

缴获电子烟油样品中75种合成大麻素的¹H qNMR定量分析研究

刘翠梅^{1*}, 贾薇¹, 宋春辉^{2*}, 花镇东¹

(1. 公安部禁毒情报技术中心 毒品监测管控与禁毒关键技术公安部重点实验室, 北京 100193;
2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 210009)

摘要: 通过考察75种合成大麻素(SCRAs)的关键定量参数,首次建立了可用于电子烟油样品中75种SCRAs定量分析的核磁共振氢谱定量分析方法(¹H qNMR)。以1,3,5-三甲氧基苯为内标,将烟油样品经氘代甲醇稀释后直接进行分析。方法的定量下限为0.03%(质量分数),日内相对标准偏差(RSD)小于0.90%,日间RSD小于1.5%,基质加标回收率为93.3%~100%。采用¹H qNMR法对19份缴获烟油样品中的4种合成大麻素3,3-二甲基-2-[1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯(5F-ADB)、2-[1-(5-氟戊基)-1H-吡啶-3-甲酰氨基]-3,3-二甲基丁酸甲酯(5F-MDMB-PICA)、2-[1-(4-氟丁基)-1H-吡啶-3-甲酰氨基]-3,3-二甲基丁酸甲酯(4F-MDMB-BUTINACA)、N-(1-氨基-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)-1-丁基-1H-吡啶-3-甲酰胺(ADB-BUTINACA)进行定量分析,得到其含量范围为0.072%~2.056%。19份烟油样品的¹H qNMR定量结果与高效液相色谱法定量结果无显著性差异。该研究所建立的电子烟油中SCRAs的定量分析¹H qNMR法无需标准物质,操作简单,定量结果准确,解决了缺乏标准物质时复杂基质中SCRAs定量分析的难题。目前国内外尚未有采用¹H qNMR对电子烟油中75种SCRAs定量分析的报道。该研究进一步拓宽了¹H qNMR技术在禁毒领域的应用范围,为复杂基质中毒品和新精神活性物质的定量分析提供了新的思路。

关键词: 电子烟油;新精神活性物质(NPS);合成大麻素;核磁共振氢谱定量分析

中图分类号: O656.3; O482.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2023)05-0605-09

Quantification of 75 Synthetic Cannabinoids in Seized E-liquid Samples by ¹H qNMR

LIU Cui-mei^{1*}, JIA Wei¹, SONG Chun-hui^{2*}, HUA Zhen-dong¹

(1. Key Laboratory of Drug Monitoring and Control, Drug Intelligence and Forensic Center, Ministry of Public Security, Beijing 100193, China; 2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: A general ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopic (¹H qNMR) method was established for the quantification of 75 synthetic cannabinoid receptor agonists (SCRAs) in seized e-liquid samples in this paper. The key qNMR spectrum acquisition and processing parameters, such as spin-lattice relaxation time (T_1), internal standard and SCRAs quantitative peak were thoroughly discussed. 1,3,5-trimethoxybenzene was used as the internal standard, and the samples were directly analyzed after dilution with deuterated methanol. The limit of quantitation (LOQ) of this method was 0.03%, the intra-day relative standard deviation (RSD) was less than 0.90%, the inter-day RSD was less than 1.5%, and the spiked recoveries for the matrixes were in the range of 93.3%–100%. The developed method was applied to the quantification of four SCRAs, including N-(1-methoxy-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(5-fluoropentyl)-1H-indazole-3-carboxamide (5F-ADB), methyl 2-(1-(5-fluoropentyl)-1H-indole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate (5F-MDMB-PICA), methyl 2-(1-(4-fluorobutyl)-1H-indazole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate (4F-MDMB-BUTINACA), and N-(1-amino-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl)-1-butyl-1H-indazole-3-carboxamide (ADB-BUTINACA) in 19 seized e-liquid samples. The contents of SCRAs ranged from 0.072% to

收稿日期: 2023-01-04; 修回日期: 2023-02-13

基金项目: 公安部科技计划项目(2021JC23); 国家重点研发计划(2022YFC3300902)

* 通讯作者: 刘翠梅, 博士, 副高级, 研究方向: 毒品和新精神活性物质分析研究, E-mail: liucuiwei8258@163.com
宋春辉, 硕士研究生, 研究方向: 毒品和新精神活性物质分析研究, E-mail: 15298358168@163.com

2.056%。To be specific, the content of 5F-ADB ranged from 0.081% to 0.200% ($n = 3$), the content of 5F-MDMB-PICA ranged from 0.072% to 1.453% ($n = 7$), the content of 4F-MDMB-BUTINACA ranged from 0.122% to 0.477% ($n = 5$), and the content of ADB-BUTINACA ranged from 0.561% to 2.056% ($n = 4$). The quantitative results for SCRA in 19 e-liquids by ^1H qNMR and high-performance liquid chromatography (HPLC) were compared using Wilcoxon signed-rank test. The test P value was 1.00, indicating that there was no significant difference between the quantitative results of these two methods. The proposed ^1H qNMR method is simple and accurate, which does not require the SCRA reference material. It solves the problem of quantitative analysis for SCRA in complex matrix when there is no reference material. At present, there is no report on the quantitative analysis of 75 kinds of SCRA in e-liquids by ^1H qNMR. This study further broadens the application scope of ^1H qNMR in the field of drug control, and provides a new idea for quantitative analysis of drugs and new psychoactive substances in complex matrix.

Key words: e-liquids; new psychoactive substances (NPS); synthetic cannabinoids; ^1H quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy analysis (^1H qNMR)

近年来,电子烟(E-cigarette)因时尚、炫酷的外形在年轻消费者中开始流行。电子烟通过内置雾化器将烟弹中的烟油(E-liquid)雾化并将含尼古丁的气溶胶输送至人体口腔和肺部,带来传统烟草般的视觉、味觉等感受^[1]。烟油通常由丙二醇、丙三醇、尼古丁(Nicotine)及各种香精组成。电子烟作为一种新型尼古丁传递介质,同时也存在被用作非法药物输送系统的潜在风险^[2]。

合成大麻素类物质(SCRAs)简称合成大麻素,是人工合成的大麻素受体(CBR)激动剂,可与CB₁R或CB₂R结合,产生比天然大麻素更强的生理药理作用^[3]。SCRAs较天然大麻对中枢神经系统、心血管系统、免疫系统的副作用更大,过量吸食会导致中毒甚至死亡^[4]。SCRAs种类多、更新换代快。截至2021年底,联合国毒品和犯罪问题办公室(UNODC)已发现的SCRAs共282种^[5]。我国现已发现SCRAs 100余种^[6]。为应对国内日益严重的SCRAs滥用问题,我国于2021年7月1日起,将SCRAs整类(图1)列入《非药用麻醉药品和精神药品管控增补目录》。根据最高人民法院、最高人民检察院、公安部关于印发《办理毒品犯罪案件毒品提取、扣押、称量、取样和送检程序若干问题的规定》(公禁毒[2016]511号)的要求,当查获毒品为固液混合样品时,需要进行定量分析。因此自SCRAs整类列管以来,各地法庭科学实验室受理的电子烟油中SCRAs定量分析的案件逐渐增多。但由于SCRAs包含的化合物种类多、更新换代频率快,无法及时购买到对应标准物质,严重影响了定量鉴定工作的时效性。

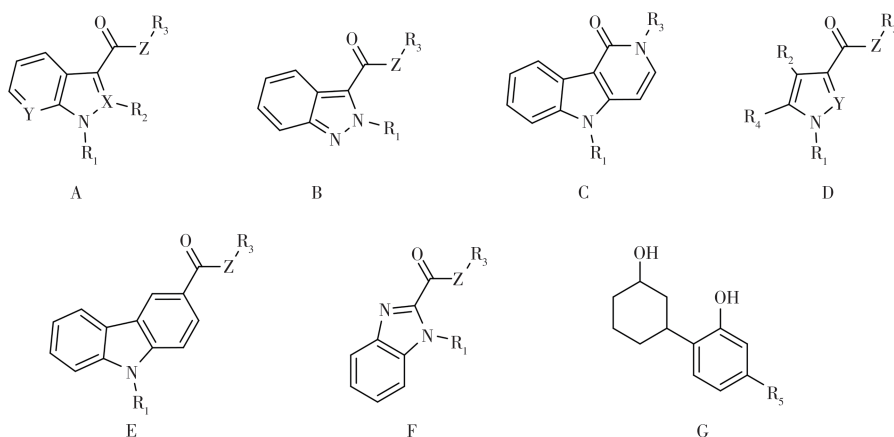


图1 我国整类列管的合成大麻素类物质结构通式

Fig. 1 The class-wide core structures for synthetic cannabinoids regulated in China

现阶段常用的SCRAs定量分析方法有高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法(LC-MS)等^[7],这些方法均需要配备标准物质用于定量标准曲线的绘制。核磁共振波谱氢信号的积分面积与有效体积内相应原子的个数成正比,因此氢谱核磁定量方法(^1H qNMR)可用于标准物质短缺时化合物的定量分析^[8-9]。用于吸食的SCRAs伪装形式众多,经常喷洒在烟丝、花瓣、香料表面或掺在电子烟油中。现阶段已有大量采用 ^1H qNMR定量分析植物制品(如

烟丝、花瓣、香料)中SCRAs的研究报道^[10-12], 但仅有1篇文献采用¹H qNMR定量分析了烟油基质中的SCRAs^[13], 且仅涵盖了JWH-210、5F-MDMB-PICA、5F-ADB、5F-AKB48、ADB-FUBINACA 5种合成大麻素。为此, 本研究拟在系统考察75种SCRAs定量分析关键参数的基础上, 建立适用于电子烟油中SCRAs定量分析的通用型¹H qNMR方法, 并将该方法应用于近期缴获的电子烟油检材中SCRAs的定量分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker Avance III 400型核磁共振波谱仪(瑞士Bruker公司); 1200型高效液相色谱仪(美国Agilent Technologies公司), 配有标准真空脱气机(G1322A)、自动进样器(G1329A)、四元泵(G1311A)和二极阵列检测器(G1312A); XP26型电子天平(美国Mettler Toledo公司); KQ3200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。数据处理软件MestReNova14.2.3、TopSpin3.5pl7、SPSS26.0。

氘代甲醇(99.9%)购自美国剑桥同位素实验室; 马来酸(99.94%)和1,3,5-三甲氧基苯(99.82%)购自美国Sigma Aldrich公司。

甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)购自美国Merck公司; 磷酸(85%)购自美国Sigma Aldrich公司; 三乙胺(99.7%)购自北京百灵威科技有限公司; 尼古丁购自美国PANPHY公司; 乙基麦芽酚购自麦克林公司。

75种SCRAs对照品由国家毒品实验室提供, 化学结构经GC-MS、LC-MS、NMR确证。各化合物的中英文名称、CAS号、结构式等信息详见《新精神活性物质分析手册(第二版)核磁共振波谱分册》^[6]。5F-ADB(98.5%)、5F-MDMB-PICA(99.2%)、4F-MDMB-BUTINACA(99.0%)、ADB-BUTINACA(98.7%)由公安部第三研究所提供。

19份电子烟油样品由各地公安部门缴获并送检, 依次编号为S1~S19。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液制备

1.2.1.1 ¹H qNMR法 1,3,5-三甲氧基苯氘代甲醇内标溶液(20 mg·mL⁻¹): 称取内标1,3,5-三甲氧基苯200 mg, 用氘代甲醇定容至10 mL。

标准品溶液配制: 称取5F-MDMB-PICA、ADB-BUTINACA标准品各40 mg, 分别用2 mL氘代甲醇溶解, 配成20 mg·mL⁻¹的标准贮备液。分别配制SCRAs质量分数为0.03%、0.06%、0.18%、0.60%、0.90%、1.50%、3.0%的系列烟油标准品溶液, 每份溶液均加入200 mg的空白电子烟油和60 μL的氘代甲醇内标溶液, 然后再分别加入20 mg·mL⁻¹的标准贮备液3、6、18、60、90、150、300 μL, 以及对应的氘代甲醇337、334、322、280、250、190、40 μL。每个浓度溶液平行制备两份。

加标回收溶液的配制: 选择上述配制的5F-MDMB-PICA、ADB-BUTINACA的质量分数分别为0.18%、0.06%、1.50%的3个水平的样品用于加标回收率考察。

样品溶液: 精密称取200 mg混合均匀的电子烟油样品, 每份样品中加入60 μL 20 mg·mL⁻¹的氘代甲醇内标溶液和340 μL氘代甲醇, 涡旋混匀, 转移至5 mm的核磁管中备用。每份样品平行制备2份。

1.2.1.2 HPLC法 磷酸-三乙胺缓冲液: 量取浓磷酸4.12 mL, 加入200 mL水稀释; 量取三乙胺5.56 mL, 加入上述磷酸溶液中, 再加水稀释至1000 mL; 混匀后以0.45 μm水系滤膜过滤, 超声后静置待用。

标准溶液: 分别配制质量浓度为1 mg·mL⁻¹的5F-ADB、5F-MDMB-PICA、4F-MDMB-BUTINACA、ADB-BUTINACA的甲醇标准贮备液; 并使用甲醇溶液对标准贮备液进行稀释, 配制成质量浓度为0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg·mL⁻¹的单标标准系列工作溶液, 待分析用。

样品溶液: 精密称取200 mg混合均匀的电子烟油样品, 用10 mL甲醇溶解, 超声5 min, 提取液用0.45 μm有机系滤膜过滤, 待分析用。部分高浓度样品溶液稀释5倍后进样。所有样品平行制备2份。

1.2.2 ¹H qNMR法分析条件

脉冲序列: zg, 翻转角(flip angle): 90°, 温度(TE): 300 K, 谱宽(SW): 12 ppm, 发射器频率偏

移(O1P): 5.5 ppm, 扫描次数(NS): 128次, 采样点数(TD): 64 K, 采集时间(AQ): 6.7 s, 弛豫延迟时间(D_1): 20 s。总采样时长约为 58 min。

将采集到的数据使用 TopSpin3.5pl7 软件进行傅里叶变换, 使用 MestReNova14.2.3 进行谱图相位、基线及化学位移校正。

对选定的内标定量峰和待测物定量峰进行积分, 目标物的含量由公式(1)^[9]计算:

$$P_x = \frac{I_x}{I_{\text{std}}} \times \frac{N_{\text{std}}}{N_x} \times \frac{M_x}{M_{\text{std}}} \times \frac{m_{\text{std}}}{m_x} \times P_{\text{std}} \times 100(\%) \quad (1)$$

式中, x 和 std 分别代表待测物和内标物, P 为纯度, I 为峰面积, N 为 ^1H 核的个数, M 为分子量, m 为称样质量。

1.2.3 HPLC 法分析条件

色谱条件: 色谱柱为 Agilent C_{18} 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm); 流动相 A 为乙腈, B 为磷酸-三乙胺缓冲液(pH 2.3); 梯度洗脱; 流速为 1 mL \cdot min⁻¹; 5F-ADB、4F-MDMB-BUTINACA、ADB-BUTINACA 的检测波长为 210 nm 或 302 nm, 5F-MDMB-PICA 的检测波长为 218 nm 或 290 nm; 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 5 μL 。梯度洗脱条件: 0.0~9.0 min: 初始洗脱比例; 9.0~9.2 min: 初始洗脱比例 ~ 100% A; 9.2~11.0 min: 100% A; 11.0~11.2 min: 返回初始洗脱比例; 11.2~15.0 min: 初始洗脱比例。5F-ADB、5F-MDMB-PICA、4F-MDMB-BUTINACA、ADB-BUTINACA 的初始洗脱比例分别为 65% A、60% A、60% A、50% A。

1.2.4 数据分析

采用 MestReNova14.2.3 软件(Mestrelab Research, 西班牙)对 ^1H NMR 谱图进行自动相位和基线校正。

采用 SPSS 软件(IBM, 美国)对 19 份烟油样品的 ^1H qNMR 和 HPLC 定量结果进行威尔科克森配对符号秩检验, 根据非参检验的 P 值判断两种方法的测定结果是否存在显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 ^1H qNMR 定量方法参数优化

2.1.1 弛豫延迟时间 D_1 的测定

自旋-晶格弛豫是平行于外磁场 B_0 方向的磁化矢量恢复到热平衡状态的过程, 其变化速率用纵向弛豫时间 T_1 表示。研究表明当弛豫延迟时间(D_1)大于 $5T_1$ 时, 弛豫率可达 99.3%, 由不完全弛豫引起的误差为 0.7%^[14]。采用反转恢复法^[15]测得 75 种 SCRA 定量峰的 T_1 值, 各 SCRA 和内标定量峰对应的最大 T_1 值($T_{1\text{max}}$)详见表 1。75 种 SCRA 的最高 $T_{1\text{max}}$ 值为 3.7 s, 内标 1,3,5-三甲氧基苯的 T_1 值为 4.8 s。根据公式: 弛豫延迟时间(D_1) $\geq 5T_1 - \text{AQ}$ (采集时间), 设置 D_1 为 20 s。

表 1 75 种合成大麻素及内标的定量峰和 $T_{1\text{max}}$ 值
Table 1 The quantitative peaks and $T_{1\text{max}}$ values of 75 types of synthetic cannabinoids

No.	Compound	Quantitative peaks(δ/ppm , multiplicity, protons)	$T_{1\text{max}}/\text{s}$
1	JWH-210	8.34(m, 1H); 8.18(d, 1H); 8.06(ddd, 1H)	2.0
2	JWH-250	8.24(ddd, 1H); 8.19(s, 1H); 7.45(dt, 1H)	2.1
3	JWH-370	8.08(m, 1H); 8.01(d, 1H); 7.94(m, 1H); 7.68(dd, 1H); 6.54(d, 1H)	2.1
4	AM-2201	8.35(m, 1H); 7.95(dd, 1H); 7.64(dd, 1H); 7.34(m, 2H)	2.8
5	RCS-4	8.26(ddd, 1H); 7.52(dt, 1H); 7.29(m, 2H); 7.06(m, 2H)	2.1
6	UR-144	8.25(ddd, 1H); 8.04(s, 1H); 7.45(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	2.0
7	5F-UR-144	8.26(ddd, 1H); 8.05(s, 1H); 7.46(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	1.9
8	AM-694	8.20(m, 1H); 7.96(dd, 1H); 7.41(dd, 1H); 7.22(ddd, 1H)	2.2
9	PB-22	8.84(dd, 1H); 8.42(dd, 1H); 8.33(s, 1H); 8.14(ddd, 1H); 7.89(dd, 1H)	2.1
10	5F-PB-22	8.83(dd, 1H); 8.41(dd, 1H); 8.34(s, 1H); 8.15(ddd, 1H); 7.89(dd, 1H)	2.1
11	A-796, 260	8.26(ddd, 1H); 8.11(s, 1H); 7.49(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	2.1
12	APICA	8.03(ddd, 1H); 7.84(s, 1H); 7.43(dt, 1H); 7.18(m, 2H)	1.2
13	CB-13	8.91(m, 1H); 8.37(m, 1H); 7.96(m, 1H); 6.72(d, 1H)	2.2
14	STS-135	8.03(ddd, 1H); 7.85(s, 1H); 7.44(dt, 1H); 7.19(m, 2H)	1.2
15	AB-CHMINACA	8.21(dt, 1H); 7.62(dt, 1H); 7.44(ddd, 1H); 7.27(ddd, 1H)	1.9
16	AB-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.62(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.27(ddd, 1H)	1.9
17	5F-APINACA	8.19(dt, 1H); 7.60(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.25(ddd, 1H)	1.9

(续表1)

No.	Compound	Quantitative peaks(δ /ppm, multiplicity, protons)	$T_{1\max}/s$
18	PX-2	8.14(dt, 1H); 7.61(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H)	2.0
19	AM-1248	8.37(s, 1H); 8.32(ddd, 1H); 7.47(dt, 1H); 7.24(m, 2H)	1.2
20	AB-FUBINACA	8.22(dt, 1H); 7.58(dt, 1H); 7.42(ddd, 1H); 7.04(m, 2H)	2.0
21	5F-AMB	8.20(dt, 1H); 7.64(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	2.0
22	ADBICA	8.04(ddd, 1H); 7.99(s, 1H); 7.48(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	1.4
23	5F-ABICA	8.08(ddd, 1H); 7.99(s, 1H); 7.47(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	1.6
24	5F-ADBICA	8.04(ddd, 1H); 7.99(s, 1H); 7.49(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	1.4
25	5F-AB-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.64(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	1.9
26	ADB-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.62(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	1.9
27	APINACA	8.19(dt, 1H); 7.59(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.25(ddd, 1H)	1.9
28	5-Fluoropentyl-3-pyridinoylindole	8.92(dd, 1H); 8.73(dd, 1H); 8.32(ddd, 1H); 8.20(ddd, 1H); 7.90(s, 1H)	3.7
29	5F-AMP-P7AICA	8.47(dd, 1H); 8.30(dd, 1H); 8.19(s, 1H); 7.22(dd, 1H)	1.9
30	5F-ADB	8.20(dt, 1H); 7.65(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.29(ddd, 1H)	2.0
31	5F-ADB-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.64(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	1.9
32	5F-BEPIRAPIM	7.27(ddd, 1H); 7.21(ddd, 1H)	1.4
33	5F-QUP7AIC	8.83(dd, 1H); 7.90(m, 1H); 7.56(dd, 1H); 7.30(dd, 1H)	2.1
34	AB-FUBICA	8.09(m, 1H); 8.04(s, 1H); 7.39(m, 1H); 7.03(m, 2H)	2.1
35	ADB-BICA	7.40(m, 1H)	2.0
36	ADB-BINACA	8.23(dt, 1H); 7.55(dt, 1H); 7.41(ddd, 1H)	1.9
37	ADB-FUBICA	7.39(m, 1H); 7.02(m, 2H)	1.7
38	ADB-FUBINACA	8.22(dt, 1H); 7.58(dt, 1H); 7.42(ddd, 1H); 7.04(m, 2H)	2.0
39	AMPPPCA	7.32(m, 2H)	1.3
40	APINACA-2H	7.73(dt, 1H); 7.63(dt, 1H); 7.33(ddd, 1H); 7.20(ddd, 1H)	2.1
41	FUB-JWH-018	8.36(m, 1H); 7.95(dd, 1H); 7.17(m, 2H); 6.99(m, 2H)	2.2
42	BIM-2201	8.38(m, 1H); 8.15(dt, 1H); 7.91(dd, 1H); 7.38(m, 1H)	2.5
43	5Cl-AB-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.64(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	2.1
44	AMB-FUBINACA	8.21(dt, 1H); 7.58(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.05(m, 2H)	2.1
45	SDB-005	8.25(dt, 1H); 7.97(m, 2H); 7.86(d, 1H); 7.78(dt, 1H); 7.39(ddd, 1H)	1.9
46	5F-MN-18	8.29(dt, 1H); 8.08(m, 1H); 7.82(d, 1H); 7.70(dt, 1H); 7.32(ddd, 1H)	2.0
47	ADB-CHMINACA	8.21(dt, 1H); 7.61(dt, 1H); 7.44(ddd, 1H); 7.27(ddd, 1H)	1.9
48	FUB-APINACA	8.21(dt, 1H); 7.55(dt, 1H); 7.40(ddd, 1H); 7.03(m, 2H)	2.1
49	EMB-FUBINACA	8.21(dt, 1H); 7.58(dt, 1H); 7.42(ddd, 1H); 7.04(m, 2H)	2.2
50	MDMB-FUBICA	8.11(s, 1H); 8.06(m, 1H); 7.39(m, 1H); 7.04(m, 2H)	1.8
51	5F-SDB-005	8.25(dt, 1H); 7.86(dt, 1H); 7.78(dt, 1H); 7.39(ddd, 1H)	1.8
52	AMB-CHMICA	8.08(ddd, 1H); 7.97(s, 1H); 7.45(dt, 1H); 7.20(m, 2H)	1.8
53	ADB-CHMICA	8.04(m, 1H); 7.94(s, 1H); 7.47(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	1.4
54	5F-EDMB-PINACA	8.20(dt, 1H); 7.65(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.29(ddd, 1H)	1.9
55	SDB-006	8.13(ddd, 1H); 7.88(s, 1H); 7.44(dt, 1H)	2.4
56	5F-MDMB-PICA	7.48(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	1.7
57	MDMB-CHMICA	8.04(ddd, 1H); 8.00(s, 1H); 7.46(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	1.7
58	5F-AMB-PICA	8.08(ddd, 1H); 8.02(s, 1H); 7.47(dt, 1H); 7.21(m, 2H)	1.8
59	5F-AP7AICA	8.44(dd, 1H); 8.29(dd, 1H); 8.06(s, 1H); 7.21(dd, 1H)	1.9
60	AMB-FUBICA	8.10(m, 1H); 8.06(s, 1H); 7.39(m, 1H); 7.03(m, 2H)	1.8
61	4F-MDMB-BUTINACA	8.20(dt, 1H); 7.66(dt, 1H); 7.47(ddd, 1H); 7.29(ddd, 1H)	2.0
62	AMB-4en-PICA	8.09(ddd, 1H); 8.01(s, 1H); 7.45(dt, 1H); 7.21(m, 2H)	1.8
63	5F-MPP-PICA	7.95(dt, 1H); 7.86(s, 1H); 7.44(dt, 1H); 7.14(ddd, 1H)	1.7
64	4CN-CUMYL-BUTINACA	8.11(dt, 1H); 7.64(dt, 1H)	2.0
65	5Cl-APINACA	8.19(dt, 1H); 7.60(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.25(ddd, 1H)	2.0
66	MDMB-4en-PINACA	8.20(dt, 1H); 7.62(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	2.0
67	4F-MDMB-BUTICA	7.48(dt, 1H); 7.23(m, 2H)	1.7
68	5F-EDMB-PICA	7.48(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	1.7
69	4F-ABUTINACA	8.20(dt, 1H); 7.60(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.25(ddd, 1H)	2.0
70	ACHMINACA	8.19(dt, 1H); 7.59(dt, 1H); 7.43(ddd, 1H); 7.25(ddd, 1H)	2.1
71	ADB-BUTINACA	8.21(dt, 1H); 7.62(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.27(ddd, 1H)	1.9
72	5F-EMB-PICA	8.08(ddd, 1H); 8.02(s, 1H); 7.48(dt, 1H); 7.22(m, 2H)	1.7
73	ADB-4en-PINACA	8.21(dt, 1H); 7.61(dt, 1H); 7.45(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	1.9
74	EDMB-PINACA	8.20(dt, 1H); 7.63(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	2.0
75	MDMB-BUTINACA	8.20(dt, 1H); 7.64(dt, 1H); 7.46(ddd, 1H); 7.28(ddd, 1H)	2.0
IS	1,3,5-Trimethoxybenzene	6.09(s, 3H)	4.8

s. singlet; d. doublet; t. triplet; m. multiple(s. 单峰; d. 双峰; t. 三重峰; m. 多重峰)

2.1.2 定量内标的选择

合适的内标是¹H qNMR法的关键定量参数。内标应纯度已知、完全溶于所用溶剂、不与样品发生反应、性质稳定且内标定量峰不受干扰。本研究以某一4F-MDMB-BUTINACA含量为0.5%的制备烟油样品为例,考察了马来酸(MA)和1,3,5-三甲氧基苯两种内标的定量效果。称取200 mg的烟油样品,加入1 mg内标和400 μL氘代甲醇,涡旋混匀,每种内标平行测定两次。选用MA和1,3,5-三甲氧基苯两种内标时,4F-MDMB-BUTINACA的加标回收率分别为123%和98.0%。这是因为,MA作为内标时,来自烟油基质的乙基麦芽酚的峰会部分干扰MA的定量峰,从而影响定量结果的准确性(图2A);而1,3,5-三甲氧基苯对烟油基质和目标物均不存在干扰(图2B),加标回收率结果令人满意。因此,选择1,3,5-三甲氧基苯作为¹H qNMR方法的内标物。

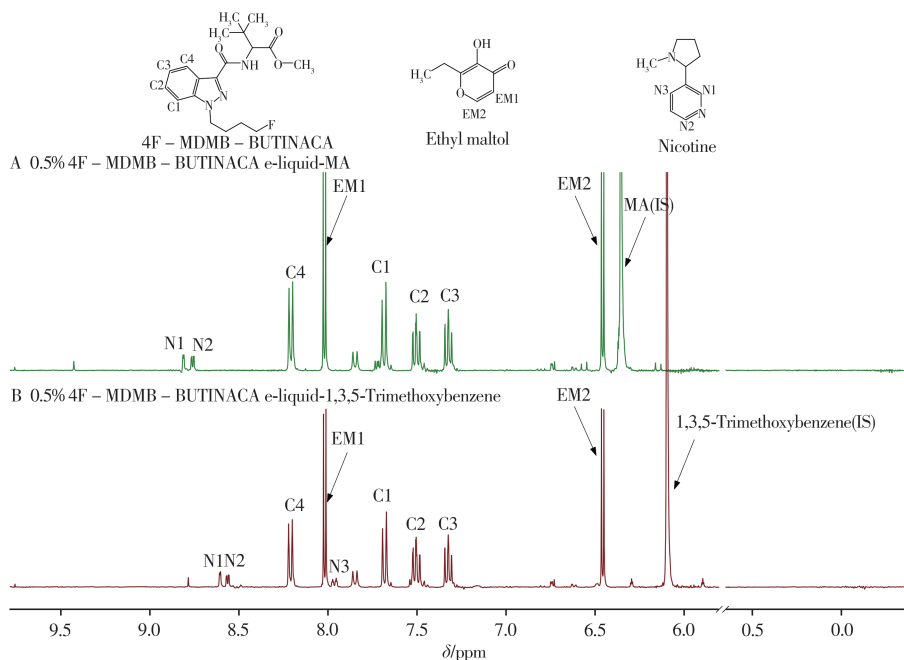


图2 马来酸(A)和1,3,5-三甲氧基苯(B)为内标时制备烟油样品的¹H qNMR谱图

Fig. 2 ¹H qNMR spectra of e-liquid samples under different internal standards

C: 4F-MDMB-BUTINACA, N: nicotine, EM: ethyl maltol, IS: internal standard

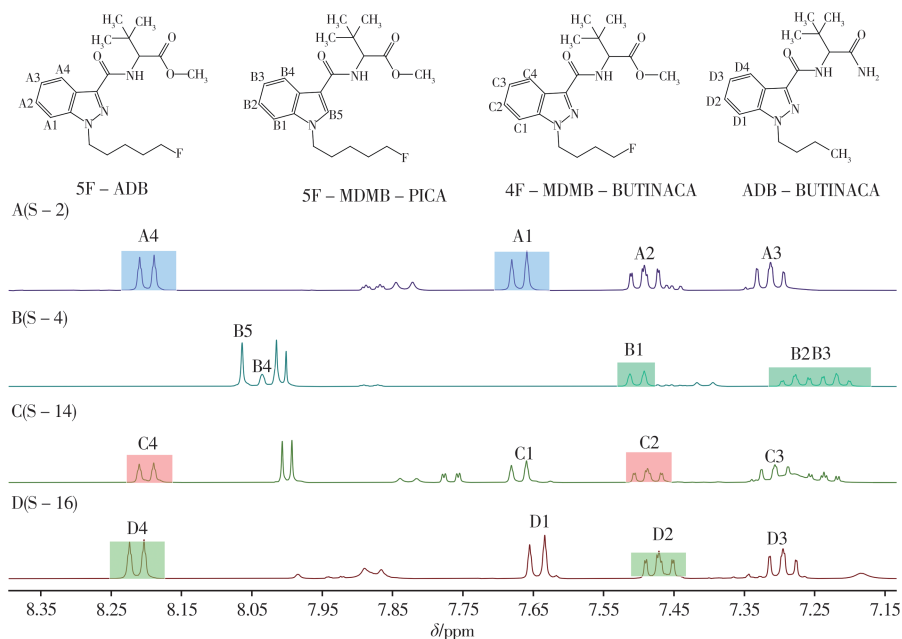
2.1.3 合成大麻素定量峰的选择

烟油样品基质复杂,且不同样品基质组成差异很大,因此目标SCRAs定量峰的选择尤为重要。定量峰应不受烟油基质、内标物及氘代溶剂峰的干扰。由于烟油基质中的丙二醇和丙三醇严重干扰SCRAs在高场区域的¹H信号,因此一般选取低场区域、区分度好的¹H信号作为定量峰,各SCRAs的推荐定量峰详见表1。此外,烟油样品中常含有尼古丁、乙基麦芽酚等掺杂物(图3),这些掺杂物可能会干扰SCRAs的某些定量峰。因此,对于不同基质的烟油样品,应在参考表1定量峰的基础上结合掺杂物的干扰信息,选择合适的SCRAs定量峰。即对于不同基质的烟油样品,同一目标SCRAs的定量峰可能会有所差别。图3中彩色矩形标记的峰为不同样品基质中目标SCRAs的定量峰。

2.2 ¹H qNMR定量方法学考察

2.2.1 定量下限及线性范围

以5F-MDMB-PICA和ADB-BUTINACA为代表考察¹H qNMR法分析SCRAs的定量下限和线性范围。按“1.2.1.1”所述方法制备0.03%~3.0%的7个含量的烟油标准品溶液,在“1.2.2”分析条件下测定¹H谱,以定量峰信噪比为10时化合物的浓度作为定量下限,得到5F-MDMB-PICA和ADB-BUTINACA的定量下限均为0.03%;以SCRAs定量峰与内标定量峰的积分比值为横坐标,SCRAs的含量为纵坐标进行线性拟合,得到上述两种合成大麻素的线性相关系数(r^2)均为0.999,线性关系良好。

图3 4份烟油样品的核磁¹H谱和定量峰Fig. 3 ¹H NMR spectra of four e-liquid samples and their quantitative peaks

A: 5F-ADB, B: 5F-MDMB-PICA, C: 4F-MDMB-BUTINACA, D: ADB-BUTINACA

2.2.2 加标回收率与相对标准偏差

以5F-MDMB-PICA和ADB-BUTINACA为代表考察¹H qNMR法分析SCRAs的加标回收率和相对标准偏差(RSD)。按“1.2.1.1”所述方法制备低、中、高3个含量的烟油标准品溶液,按“1.2.2”分析条件测定¹H谱,计算加标回收率,结果见表2。3个含量烟油标准品溶液的加标回收率为93.3%~100%,检测准确性良好,结果可靠。选择3个含量的烟油基质加标样品各1份,进行日内和日间相对标准偏差的测定。1天内连续测定6次,计算得到日内相对标准偏差,6天内连续测定6次,计算得到日间相对标准偏差。结果显示,方法的日内RSD小于0.90%,日间RSD小于1.5%。

表2 ¹H qNMR烟油样品的加标回收率、日内和日间相对标准偏差($n=6$)Table 2 Recoveries, intra-day and inter-day relative standard deviations of ¹H qNMR ($n=6$)

Compound	Spiked/%	Recovery/%	Intra-day RSD/%	Inter-day RSD/%
5F-MDMB-PICA	0.18	96.0	0.60	1.0
	0.60	98.6	0.80	0.80
	1.50	100	0.10	0.40
ADB-BUTINACA	0.18	99.4	0.80	1.4
	0.60	99.6	0.40	1.3
	1.50	93.3	0.10	0.20

2.3 烟油样品定量分析

由于实际缴获样品中只检出了5F-ADB、5F-MDMB-PICA、4F-MDMB-BUTINACA、ADB-BUTINACA 4种SCRAs,故采用所建立的¹H qNMR法对19份烟油中的这4种SCRAs进行定量分析。结果表明,烟油样品中SCRAs的含量范围为0.072%~2.056%(表3)。其中,5F-ADB的含量范围为0.081%~0.200%($n=3$),5F-MDMB-PICA的含量范围为0.072%~1.453%($n=7$),4F-MDMB-BUTINACA的含量范围为0.122%~0.477%($n=5$),ADB-BUTINACA的含量范围为0.561%~2.056%($n=4$)。

表3 19份电子烟油中合成大麻素的¹H qNMR和HPLC定量结果Table 3 Contents of synthetic cannabinoids in 19 e-liquid samples measured by ¹H qNMR and HPLC

Sample	Compound	$w/(\pm SD)$		RD/%
		¹ H qNMR	HPLC	
S-1	5F-ADB	0.081 ± 0.001	0.080 ± 0.001	1.2
S-2	5F-ADB	0.200 ± 0.001	0.214 ± 0.003	-6.8
S-3	5F-ADB	0.131 ± 0.001	0.140 ± 0.001	-6.6

(续表 3)

Sample	Compound	$w/(\pm SD)$		RD/%
		$^1\text{H qNMR}$	HPLC	
S-4	5F-MDMB-PICA	1.294 ± 0.001	1.252 ± 0.021	3.3
S-5	5F-MDMB-PICA	0.481 ± 0.004	0.503 ± 0.001	-4.5
S-6	5F-MDMB-PICA	0.124 ± 0.001	0.130 ± 0.001	-4.7
S-7	5F-MDMB-PICA	0.072 ± 0.001	0.075 ± 0.001	-4.1
S-8	5F-MDMB-PICA	0.192 ± 0.001	0.181 ± 0.001	5.9
S-9	5F-MDMB-PICA	0.907 ± 0.002	0.859 ± 0.009	5.4
S-10	5F-MDMB-PICA	1.453 ± 0.001	1.414 ± 0.003	2.7
S-11	4F-MDMB-BUTINACA	0.235 ± 0.001	0.243 ± 0.001	-3.3
S-12	4F-MDMB-BUTINACA	0.477 ± 0.003	0.514 ± 0.003	-7.5
S-13	4F-MDMB-BUTINACA	0.122 ± 0.002	0.132 ± 0.001	-7.9
S-14	4F-MDMB-BUTINACA	0.134 ± 0.001	0.142 ± 0.002	-5.8
S-15	4F-MDMB-BUTINACA	0.189 ± 0.001	0.180 ± 0.002	4.9
S-16	ADB-BUTINACA	1.265 ± 0.006	1.199 ± 0.001	5.4
S-17	ADB-BUTINACA	0.561 ± 0.004	0.534 ± 0.003	4.9
S-18	ADB-BUTINACA	1.984 ± 0.004	2.099 ± 0.004	-5.6
S-19	ADB-BUTINACA	2.056 ± 0.001	2.103 ± 0.001	-2.3

为进一步验证 $^1\text{H qNMR}$ 定量结果的准确性, 采用“1.2.3”所述 HPLC 法对烟油样品中的 SCRA_s 进行定量分析, 结果见表 3。采用 SPSS 软件对 $^1\text{H qNMR}$ 和 HPLC 的定量结果进行相关样本威尔科克森配对符号秩检验^[16], 分析两种方法测量结果的差异。结果表明, 对于 $\alpha = 0.05$ 的双侧检验, 19 个样品 $^1\text{H qNMR}$ 法和 HPLC 法测定结果的 P 值为 1.00, 大于 0.05, 说明两种方法的测定结果无显著性差异。

与 HPLC 法相比, $^1\text{H qNMR}$ 的样品前处理简单, 定量分析不需标准物质。但核磁方法对于部分含多种 SCRA_s 的样品(如定量峰相互重叠)则无法完成定量分析。目前本实验室收到的 95% 以上的送检样品只包含 1 种 SCRA_s, 总体而言, $^1\text{H qNMR}$ 法具有良好的适用性。

3 结 论

本研究考察了 75 种 SCRA_s 的 $^1\text{H qNMR}$ 定量分析参数, 首次系统建立了适用于电子烟油中 SCRA_s 定量分析的通用型 $^1\text{H qNMR}$ 方法, 并采用该方法对 19 份烟油检材中的 4 种合成大麻素进行了定量分析。 $^1\text{H qNMR}$ 法无需标准品、样品前处理简单、准确性高、精密度好, 解决了缺乏标准物质时复杂基质中 SCRA_s 的定量分析难题。本研究进一步拓宽了 $^1\text{H qNMR}$ 技术在毒品检测中的应用范围, 为复杂基质中毒品和新精神活性物质的定量分析提供了新的思路。

需要注意的是, 烟油基质复杂, 粘稠, 分析前须将样品充分混匀, 以保证定量结果的准确性和平行性。称量误差、谱图后处理误差是 $^1\text{H qNMR}$ 结果中最重要的不确定性来源, 因此准确称量内标物与样品, 并采取合适的谱图后处理方法是准确定量的保证。

参考文献:

- [1] Liu Y C, Cai J Y, Liang S H, Chen D, Peng L J, Xiao Y. *Yunnan Chem. Technol.* (刘宇晨, 蔡洁云, 梁诗涵, 陈丹, 彭丽娟, 肖燕. 云南化工), **2021**, 48(8): 15-20.
- [2] Breitbarth A K, Morgan J, Jones A L. *Drug Alcohol Depend.*, **2018**, 192: 98-111.
- [3] Song H. *J. Instrum. Anal.* (宋辉. 分析测试学报), **2022**, 41(6): 858-864.
- [4] Chung E Y, Cha H J, Min H K, Yun J. *Arch. Pharm. Res.*, **2021**, 44: 402-413.
- [5] United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *World Drug Report 2022*. Accessed June 27, **2022**.
- [6] Jia W, Zhang T T, Hua Z D. *Handbook for the Analysis of New Psychoactive Substances*. 2nd. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Parts*. Beijing: China People's Public Security University Press (贾薇, 张婷婷, 花镇东. 新精神活性物质分析手册(第二版). 核磁共振波谱分册. 北京: 中国人民公安大学出版社), **2019**.
- [7] United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *Recommended Methods for the Identification and Analysis of Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists in Seized Materials*. New York, **2013**.
- [8] Araneda J F, Bernstein M A, Chuh T, Leclerc M C, Riegel D. *ACS Symp. Ser.*, **2021**, 1376: 111-120.
- [9] Serrano J N P, Benedito L E C, Souza M P, Maldaner A O, Oliveira A L. *Forensic Chem.*, **2021**, 21: 100282-100302.

- [10] Fowler F, Voyer B, Marino A M, Finzel J, Veltri M, Wachter N M, Huang L. *Anal. Methods*, **2015**, 7: 7907 – 7916.
- [11] Dunne S J, Rosengren – holmberg J P. *Drug Test. Anal.*, **2017**, 9(5): 734 – 743.
- [12] Liu C M, Jia W, Meng X, Hua Z D. *J. Forensic Sci.*, **2021**, 66: 2156 – 2166.
- [13] Wu N, Danoun S, Balayssac S, Malet – Martino M, Lamoureux C, Gilard V. *Forensic Sci. Int.*, **2021**, 324: 110813 – 110822.
- [14] Holzgrabe U. *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.*, **2010**, 57: 229 – 240.
- [15] Malz F, Jancke H. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2005**, 38: 813 – 823.
- [16] Kasuya E. *Anim. Behav.*, **2010**, 79(3): 765 – 767.

(责任编辑: 盛文彦)