

# 发现已知，鉴定未知 —— QTRAP复合扫描模式——针定性定量芬太尼类似物

## Identification and Quantitation of Fentanyl and Analogues in One Injection by SCIEX QTRAP®

刘冰洁, 张崇, 程海燕, 李立军, 郭立海

Liu Bingjie, Cheng Haiyan, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX 亚太应用支持中心, 上海

SCIEX China, Beijing

**Key words:** QTRAP®; 4500; Amphetamines; Fentanyl and its derivatives, EPI; MRM-IDA-EPI; Precursor-IDA-EPI; Neutral loss -IDA-EPI

### 1 引言

众所周知, 近期芬太尼类药物引起了社会的广泛关注。作为临床上麻醉和疼痛治疗的良药, 为何要进行监管? 原因在于该类化合物属于阿片类, 药理作用与大家熟知的吗啡类似, 滥用会导致上瘾。

目前市面上流行的芬太尼类化合物种类多且繁杂, 大部分类似物是以芬太尼结构为基础进行修饰得到, 为了逃避监管, 不断“推陈出新”。有些新型结构衍生物缺乏文献报道且没有标准品。如何快速准确的进行检测是面临的首要问题。针对这种情况, 本实验应用 QTRAP® 质谱独有的 MRM-IDA-EPI, Precursor Ion-IDA-EPI 和 Neutral loss-IDA-EPI 复合扫描方式建立了对芬太尼类似物进行快速筛查、鉴定和定量的方法。

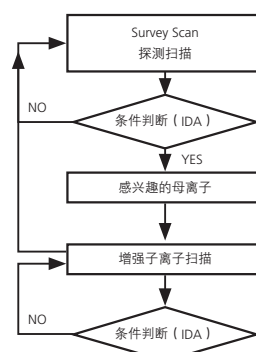
SCIEX QTRAP® 质谱系统是将行业标准的三重四极杆质谱技术与专利的线性加速离子阱技术相结合。不仅具有三重四极杆质谱的全部功能, 离子阱技术更能提供超快的扫描速度, 以及高于四极杆质谱两个数量级以上的二级碎片全扫描灵敏度。QTRAP® 质谱并不仅是两种质谱技术简单的叠加, 其能够瞬间从三重四极杆模式切换到线性加速离子阱模式, 故可智能化的将这两类质谱的扫描方式相结合, 提供数十种独有的复合扫描模式。其可实现一针进样同时获得不同扫描模式下的数据, 轻松解决其它类型质谱无法解决的难题。

### 2 实验方案

#### 2.1 本实验应用SCIEX QTRAP®质谱系统独有的MRM-IDA-

EPI 扫描模式——针完成目标未知物的筛查定性和定量分析。

2.2 应用Precursor Ion-IDA-EPI和Neutral loss-IDA-EPI的扫描模式快速发现和鉴定非目标未知物, 即缺乏标准品的新型结构衍生物(见图1)。



步骤1 探测扫描(可有多种方式, 如 MRM、中性丢失(NL)、母离子(Precursor)扫描等);

步骤2 系统自动判断: 探测扫描采集到离子信号是否符合 IDA 的各项限定条件

步骤3 当步骤2的条件满足时, 系统自动快速切换(<1ms)为线性离子阱模式, 进行增强子离子扫描(EPI), 获得高质量 MS2 谱图;

图1. Precursor Ion-IDA-EPI; MRM-IDA-EPI; Neutral loss -IDA-EPI扫描模式。

### 3 实验方法特点

#### 3.1 检测方法简单高效

本实验建立了一针 13 min 的 24 种芬太尼类似物的同时定性和定量方法。在此条件下同分异构体丁酰芬太尼(Butyrylfentanyl), 异丁酰芬太尼(Isobutyrylfentanyl)、阿法甲基芬太尼(Alphamethylfentanyl)、3-甲基芬太尼分子式(3-Methylfentanyl)可被很好的分离(见图2)。

#### 3.2 强大的定性功能

QTRAP® 独有的 EPI 模式, 即增强型离子扫描模式, 可得到

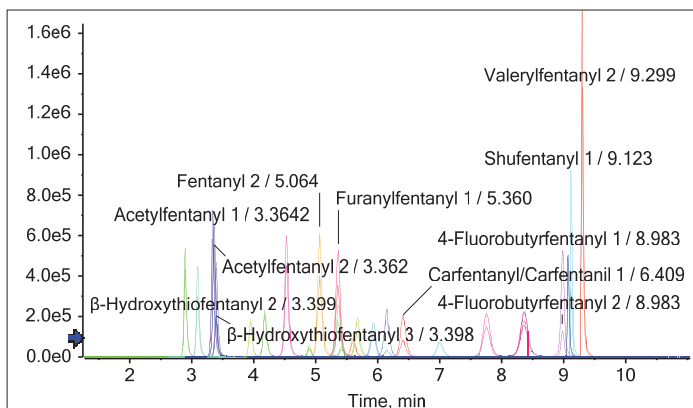


图2. 24种芬太尼衍生物MRM提取离子流色谱图。

灵敏度更高（与三重四极杆相比可提高两个数量级以上），且不同能量碎裂的全质量范围的二级碎片谱。软件通过与标准品谱库的自动比对，使定性结果更准确。

### 3.3 强大的定量功能：

QTRAP® 具有与三重四极杆质谱完全一致的定量性能。提供 pg 级的灵敏度，以及出色的仪器重现性和稳定性，保证定量准确。

### 3.4 目标物定量与定性一针完成：

QTRAP® 独有的 MRM-IDA-EPI 复合扫描模式一针进样同时获得 MRM 定量数据以及高灵敏度的二级碎片全谱数据（EPI）。实现同时进行目标未知物的定性和定量分析。

### 3.5 非目标化合物快速发现和鉴定：

应用 QTRAP® 独有的 Precursor Ion (Neutral loss)-IDA-EPI 和复合扫描模式，一针进样，同时进行母离子扫描（中性丢失扫描）和 EPI 扫描。通过母离子扫描或中性丢失扫描可迅速发现样本中可疑的新型芬太尼衍生物，并自动触发高灵敏度的二级碎裂（EPI）。OS 软件可自动应用二级谱图进行结构解析，从而快速完成新型芬太尼衍生物发现和鉴定。

## 4 仪器设备

液质系统：SCIEX ExionLC™ 液相 + QTRAP® 4500 质谱系统

## 5 实验方法

### 5.1 液相方法：

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (100 × 2.1 mm, 2.6 μm)

流速：0.4 mL/min；



SCIEX ExionLC™ AC + QTRAP® 4500 质谱系统

柱温：40 °C；

进样量：5 μL；

洗脱程序：梯度洗脱 13 min；

### 5.2 质谱方法：

扫描方式：MRM-IDA-EPI; Precursor Ion-IDA-EPI

离子源：ESI+ 源

CDS 自动校正

IS 电压：5500 V (+)

源温度 TEM: 700 °C

气帘气 CUR: 25 psi

碰撞气 CAD: 7

雾化气 GS1: 35 psi

辅助气 GS2: 65 psi

EPI 碰撞能量 CE: 35 ± 15 V；

### 5.3 样品前处理

样品充分研磨混匀，称取约 1 mg，加入 10 mL 甲醇，涡旋振荡，离心后取上清液，甲醇稀释后进行 LC-MS/MS 分析。

## 6 结果与讨论

### 6.1 MRM-IDA-EPI数据进行目标化合物定性分析

SCIEX OS 软件可自动根据化合物的保留时间和二级碎片谱（EPI），与谱库进行匹配从而快速准确的进行目标化合物筛查和定性。

结果显示，在某份样本中阳性检出戊酰芬太尼，其保留时间和二级碎片谱图均为绿色对勾，说明匹配良好。实测二级谱图与数据库匹配 Purity 得分为 95.3 分，体现 QTRAP® 质谱的 EPI 的独有优势。即便在实际基质样本中的低浓度目标物仍可得到高灵敏

度的二级碎片全谱。样本实测二级全谱与标准品谱库的自动比对，帮助我们更好的排判别假阳性和假阴性，保证定性结果的准确无误（见图3）。

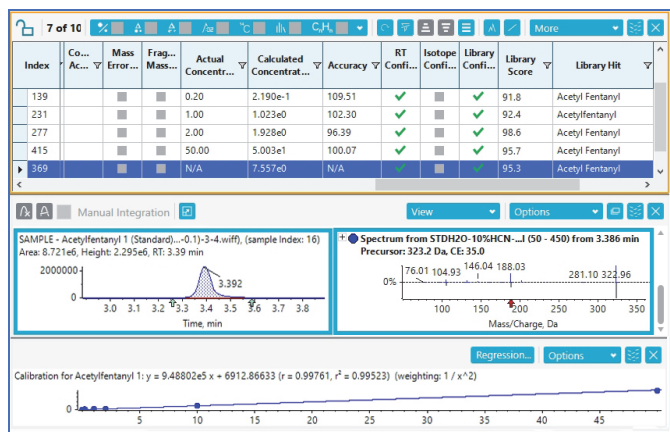


图3. 样本中阳性检出的戊酰芬太尼谱图，很好的二级匹配度。

表1. 24种化合物线性关系。

中文名	英文名	线性方程
乙酰芬太尼	Acetylfentanyl	$y = 9.12953e5 x + 11975.02589$ ( $r = 0.99967, r^2 = 0.99934$ )
$\beta$ -羟基硫代芬太尼	$\beta$ -Hydroxythiofentanyl	$y = 6.65577e5 x + 7261.50446$ ( $r = 0.99572, r^2 = 0.99146$ )
奥芬太尼	Ocfentanyl	$y = 9.87558e5 x + 12784.71259$ ( $r = 0.99509, r^2 = 0.99021$ )
4-氟丁酰芬太尼	4-Fluorobutyrfentanyl	$y = 8.52815e5 x + 14908.13582$ ( $r = 0.99959, r^2 = 0.99918$ )
丁酰芬太尼	Butyrylfentanyl	$y = 1.02041e6 x + -10133.32822$ ( $r = 0.99964, r^2 = 0.99927$ )
丙烯酰芬太尼	Acrylfentanyl	$y = 1.17678e6 x + 4882.38841$ ( $r = 0.99648, r^2 = 0.99298$ )
异丁酰芬太尼	Isobutyrfentanyl	$y = 9.29977e5 x + -23314.18217$ ( $r = 0.99979, r^2 = 0.99959$ )
咪喃芬太尼	Furanylfentanyl	$y = 1.28105e6 x + 3381.61256$ ( $r = 0.99591, r^2 = 0.99184$ )
卡芬太尼	Carfentanyl	$y = 7.12934e5 x + -7627.12924$ ( $r = 0.99844, r^2 = 0.99688$ )
戊酰芬太尼	Valerylfentanyl	$y = 1.36496e6 x + 4.57467e4$ ( $r = 0.99726, r^2 = 0.99452$ )
3-甲基硫代芬太尼	3-Methylthiofentanyl	$y = 2.46157e5 x + -2660.06559$ ( $r = 0.99794, r^2 = 0.99588$ )
芬太尼	Fentanyl	$y = 1.04752e6 x + 3384.20206$ ( $r = 0.99722, r^2 = 0.99445$ )
倍他羟基芬太尼	Beta-hydroxyfentanyl	$y = 3.91167e5 x + -1121.29853$ ( $r = 0.99639, r^2 = 0.99280$ )
阿法甲基芬太尼	Alpha-methylfentanyl	$y = 5.90227e5 x + -6046.95700$ ( $r = 0.99846, r^2 = 0.99692$ )
倍他羟基-3-甲基芬太尼	Beta-hydroxy-3-methylfentanyl	$y = 1.49666e5 x + -1650.38141$ ( $r = 0.99843, r^2 = 0.99687$ )
硫代芬太尼	Thiofentanyl	$y = 5.29755e5 x + -4263.57042$ ( $r = 0.99878, r^2 = 0.99756$ )
瑞芬太尼	Remifentanyl	$y = 4.26922e5 x + 702.92588$ ( $r = 0.99870, r^2 = 0.99740$ )
对氟芬太尼	Para-fluorofentanyl	$y = 7.22671e5 x + -2513.92591$ ( $r = 0.99976, r^2 = 0.99951$ )
-	Methoxyacetylfentanyl	$y = 7.19958e5 x + 628.65617$ ( $r = 0.99790, r^2 = 0.99581$ )
3-甲基芬太尼	3-Methylfentanyl	$y = 2.73103e5 x + -2208.42462$ ( $r = 0.99053, r^2 = 0.98115$ )
舒芬太尼	Sufentanyl	$y = 6.60276e5 x + 3.69631e4$ ( $r = 0.99693, r^2 = 0.99386$ )
阿芬太尼	Alfentanyl	$y = 6.01666e5 x + -2830.85313$ ( $r = 0.99915, r^2 = 0.99831$ )
苯基芬太尼	Phenyl Fentanyl	$y = 7.937185e5 x + 9052.62765$ ( $r = 0.99966, r^2 = 0.99933$ )
-	Cyclopropyl Fentanyl	$y = 2.93497e5 x + 523.38939$ ( $r = 0.99914, r^2 = 0.99829$ )

## 6.2 MRM-IDA-EPI数据同时进行目标化合物定量分析

MRM-IDA-EPI数据不仅可以对目标物进行批量筛查定性分析，SCIEX OS 软件还可在同一界面同时进行定量分析。

### 6.2.1. 线性关系：

配置各物质在 0.02 – 50 ng/mL 的标准品溶液，结果表明，线性关系良好，r 值均大于 0.995，（见表 1），且各浓度点准确度均在 80-120% 间，可保证不同浓度水平样品的准确定量，以阿芬太尼为例（见图 4）。

### 6.2.2. 重现性：

配置低浓度约为 0.1、1、10 ng/mL 的 QC 样本，每个浓度五份，计算重现性，RSD 结果如表 2 所示。



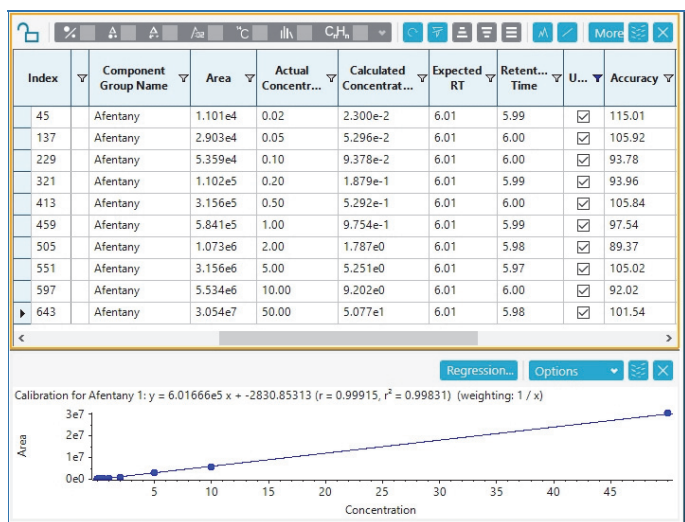


图4. 阿芬太尼的线性关系和准确度。

### 6.3 Precursor Ion-IDA-EPI和Neutral loss -IDA-EPI 数据同时进行目标化合物定量分析

应用 QTRAP® 对市面常见的芬太尼类似物进行增强子离子扫描 (EPI), 得到各个化合物低中高不同能量碰撞后叠加的高质量二级碎片谱。因芬太尼类似物的结构往往具有相似的官能团, 故可产生共同的二级碎片或者丢失共同的碎片。

表2. 24种化合物重现性。

中文名	英文名	浓度 (ng/mL)	样本数	RSD (%)
乙酰芬太尼	Acetylfentanyl	0.1	6	1.98
β-羟基硫代芬太尼	β-Hydroxythiofentanyl	0.1	6	1.98
奥芬太尼	Ocfentanyl	0.1	6	1.60
4-氟丁酰芬太尼	4-Fluorobutyrfentanyl	0.1	6	0.61
丁酰芬太尼	Butyrylfentanyl	0.1	6	1.44
丙烯酰芬太尼	Acrylfentanyl	0.1	6	1.40
异丁酰芬太尼	Isobutyrfentanyl	0.1	6	1.42
呋喃芬太尼	Furanylfentanyl	0.1	6	2.19
卡芬太尼	Carfentanyl/Carfentanil	0.1	6	1.90
戊酰芬太尼	Valerylfentanyl	0.1	6	1.19
3-甲基硫代芬太尼	3-Methylthiofentanyl	0.1	6	2.37
芬太尼	Fentanyl	0.1	6	1.55
倍他羟基芬太尼	Beta-Hydroxyfentanyl	0.1	6	1.06
阿法甲基芬太尼	Alpha-Methylfentanyl	0.1	6	1.32
倍他羟基-3-甲基芬太尼	Beta-Hydroxy-3-Methylfentanyl	0.1	6	1.73
硫代芬太尼	Thiofentanyl	0.1	6	1.11
瑞芬太尼	Remifentanil	0.1	6	1.77
对氟芬太尼	Para-Fluorofentanyl	0.1	6	1.11
	Methoxyacetylfentanyl	0.1	6	1.43
3-甲基芬太尼	3-Methylfentanyl	0.1	6	1.64
舒芬太尼	Shufentanyl	0.1	6	1.57
阿芬太尼	Afentany	0.1	6	2.10
苯基芬太尼	Phenyl Fentanyl	0.1	6	1.29
-	Cyclopropyl Fentanyl	0.1	6	1.50

如表 3 中所示, 编号为 1-11 号化合物均可丢失  $M/Z$  为 149 的碎片 (以  $\beta$ -羟基硫代芬太尼为例, 说明裂解规律见图 5), 因此对于这类化合物可以进行以 149 为中性丢失的前体离子扫描并自动触发 EPI 扫描 (Neutral loss -IDA-EPI), 从而一针进样即可快速发现样本中具有 149 中性特征丢失的母离子, 还可同时获得它的增强型二级碎片全谱, 以便进行结构推测。

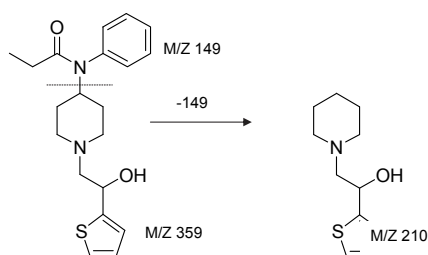


图5.  $\beta$ -羟基硫代芬太尼中性丢失149。

而 12-24 号化合物均可产生 188 和 105 的二级碎片离子, (以乙酰芬太尼为例说明裂解规律见图 6)。对于这类化合物采用 Precursor Ion-IDA-EPI 模式, 即对能够产生 188 或 105 特征子离子的母离子扫描并自动触发 EPI (Precursor Ion-IDA-EPI), 以此快速发现可产生 188 或 105 碎片的母离子并同时获得它的增强型二级碎片全谱。

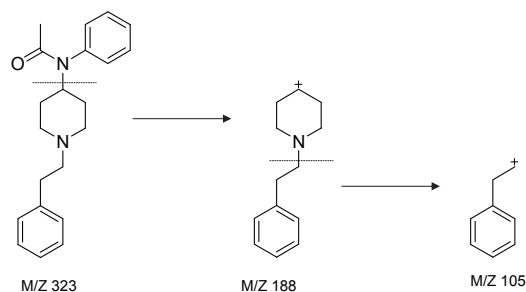


图6. 乙酰芬太尼产生188和105的特征碎片。

表3. 24种芬太尼化合物裂解规律。

编号	中文名	英文名	分子式	$[M+H]^+$	特征子离子	特征中性丢失	扫描模式
1	$\beta$ -羟基硫代芬太尼	$\beta$ -Hydroxythiofentanyl	$C_{20}H_{26}N_2O_2S$	359.17878	210	-149	NL -IDA-EPI
2	卡芬太尼	Carfentanyl/Carfentanil	$C_{24}H_{30}N_2O_3$	395.23292	246/105	-149	NL -IDA-EPI
3	3-甲基硫代芬太尼	3-Methylthiofentanyl	$C_{21}H_{28}N_2OS$	357.19951	208/111	-149	NL -IDA-EPI
4	倍他羟基芬太尼	Beta-Hydroxyfentanyl	$C_{22}H_{28}N_2O_2$	353.22235	204	-149	NL -IDA-EPI
5	阿法甲基芬太尼	Alpha-Methylfentanyl	$C_{23}H_{30}N_2O$	351.24309	202	-149	NL -IDA-EPI
6	倍他羟基-3-甲基芬太尼	Beta-Hydroxy-3-Methylfentanyl	$C_{23}H_{30}N_2O_2$	367.238	218	-149	NL -IDA-EPI
7	硫代芬太尼	Thiofentanyl	$C_{20}H_{26}N_2OS$	343.18386	194/111	-149	NL -IDA-EPI
8	瑞芬太尼	Remifentanyl	$C_{20}H_{28}N_2O_5$	377.2071	228	-149	NL -IDA-EPI
9	3-甲基芬太尼	3-Methylfentanyl	$C_{23}H_{30}N_2O$	351.24309	202/105	-149	NL -IDA-EPI
10	舒芬太尼	Sufentanyl	$C_{22}H_{30}N_2O_2S$	387.21008	238/111	-149	NL -IDA-EPI
11	阿芬太尼	Alfentanyl	$C_{21}H_{32}N_6O_3$	417.26087	268	-149	NL -IDA-EPI
12	乙酰芬太尼	Acetylfentanyl	$C_{21}H_{26}N_2O$	323.21179	188/105	-	PI-IDA-EPI
13	奥芬太尼	Ocfentanyl	$C_{22}H_{27}FN_2O_2$	371.21293	188/105	-	PI-IDA-EPI
14	4-氟丁酰芬太尼	4-Fluorobutyrfentanyl	$C_{23}H_{29}FN_2O$	369.23367	188/105	-	PI-IDA-EPI
15	丁酰芬太尼	Butyrylfentanyl	$C_{23}H_{30}N_2O$	351.24309	188/105	-	PI-IDA-EPI
16	丙烯酰芬太尼	Acrylfentanyl	$C_{22}H_{26}N_2O$	335.21179	188/105	-	PI-IDA-EPI
17	异丁酰芬太尼	Isobutyrfentanyl	$C_{23}H_{30}N_2O$	351.24309	188/105	-	PI-IDA-EPI
18	呋喃芬太尼	Furanylfentanyl	$C_{24}H_{26}N_2O_2$	375.2067	188/105	-	PI-IDA-EPI
19	戊酰芬太尼	Valerylfentanyl	$C_{24}H_{32}N_2O$	365.25874	188/105	-	PI-IDA-EPI
20	芬太尼	Fentanyl	$C_{22}H_{28}N_2O$	337.22744	188/105	-	PI-IDA-EPI
21	对氟芬太尼	Para-Fluorofentanyl	$C_{22}H_{27}FN_2O$	355.21802	188/105	-	PI-IDA-EPI
22	-	Methoxyacetylfentanyl	$C_{22}H_{28}N_2O_2$	417.26087	188/105	-	PI-IDA-EPI
23	苯基芬太尼	Phenyl Fentanyl	$C_{26}H_{28}N_2O$	385.22744	188/105	-	PI-IDA-EPI
24	-	Cyclopropyl Fentanyl	$C_{23}H_{28}N_2O$	349.22744	188/105	-	PI-IDA-EPI

以上实验思路也可运用到具有其它结构母核的化合物中,从而帮助我们在缺乏标准品的情况下快速发现和鉴定新型芬太尼衍生物。

在本实验中,应用 Precursor Ion-IDA-EPI 对某份未知样品进行扫描,得到数据谱如图 7 所示,由谱图可知,该样本在 6.33 分钟有色谱峰 (A),该物质一级质荷比为 395 (C),其同时被触发了增强子离子扫描,二级碎片全谱可进一步用于结构解析 (D)。

应用 SCIEX OS 的自动结构解析功能,帮助快速分析可能结构。结果表明预测的结构与未知物的实测二级谱具有 90% 以上的匹配率 (见 8),说明推测结构的可信度。应用这种方式可鉴定得到该化合物为卡芬太尼 (Carfentanyl)。该鉴定思路可应用到芬太尼类各种新型毒品的发现和鉴定实验中。

## 7 总结

QTRAP® 质谱独有的三重四极杆模式与离子阱模式小于 1 ms 的快速切换功能,允许其实现其它类型质谱无法实现的复合扫描功能。无论在日常检测还是研究工作中都可起到事半功倍的作用。

本实验中采用 MRM-IDA-EPI 模式,一针进样同时完成 24 种目标化合物的筛查定性和定量工作,简单高效。

本实验中采用 Precursor Ion-IDA-EPI 和 Neutral loss -IDA-EPI 模式,实现一针进样即可发现特征母离子,并同时得到其二级质谱图。结合 OS 软件的自动结构解析功能,帮助我们在缺乏标准品的情况下快速的完成未知化合物的筛查和鉴定工作。

QTRAP® 质谱的 EPI 扫描功能不仅具有高于四极杆两个数量级以上的二级全谱扫描灵敏度,同时可采集到不同碰撞能下的二级碎片的叠加谱图,为未知芬太尼衍生物的结构鉴定提供依据。

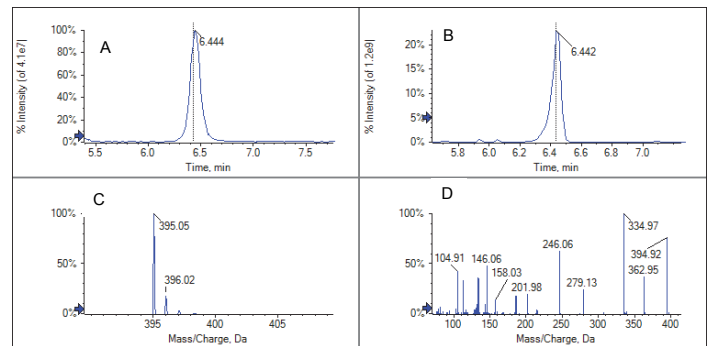


图7. A中性丢失扫描总离子流色谱图 B增强子离子扫描 (EPI) 总离子流色谱图 C 6.44分钟出峰的化合物的一级质谱图 D 化合物的二级质谱图。

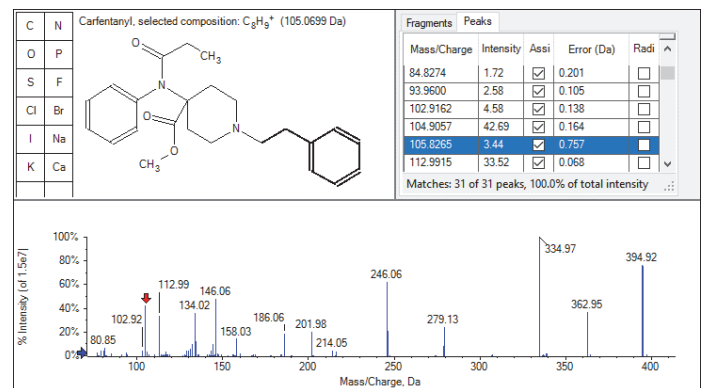


图8. OS软件自动进行结构解析。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2019. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8958-ZH-A



### SCIEX中国公司

北京分公司  
地址: 北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808 1388  
传真: 010-5808 1390  
全国免费垂询电话: 800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心  
地址: 上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419 7200  
传真: 021-2419 7333  
网址: www.sciex.com.cn

广州分公司  
地址: 广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510 0200  
传真: 020-3876 0835  
微博: @SCIEX