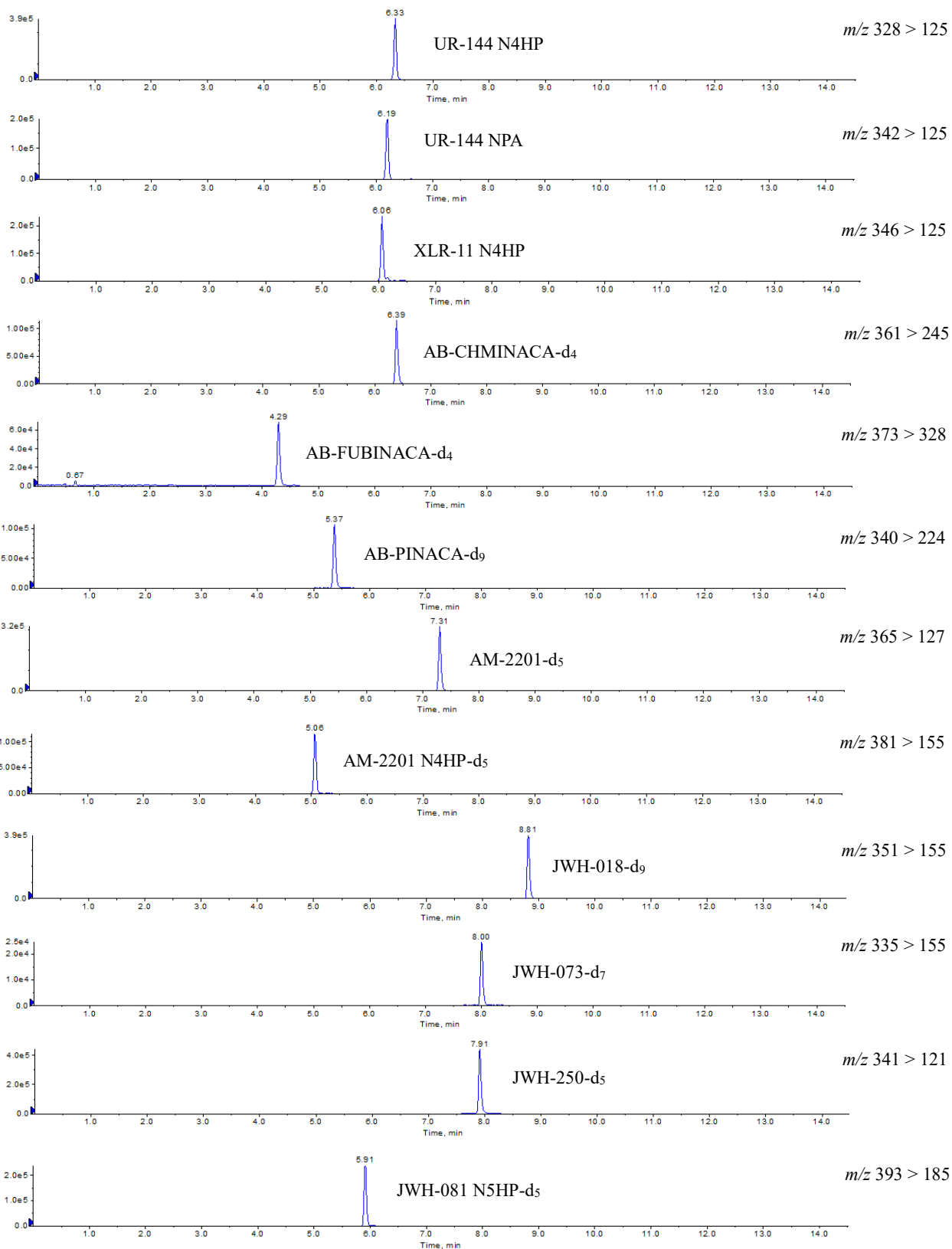
圖、以LC-MS/MS分析尿液中AB-CHMINACA等39項類大麻活性物質標準品及AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18項內部標準品之MRM圖譜



圖、以LC-MS/MS分析尿液中AB-CHMINACA等39項類大麻活性物質標準品及AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18項內部標準品之MRM圖譜(續)

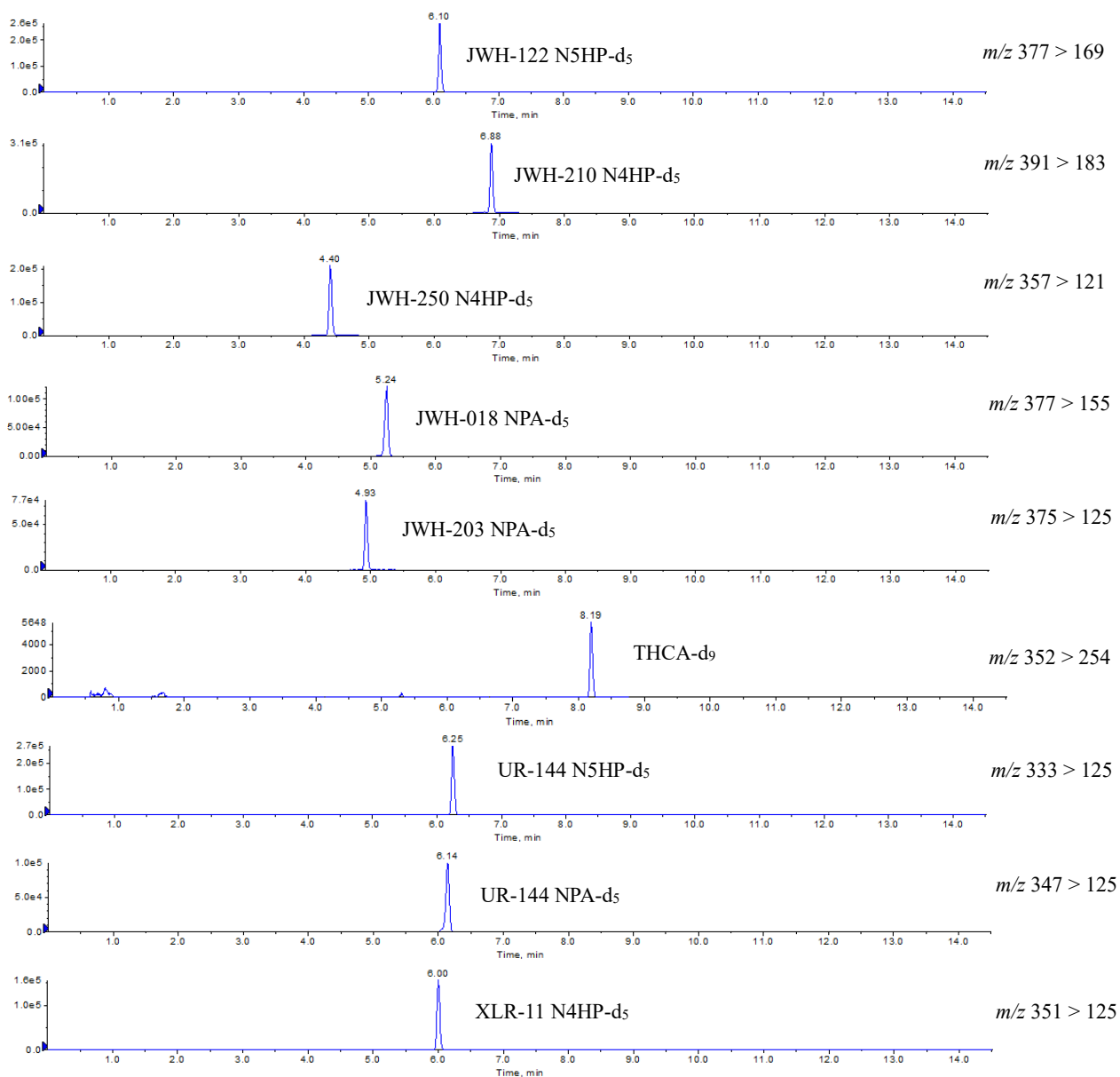


圖、以LC-MS/MS分析尿液中AB-CHMINACA等39項類大麻活性物質標準品及AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18項內部標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析尿液中AB-CHMINACA等39項類大麻活性物質標準品及AB-CHMINACA-d4等18項內部標準品之MRM圖譜(續)





圖、以LC-MS/MS分析尿液中AB-CHMINACA等39項類大麻活性物質標準品及AB-CHMINACA-d<sub>4</sub>等18項內部標準品之MRM圖譜(續)

附表、AB-CHMINACA 等 39 項類大麻活性物質及 AB-CHMINACA-d<sub>4</sub> 等 18 項內部標準品之 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)			
AB-CHMINACA	357	> 241*	59	35	AB-CHMINACA-d <sub>4</sub>
	357	> 312	59	23	
AB-CHMINACA metabolite M4	259	> 241*	53	21	JWH-018 NPA-d <sub>5</sub>
	259	> 145	53	34	
AB-FUBINACA	369	> 253*	83	32	AB-FUBINACA-d <sub>4</sub>
	369	> 324	83	21	
AB-FUBINACA metabolite 3	370	> 109*	76	70	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	370	> 253	76	31	
AB-PINACA	331	> 215*	40	36	AB-PINACA-d <sub>9</sub>
	331	> 286	40	20	
AB-PINACA <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (AB-PINACA N4HP)	347	> 330*	65	14	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	347	> 213	65	38	
AB-PINACA 5-pentanoic acid metabolite (AB-PINACA NPA)	361	> 316*	64	22	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	361	> 217	64	42	
ADB-FUBINACA	383	> 338*	72	21	AB-FUBINACA-d <sub>4</sub>
	383	> 253	72	36	
ADBICA <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (ADBICA NPA)	377	> 244*	58	30	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	377	> 144	58	52	
AKB48 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (AKB48 N4HP)	382	> 135*	56	30	JWH-018 NPA-d <sub>5</sub>
	382	> 93	56	75	
AKB48 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (AKB48 NPA)	396	> 135*	75	29	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	396	> 93	75	73	
AM-2201	360	> 155*	117	37	AM-2201-d <sub>5</sub>
	360	> 127	117	70	
AM-2201 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (AM-2201 N4HP)	376	> 155*	76	34	AM-2201 N4HP- d <sub>5</sub>
	376	> 127	76	61	
CP 47,497-C8-homolog C-8-hydroxy metabolite (8-HydroxyCP-47497)	349	> 175*	59	19	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	349	> 331	59	12	
4F-MDMB-BINACA	364	> 219*	60	33	AB-FUBINACA-d <sub>4</sub>
	364	> 304	60	23	

\*定量離子對

附表、AB-CHMINACA 等 39 項類大麻活性物質及 AB-CHMINACA-d<sub>4</sub> 等 18 項內部標準品之 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)			
5F-MDMB-PICA	377	232*	89	32	AM-2201-d <sub>5</sub>
	377	144	89	48	
5-fluoro MDMB-PINACA metabolite 7 (5F-ADB metabolite 7)	364	233*	89	32	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	364	318	89	22	
5-fluoro AKB48 N-(4-hydroxypentyl) metabolite (5F-AKB48 N4HP)	400	135*	136	28	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	400	93	136	74	
(S)-5F-AMB acid metabolite (5F-AMB acid metabolite)	350	233*	120	28	UR-144 N5HP-d <sub>5</sub>
	350	145	120	53	
FUB-PB-22 3-carboxyindole metabolite (FUB-PB-22 3CI)	270	109*	68	25	JWH-018 NPA-d <sub>5</sub>
	270	83	68	81	
JWH-022	340	155*	142	32	JWH-018-d <sub>9</sub>
	340	127	142	60	
JWH-073	328	155*	151	32	JWH-073-d <sub>7</sub>
	328	127	151	65	
JWH-250	336	121*	129	27	JWH-250-d <sub>5</sub>
	336	91	129	65	
JWH-073 N-butanoic acid metabolite (JWH-073 NBA)	358	155*	55	30	JWH-203 NPA-d <sub>5</sub>
	358	127	55	64	
JWH-018 N-(5-hydroxypentyl) metabolite (JWH-018 N5HP)	358	155*	75	29	JWH-018 NPA-d <sub>5</sub>
	358	127	75	67	
JWH-019 N-(6-hydroxyhexyl) metabolite (JWH-019 N6HH)	372	155*	91	32	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
	372	127	91	72	
JWH-073 N-(3-hydroxybutyl) metabolite (JWH-073 N3HB)	344	155*	40	34	JWH-203 NPA-d <sub>5</sub>
	344	127	40	60	
JWH-081 N-(5-hydroxypentyl) metabolite (JWH-081 N5HP)	388	185*	152	33	JWH-081 N5HP-d <sub>5</sub>
	388	157	152	58	
JWH-122 N-(5-hydroxypentyl) metabolite (JWH-122 N5HP)	372	169*	85	32	JWH-122 N5HP-d <sub>5</sub>
	372	115	85	97	
JWH-210 N-(5-hydroxypentyl) metabolite (JWH-210 N5HP)	386	183*	145	34	JWH-210 N4HP-d <sub>5</sub>
	386	153	145	65	

\*定量離子對

附表、AB-CHMINACA 等 39 項類大麻活性物質及 AB-CHMINACA-d<sub>4</sub> 等 18 項內部標準品之 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)			
JWH-250 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (JWH-250 N4HP)	352 > 121* 352 > 91	86 86	28 67	JWH-250 N4HP-d <sub>5</sub>
JWH-018 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (JWH-018 NPA)	372 > 155* 372 > 127	72 72	33 74	JWH-018 NPA-d <sub>5</sub>
JWH-203 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (JWH-203 NPA)	370 > 125* 370 > 200	135 135	34 27	JWH-203 NPA-d <sub>5</sub>
JWH-210 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (JWH-210 NPA)	400 > 183* 400 > 153	70 70	34 70	JWH-210 N4HP-d <sub>5</sub>
MDMB-CHMICA metabolite M2	371 > 240* 371 > 144	79 79	28 48	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
(±)-11-nor-9-carboxy-Δ <sup>9</sup> -THC (THCA)	343 > 245* 343 > 191	-140 -140	-38 -42	THCA-d <sub>9</sub>
UR-144 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (UR-144 N4HP)	328 > 125* 328 > 97	94 94	27 34	UR-144 N5HP-d <sub>5</sub>
UR-144 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite (UR-144 NPA)	342 > 125* 342 > 244	47 47	30 32	UR-144 NPA-d <sub>5</sub>
XLR-11 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite (XLR-11 N4HP)	346 > 125* 346 > 248	94 94	28 33	XLR-11 N4HP-d <sub>5</sub>
AB-CHMINACA-d <sub>4</sub> (I.S.)	361 > 245	114	35	—
AB-FUBINACA-d <sub>4</sub> (I.S.)	373 > 328	68	21	—
AB-PINACA-d <sub>9</sub> (I.S.)	340 > 224	40	36	—
AM-2201-d <sub>5</sub> (I.S.)	365 > 127	31	73	—
AM-2201 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (AM-2201 N4HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	381 > 155	88	35	—
JWH-018-d <sub>9</sub> (I.S.)	351 > 155	36	33	—
JWH-073-d <sub>7</sub> (I.S.)	335 > 155	76	33	—
JWH-250-d <sub>5</sub> (I.S.)	341 > 121	46	27	—
JWH-081 <i>N</i> -(5-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-081 N5HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	393 > 185	118	32	—
JWH-122 <i>N</i> -(5-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-122 N5HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	377 > 169	91	33	—

\*定量離子對

附表、AB-CHMINACA 等 39 項類大麻活性物質及 AB-CHMINACA-d<sub>4</sub> 等 18 項內部標準品之 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)			
JWH-210 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-210 N4HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	391	> 183	111	32	—
JWH-250 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-250 N4HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	357	> 121	76	29	—
JWH-018 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-018 NPA-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	377	> 155	64	34	—
JWH-203 <i>N</i> -pentanoic acid metabolite-d <sub>5</sub> (JWH-203 NPA-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	375	> 125	73	35	—
(±)-11-nor-9-carboxy-Δ <sup>9</sup> -THC-d <sub>9</sub> (THCA-d <sub>9</sub> ) (I.S.)	352	> 254	-160	-38	—
UR-144 <i>N</i> -(5-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (UR-144 N5HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	333	> 125	74	25	—
UR-144 5-pentanoic acid metabolite-d <sub>5</sub> (UR-144 NPA-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	347	> 125	64	31	—
XLR-11 <i>N</i> -(4-hydroxypentyl) metabolite-d <sub>5</sub> (XLR-11 N4HP-d <sub>5</sub> ) (I.S.)	351	> 125	83	29	—