

一种血液药物分析方法在美国药驾毒理学调查中的应用

Emily Lee, Jane Cooper, Michelle Wood

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

仅适用于法医毒理学应用。

摘要

本应用简报详细介绍了如何应用样品前处理和UPLC-MS/MS方法来分析疑似药驾样品，以满足美国I类建议的要求¹。本文介绍了一种使用Waters Ostro™直通式样品制备板的样品前处理方法，这种效果稳定的通用方法与两种UPLC-MS/MS方法之一相结合，可用于定量“建议”中提出的所有分析物，且可定量的浓度低于“建议”规定的血液浓度阈值。UPLC-MS/MS方法凸显出ACQUITY™ UPLC I-Class的色谱分离度与Xevo™ TQ Absolute质谱仪的灵敏度相结合的优势，二者为这类分析构建了一个简单、耐用的分析平台。

优势

- 使用Ostro直通式样品制备板（P/N: [186005518](#) < <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186005518-ostro-protein-precipitation--phospholipid-removal-plate-25-mg-1-.html>>）的通用样品前处理方案
- 分析程序只需100 μL血样，对于样本量有限的应用非常有利
- 使用Waters ACQUITY UPLC BEH™ C₁₈色谱柱（P/N: [186002352](#) <

<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002352-acquity-uplc-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-100-mm-1-pk.html>) 结合采用流通针式(FTN)设计的ACQUITY UPLC I-Class, 可分离多种药物类别

- Xevo TQ Absolute质谱仪具有优异的灵敏度, 能够检出I类建议相关的分析物浓度

简介

据报道, 许多违禁药物和处方药物会削弱驾驶员对车辆的控制能力, 增加发生道路交通事故的可能性。2007年, 美国国家安全委员会的酒精、药物和损伤司(NSC-ADID)首次发布了一份药物清单, 为美国药驾(DUID)调查的检测范围提供了必不可少的依据^{2,3}。此后, 这些建议多次更新, 最近一次更新是在2021年¹。“建议”将需要关注的药物分为两组, 即I类和II类。I类药物包括DUID调查中的常见药物, 因此被认为是常规检测工作流程的必检项, 其浓度等于或低于推荐的血液浓度截止值(表1)¹。

大麻素	血液浓度 阈值 (ng/mL)	CNS兴奋剂	血液浓度 阈值 (ng/mL)	CNS抑制剂	血液浓度 阈值 (ng/mL)	麻醉性镇痛药	血液浓度 阈值 (ng/mL)
Δ9-THC 1	1	甲基苯丙胺	20	卡立普多	1000	可待因	10
羧基-THC	5	安非他命	20	甲丙氨酯	500	6-乙酰吗啡	5
11-羟基-THC	1	MDMA	20	唑吡坦	10	丁丙诺啡	0.5
		MDA	20	阿普唑仑	10	去甲丁丙诺啡	1
		可卡因	10	氯硝西洋	10	芬太尼	0.5
		苯甲酰芽子碱	50	7-氨基氯硝西洋	10	氢可酮	10
		可卡乙碱	10	劳拉西洋	10	氢吗啡酮	5
				地西洋	10	美沙酮	20
				去甲地西洋	10	吗啡	10
				奥沙西洋	10	羟考酮	10
				替马西洋	10	羟吗啡酮	5
						曲马多	50
						O-去甲基曲马多	50

表1.血液I类检测的推荐化合物组, 以及指定的管制药物及各自的阈值。

支持这些调查的分析测试需要对一系列类别不同、化学性质各异的药物进行定量分析。这就给法医毒理学实验室带来了分析挑战, 要寻找简单、通用的工作流程, 有效检测推荐血液浓度下的所有相关化合物。

之前, 我们介绍过一种基于Waters Ostro直通式样品制备板的简单的全血净化方案⁴。Ostro将蛋白质和磷脂的去

除与过滤结合在一套装置中。这种样品前处理方法与UPLC-MS/MS方法相结合，被用于分析一组（共17种）药物，以支持1988年英格兰和威尔士《道路交通安全法》第5A节的具体要求。在本研究中，我们将此方法用于分析包含35种I类药物的药物组，为美国的DUID调查提供支持。

实验

人全血对照品（K2 EDTA，混合样品），购自Bio-IVT（英国西萨塞克斯郡布杰斯希尔）。

毒理学相关物质标准品，购自Merck（英国多塞特郡普尔）或LGC（英国伦敦特丁顿）。分别以1 mg/mL甲醇或乙腈溶液提供。合并分析物，制备混合药物加标溶液；使用甲醇进一步稀释。分析物的稳定标记内标也购自相同的供应商，浓度为0.1 mg/mL。合并这些内标，得到溶于甲醇的1 ng/ μ L混合氘代内标溶液(ISTD)。所有溶液都储存于-20 °C下。

在全血样品中加入混合药物溶液，得到浓度在0.25~1500 ng/mL范围内的一系列溶液。如之前那篇应用纪要所述，制备血液等分试样⁴。简单来讲，将一份(100 μ L)对照品或加标血液加入Ostro样品制备96孔板（P/N: 186005518 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186005518-ostro-protein-precipitation--phospholipid-removal-plate-25-mg-1-.html>>）的孔中（已经有100 μ L硫酸锌/乙酸铵溶液），并简单混合。将洗脱溶剂（600 μ L 0.5%甲酸的乙腈溶液与1 μ L ISTD混合）添加到样品中，将样品板进一步涡旋混合3分钟。将样品板置于真空萃取装置上，并在全真空下将洗脱溶剂吸入沃特世2 mL方孔收集板（P/N: 186002482 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002482-96-well-sample-collection-plate-2-ml-square-well-50-pk.html>>）中。

分别转移两等份(150 μ L) Ostro洗脱液到1 mL圆孔收集板（P/N: 186002481 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002481-96-well-sample-collection-plate-800--l-round-well-50-pk.html>>）中，使用Ultrapap Mistral蒸发器(Porvair Sciences)干燥。

将一份干燥的等分试样复溶于50 μ L含0.05%甲酸的50%乙腈溶液中，用于分析THC及其代谢物。将另一份干燥的等分试样复溶于50 μ L含0.05%甲酸的50%乙腈溶液中，用于分析所有其他药物。使用下文详述的UPLC-MS/MS方法之一定量样品。

两种UPLC-MS/MS方法采用相同的色谱柱和流动相，即ACQUITY BEH C₁₈ (2.1 x 100 mm, 1.7 μ m) (P/N: 186002352 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002352-acquity-uplc-beh-c18->

[column-130a-17--m-21-mm-x-100-mm-1-pk.html](#))、0.05%甲酸的水溶液（流动相A）和0.05%甲酸的乙腈溶液（流动相B）。但两种方法的色谱梯度不同，分析THC及其代谢物的初始条件为50%流动相B，而定量所有其他药物时的初始条件为2%流动相B。两种方法均使用Xevo TQ-Absolute在电喷雾正离子(ESI+)模式下运行，采用2个MRM通道监测每种分析物，采用单个MRM通道监测内标。

结果与讨论

本研究使用之前开发的样品前处理方法分析了I类建议中的所有分析物。所分析的浓度包括每种分析物标准曲线上的各个浓度；对于大多数分析物，浓度范围下限低于推荐血液阈值浓度的1/2，上限高于推荐血液阈值浓度的5倍。

本研究成功检出了所有I类分析物，其浓度均低于建议血液阈值浓度的1/2。图1显示了以血液阈值水平加标I类建议中列出的化合物的全血样品的色谱图。每个化合物组（即大麻素、CNS兴奋剂、CNS抑制剂和麻醉性镇痛药）给出了三幅示例色谱图。

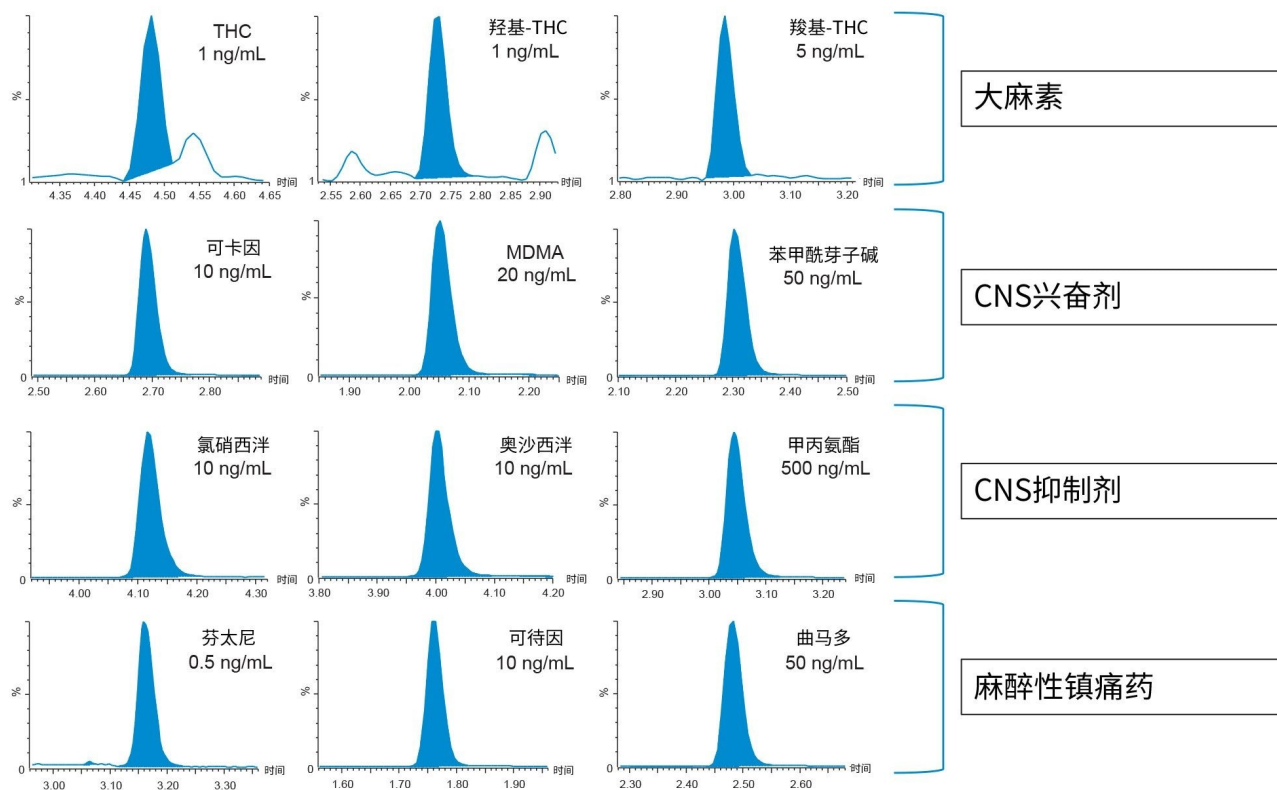


图1.以血液阈值水平加标的全血样品的定量离子代表性MRM色谱图，I类建议中指定的每个化合物组各三幅。

在本研究中，分析物的标准曲线表都现出良好的线性，所有化合物的 $R^2 > 0.98$ 。图2为各化合物组标准曲线的示例

。

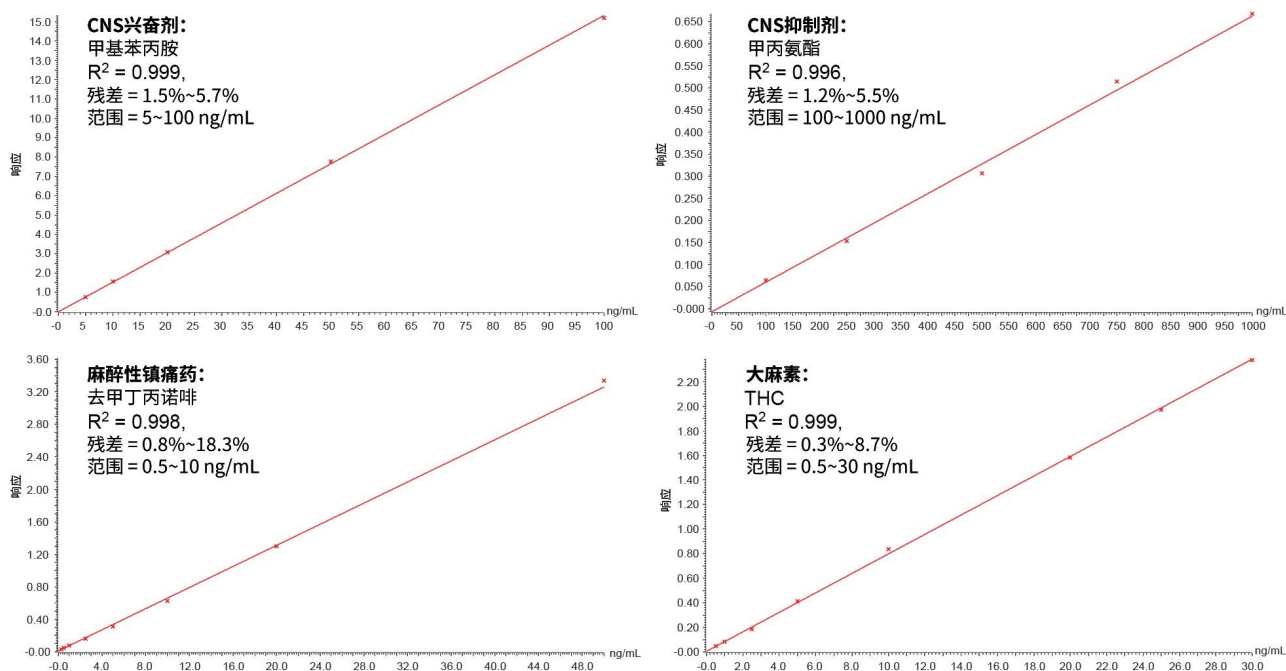


图2./类建议中每个化合物组的分析物标准曲线示例。采用1/x加权，标准曲线呈线性。

结论

随着驾驶员药检项目的增加，业界也愈加需要快速、准确、可靠和稳定的化合物定量方法。本文中的原理论证方法详细提供了一套完整工作流程，能够使用Ostro直通式样品制备板测定全血中的多种药物。该方法与灵敏度出色的Xevo TQ-Absolute质谱仪相结合，可以在相关浓度下检测美国I类建议中列出的35种分析物，尤其是那些阈值特别低的分析物（例如丁丙诺啡）。此外，使用Ostro样品板，任何需要提高样品通量的实验室都可以实施自动化的样品前处理方案。

参考资料

1. A.L D' Orazio *et al.* Recommendations for Toxicological Investigation of Drug-Impaired Driving and

Motor Vehicle Fatalities-2021 Update. *Journal of Analytical Toxicology* 2021, 45(6), 529–536.

2. L.J. Farrell, S. Kerrigan, B.K. Logan. Recommendations for Toxicological Investigation of Drug Impaired Driving. *Journal of Forensic Sciences* 2007, 52, 1214–1218.

3. National Safety Council–Alcohol, Drugs and Impairment Division
<https://www.nsc.org/workplace/get-involved/divisions/alcohol-drugs-impairment-division> <
<https://www.nsc.org/workplace/get-involved/divisions/alcohol-drugs-impairment-division>>
(accessed 12 May 2023).

4. M. Wood and R. Lee. 开展血药分析以支持英国《道路交通安全法》第5节关于“药驾”的要求，沃特世应用纪要，720007451ZH，2021年。

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ Absolute三重四极杆质谱仪 </nextgen/cn/zh/products/mass-spectrometry-systems/xevo-tq-absolute.html>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720007974ZH，2023年6月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号