

## 在法医毒理学研究中使用UPLC-MS/MS分析 毛发中的羧基-THC

---

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

本应用简报介绍了一种分析毛发中11-去甲-9-羧基- $\Delta$ 9-四氢大麻酚（羧基-THC）的稳健UPLC-MS/MS方法，该方法能达到国际毛发检测协会(SoHT)建议的确认截止浓度<sup>1,2</sup>。

### 优势

- 所用基质可延长药物检测窗口，并以非侵入性方式收集
- 用于净化萃取物的SPE方案简单有效
- 一种使用UPLC-MS/MS灵敏测定毛发中羧基-THC的稳健方法

---

### 简介

过去十年来，在法医检测中，将毛发作为生物基质的应用越来越广泛。药物进入毛发的机制有很多种，包括：

---

- 在毛囊处的供血过程中被动扩散到正在生长的毛发基质中
- 从汗液或皮脂扩散到毛干中
- 外部污染（如烟雾或被污染的手）

使用毛发作为样本有诸多优势。相较于血液等其他基质，毛发采集起来更简单，不需要由经过医学培训的人员来执行。这种样品采集方式不会被视作侵入性采集，这意味着采集过程可以在监督下完成，可降低样品掺假的可能性。此外，毛发采集完成后，可方便地在室温下运输和储存，以待分析。

然而，毛发的主要优势在于可以延长药物的检测窗口。某些传统基质（例如血液和尿液）中的药物只能在用药后数小时/数天以内检出，而与之相比，毛发中的药物在用药后数月甚至数年内都可以检出。已知毛发以每月约1 cm的速率生长，因此根据SoHT的建议，从头的后顶部采集的典型毛发样品足以作为累积样本，帮助我们深入了解采样对象近几个月来的药物使用情况。

大麻是世界上使用最广泛的药物物质，因此大麻素是检出率最高的一类药物，这类药物的分析在法医药物检测中至关重要。尽管 $\Delta$ -9-四氢大麻酚(THC)是大麻中的主要精神活性成分，并且可以在吸食者的毛发中检出，但毛发的THC鉴定结果呈阳性也可能归因于被动烟雾暴露，仅凭这一个结果并不能明确证明受测对象吸食了大麻。因此，SoHT建议通过测定羧基-THC这种代谢物来确认毛发的THC阳性鉴定结果。然而，分析羧基-THC的难度相当大，其浓度通常低至pg/mg水平，而且可获取的样品往往有限，因此必须采用高灵敏度的分析技术。

---

## 实验

毛发样品由志愿者提供，以单样或混合样品的形式进行分析。M3试剂由Comedical（意大利特伦托，<http://www.comedical.biz/> <<http://www.comedical.biz/>>）提供。羧基-THC和氘代类似物羧基-THC-D3认证参比物质购自Merck（英国多塞特）。

毛发样品依次用二氯甲烷、甲醇和二乙醚净化后，剪成1~2 mm的小段。称取25 mg毛发样品放入带有密封盖的玻璃离心管中，基质校准品中加标浓度在0.2~10 pg/mg范围内的羧基-THC。加入氘代内标（羧基-THC-D3）和0.5 mL M3试剂。将样品置于100 °C下温育60 min，冷却后将全部样品上样至OASIS™ PRiME HLB 30 mg小柱（[P/N: 186008055 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186008055-oasis-prime-hlb-1-cc-vac-cartridge-30-mg-sorbent-per-cartridge-1.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186008055-oasis-prime-hlb-1-cc-vac-cartridge-30-mg-sorbent-per-cartridge-1.html)）。依次使用乙腈/水(1:1 v/v)和己烷清洗样品。用乙腈/甲醇(9:1 v/v)洗脱羧基-THC，挥干溶剂后，使用100  $\mu$ L含0.25%氨水的50%甲醇溶液（5 mL甲醇，4.9 mL去离子水，100  $\mu$ L 25%氨水溶液）复溶样品，涡旋混合，然后转

移到Waters™全回收样品瓶（P/N: 186000385c <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186000385c-lcgc-certified-clear-glass-12-x-32-mm-screw-neck-vial-total-reco.html>>）中。测定毛发中羧基-THC的工作流程如图1所示。

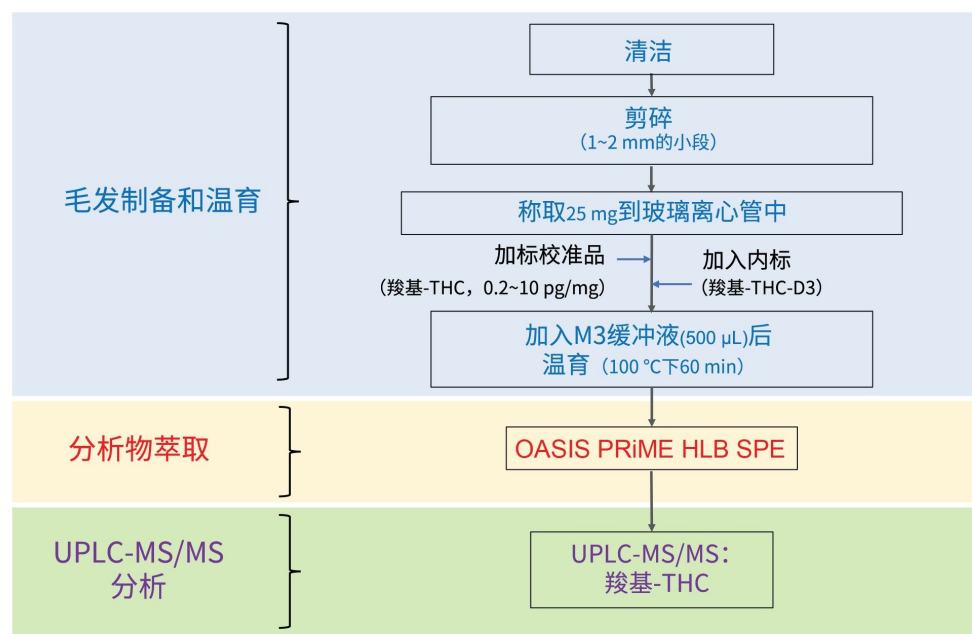


图1.测定毛发中羧基-THC的工作流程

在配备VanGuard™ FIT, 1.7 μm, 2.1 x 150 mm保护柱的ACQUITY™ Premier BEH™ C<sub>18</sub>色谱柱上使用氟化铵(pH 9.5)和甲醇梯度对羧基-THC进行色谱分离。使用Xevo™ TQ Absolute质谱仪监测羧基-THC的两个MRM通道，即  $m/z$  343.1 > 191.0（定量离子）和  $m/z$  343.23 > 245.1（定性离子）。使用通道  $m/z$  346.1 > 248.1监测内标（羧基-THC-D3）。

## 结果与讨论

加标1 pg/mg羧基-THC的毛发样品的定量离子、定性离子和内标的MRM通道色谱图如图2A所示。

图2B是经过平滑处理和积分的定量离子MRM色谱图，比较了分别使用混合毛发样品（来自多名志愿者）和金色毛

发样品（来自同一名志愿者）制备的对照（空白）毛发萃取物与加标SoHT推荐的羧基-THC截止浓度(0.2 pg/mg)的毛发样品。

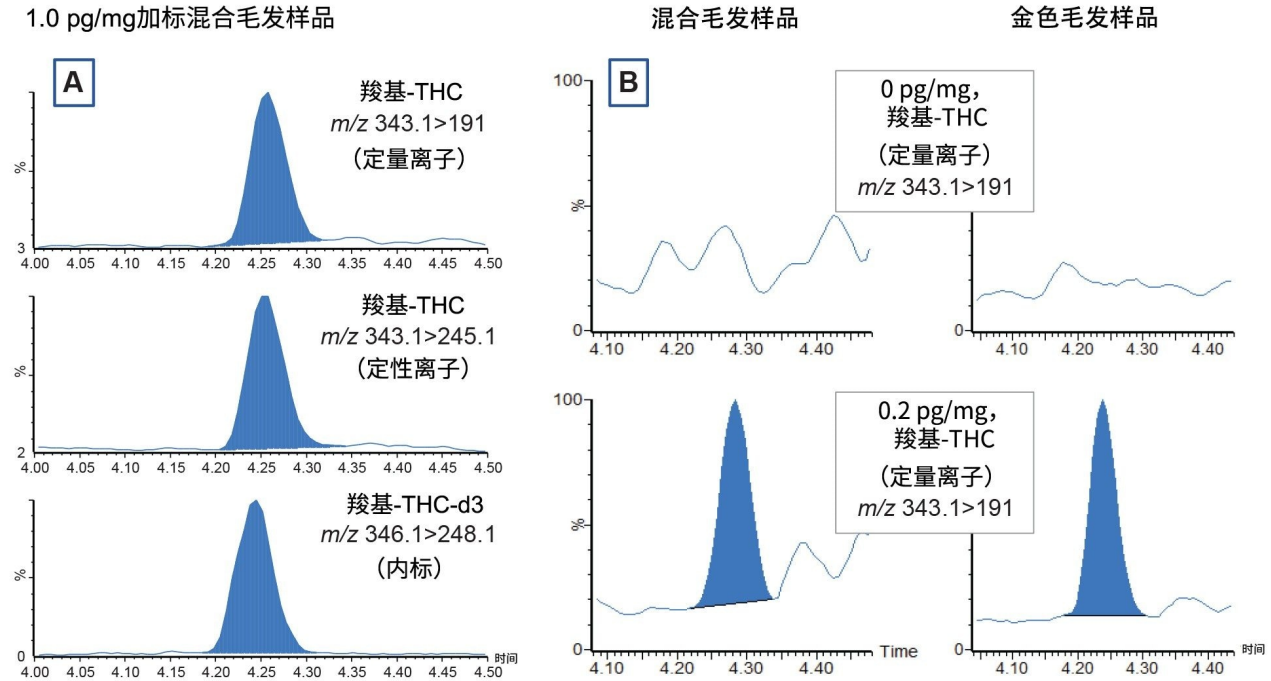


图2.A) 1.0 pg/mg加标混合毛发样品的定量离子（上图）、定性离子（中图）和内标（下图）的积分MRM色谱图。B)MRM色谱图，显示了分别使用混合毛发样品和金色毛发样品制成的对照(0 pg/mg)毛发样品（上方迹线）以及羧基-THC加标(0.2 pg/mg)毛发样品（下方迹线）的定量离子MRM通道。

图3显示了使用混合毛发样品和金色毛发样品制备的0.2 pg/mg羧基-THC加标毛发样品的定量MRM通道信噪比（峰到峰；PtP）计算值。

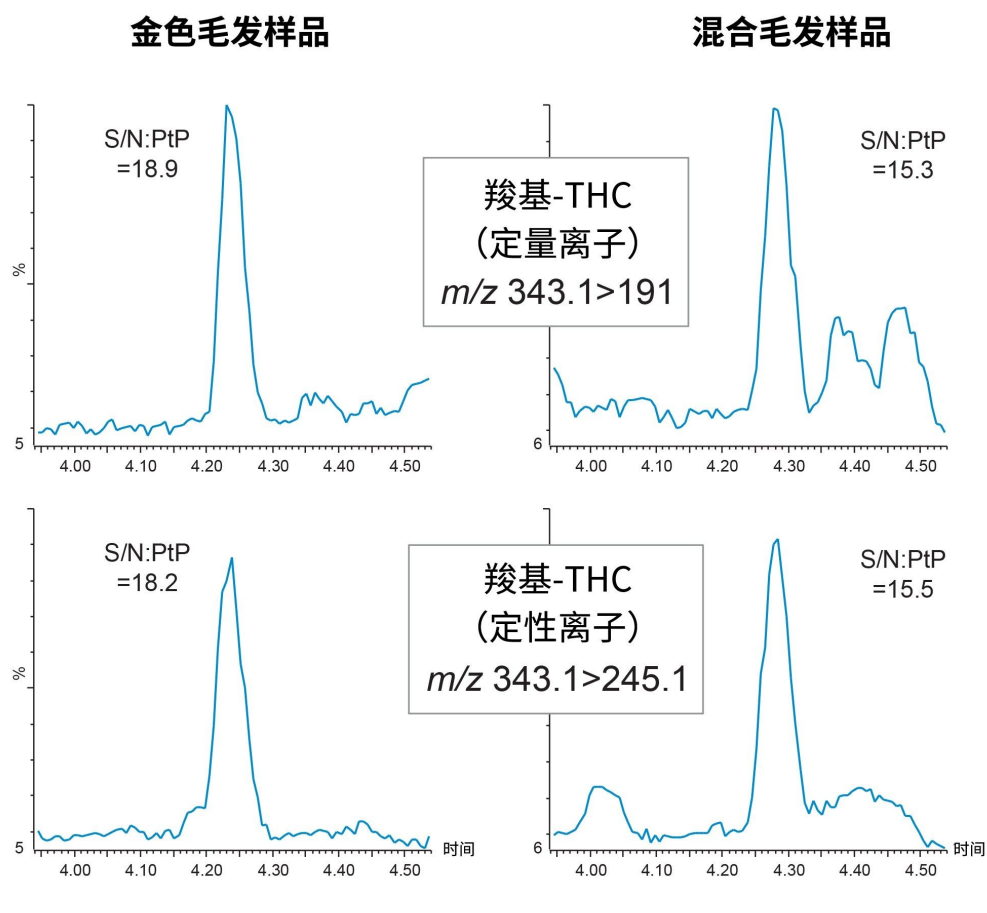


图3.未经平滑处理的原始色谱图，显示了0.2  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 加标毛发样品（金色毛发和混合毛发）定量离子（上方迹线）和定性离子（下方迹线）的MRM通道的信噪比计算值。

分3个单独的批次研究分析方法在0.2~10  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 范围内的线性。所有批次的决定系数( $R^2$ )均大于0.99，所有测定浓度相比预期值的偏差都在15%以内，但浓度最低的校准品除外（偏差在20%以内）。

我们对混合毛发样品进行了5次萃取分析，考察了该方法的稳健性。毛发样品分析的平均精密密度为1.8% RSD（相对标准差%），不同毛发样品间观察到的总精密密度为8.4% RSD，如图4所示。

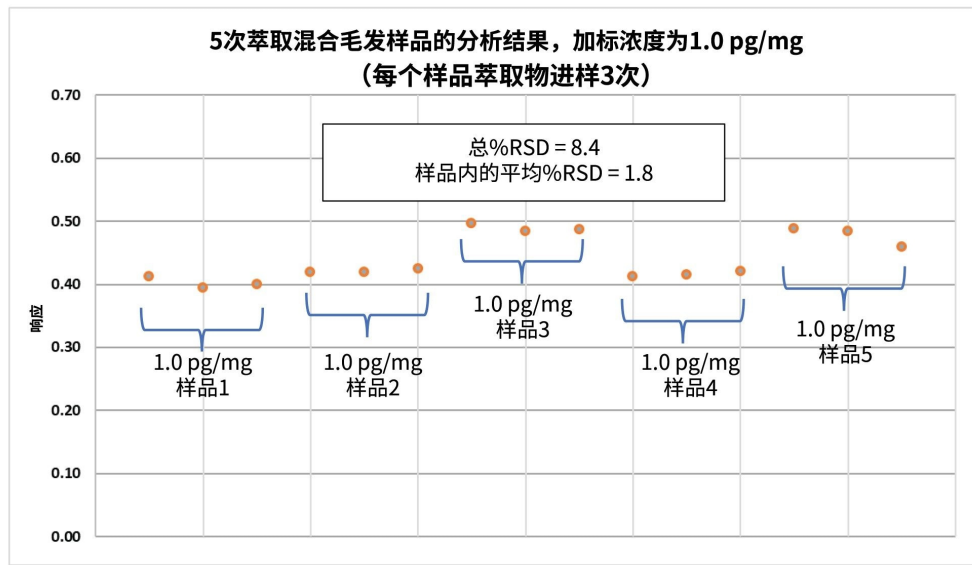


图4. 加标混合毛发样品中羧基-THC分析的稳健性数据

为了评估是否存在前一个样品转移/污染造成的潜在残留，我们先进样5 pg/mg的加标毛发校准品，然后进样了空白样（进样溶剂）。如图5所示，未检出残留。

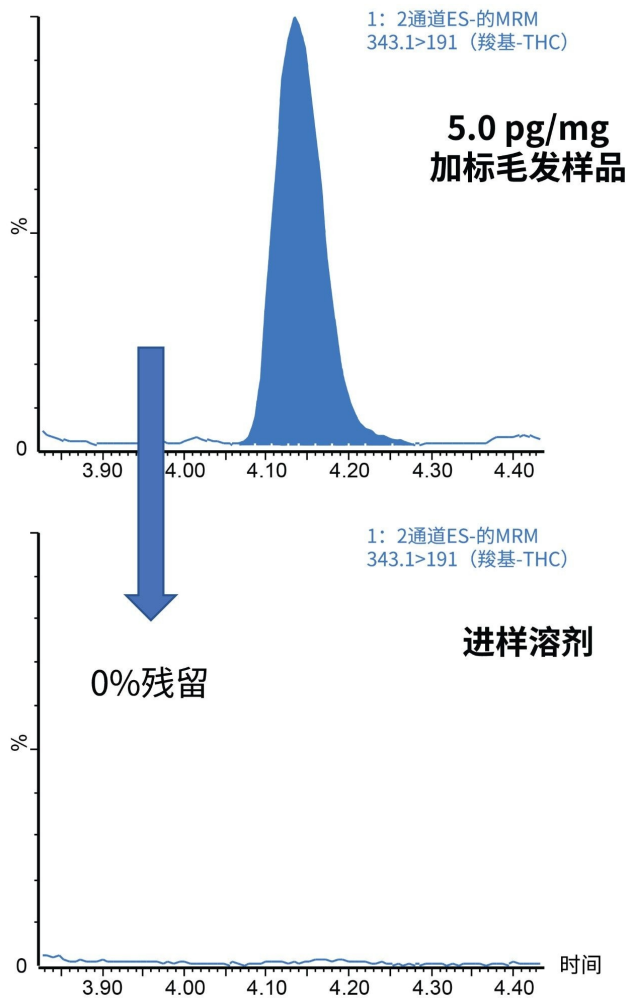


图5.先进样5 pg/mg的加标毛发标准品，然后进样空白样（进样溶剂），评估羧基-THC残留。

由于毛发是一种复杂基质，我们在样品前处理过程中加入了同位素标记的内标(羧基-THC-D3)，以补偿回收率和基质效应。基质效应可通过基质因子(MF)来衡量，方法是比较羧基-THC溶剂标准品(0.05 ng/mL)与等效基质标准品(0.2 pg/mg, n=5)的峰面积响应，不使用内标时，MF=64%；使用内标时，MF=100%。这些结果表明，该方法表现出36%的离子抑制，但这种抑制通过添加内标得到了很好的补偿。

---

## 结论

法医毒理学检测需要快速、准确、可靠且稳健的方法来定量各种生物基质中的化合物，这对于可靠地检测和报告结果至关重要。以毛发作为生物基质，可以在监督之下通过较为简单的非侵入性方式采集样品，用于检测此类方案通常要检测的相关化合物。

本研究证明，ACQUITY UPLC I-Class PLUS/Xevo TQ-Absolute系统检测毛发中的羧基-THC可达到亚pg/mg水平(0.2 pg/mg)的灵敏度，达到SoHT推荐的截止浓度。

---

## 参考资料

1. G.A.A. Cooper, R. Kronstrand, P. Kintz. Society of Hair Testing Guidelines for Drug Testing in Hair. *Forensic Science International* 281 (2012) 20–24.
2. Statements of the Society of Hair Testing Concerning the Examination of Drugs in Human Hair [cited 14th Aug 2023]. Available from: <https://www.soht.org/statements> <<https://www.soht.org/statements>>

---

## 特色产品

Xevo TQ Absolute三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry-systems/xevo-tq-absolute.html>>

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

720008011ZH, 2023年10月





© 2024 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](#)