

芬太尼类物质制毒原料NPP与4-ANPP的定性检验

钱振华, 李彭

(公安部物证鉴定中心, 北京 100038)

摘要: **目的** 建立芬太尼类物质制毒原料N-苯乙基-4-哌啶酮(NPP)和4-苯胺基-N-苯乙基哌啶(4-ANPP)的气相色谱-质谱(GC-MS)和超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)定性检验方法。

方法 采用GC-MS和UPLC-Q-TOF MS进行分析。**结果** GC-MS方法通过程序升温对NPP和4-ANPP进行分离分析, NPP的保留时间为8.49min, 以特征碎片离子 m/z 112、84、42进行定性分析; 4-ANPP的保留时间为12.70min, 以特征碎片离子 m/z 146、189、44、96、105进行定性分析。UPLC-Q-TOF MS方法通过梯度洗脱对NPP和4-ANPP进行分离分析, NPP的保留时间为1.633min, 准分子离子峰为 m/z 204.1382, 碰撞诱导解离(CID)模式下二级质谱主要离子有 m/z 186.1275、146.0966、134.0965、130.0651、112.0755、105.0701、103.0544、77.0384; 4-ANPP的保留时间为3.702min, 准分子离子峰为 m/z 281.2009, 碰撞诱导解离(CID)模式下二级质谱主要离子有 m/z 188.1435、146.0966、134.0966、105.0701。**结论** 该方法具有操作简便、分析快速的特点, 可应用于司法鉴定实践中NPP和4-ANPP的定性分析。

关键词: 易制毒化学品; NPP; 4-ANPP; 气相色谱-质谱联用(GC-MS); 超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)

中图分类号: DF795.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-3650(2020)01-0040-05

Detection of NPP and 4-ANPP by GC-MS and UPLC-Q-TOF MS

QIAN Zhenhua, LI Peng

(Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China)

ABSTRACT: Objective To establish two methods by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and/or ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) for determining NPP (N-Phenethyl-4-piperidinone) and 4-ANPP (4-anilino-N-phenethylpiperidine), both of the precursor chemicals of fentanyl.

Methods The sample was extracted with methanol and formic acid solution, with the supernatant being subjected to GC-MS and UPLC-Q-TOF MS for analysis. **Results** The separation of NPP or 4-ANPP was carried out by GC-MS with the temperature-programmed handling. The NPP was of retention time at 8.49 min, with its characteristic fragment ions at m/z 112, 84 and 42. The 4-ANPP was of retention time at 12.70 min, with its characteristic fragment ions at m/z 146, 189, 44, 96 and 105. For the UPLC-Q-TOF MS analysis, NPP or 4-ANPP was isolated through the gradient elution. The NPP was of retention time at 1.633 min, with its characteristic fragment ion peaks appearing at m/z 204.1382 ($[M+H]^+$) in the single stage plus the m/z 186.1275, 146.0966, 134.0965, 130.0651, 112.0755, 105.0701, 103.0544, 77.0384 in the tandem (MS/MS) mode. The 4-ANPP was of retention time at 3.702 min, with its characteristic fragment ion peaks showing at m/z 281.2009 ($[M+H]^+$) in the single stage and m/z 188.1435, 146.0966, 134.0966, 105.0701 in the tandem (MS/MS) mode. **Conclusions** The method is simple and rapid, suitable for qualitative analysis of both NPP and 4-ANPP.

KEY WORDS: precursor chemicals; NPP; 4-ANPP; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS)

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2017JB030)

第一作者简介: 钱振华, 女, 河南开封人, 硕士, 副研究员, 研究方向为理化检验。E-mail: sunny1343@126.com

近年来,新精神活性物质迅速蔓延,已成为继传统毒品、合成毒品后全球流行的第三代毒品,其中卡芬太尼等芬太尼类物质制贩滥用情况最为突出。芬太尼类物质是一类人工合成强效麻醉剂,药效很强,其对阿片受体的激动能力超过海洛因,过量使用容易导致死亡。目前,我国及国际社会已对多种芬太尼类物质进行列管。

4-ANPP和NPP是生产芬太尼类物质的关键原料^[1-2]。NPP,英文名称N-Phenethyl-4-piperidinone,中文名称N-苯乙基4-哌啶酮,分子式 $C_{13}H_{17}NO$,CAS号39742-60-4。4-ANPP,英文名称4-anilino-N-phenethylpiperidine,despropionyl fentanyl,中文名称4-苯胺基-N-苯乙基哌啶,分子式 $C_{19}H_{24}N_2$,CAS号21409-26-7。NPP和4-ANPP均为白色或淡黄色粉末。NPP和苯胺反应即可制得4-ANPP,4-ANPP和酰氯或酸酐类等化学品通过简单反应后,即可制成乙酰芬太尼、芬太尼、丁酰芬太尼等芬太尼

类物质(见图1)。1960年Paul Janssen(杨森制药的创始人)首次利用NPP合成了芬太尼^[3]。同时4-ANPP也是乙酰芬太尼、戊酰芬太尼、呋喃芬太尼、丙烯酰芬太尼和芬太尼的代谢产物^[4-8]。2017年3月,第60届联合国麻醉品管制委员会决定将NPP、4-ANPP这两种芬太尼类物质的前体纳入《联合国禁止非法贩运麻醉药品和精神药物公约》管制。2018年1月公安部、商务部、国家卫生计生委、海关总署、国家安全生产监管总局和国家食品药品监管总局等六部门联合发布公告,决定自2018年2月1日起将NPP、4-ANPP列为易制毒化学品管制。

目前国内并无关于NPP和4-ANPP检测方法的报道。本文建立了NPP和4-ANPP气相色谱-质谱联用(GC-MS)和超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)的快速检测方法,同时推测了它们的分子碎裂机理。

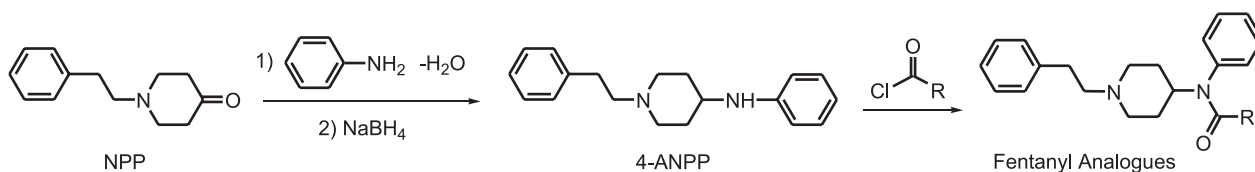


图1 利用NPP或4-ANPP合成芬太尼类物质的流程

Fig.1 The synthesis of fentanyl analogues with NPP and/or 4-ANPP

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

QP-2010 Ultra 气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司);ACQUITY UPLC I-Class 超高效液相色谱仪(美国Waters公司);Q-TOF MS 5600 高分辨四极杆-飞行时间质谱仪(美国AB Sciex公司)。

甲醇(色谱纯,Merck公司),乙腈(色谱纯,Merck公司),甲酸(色谱纯,Sigma-Aldrich公司),纯水由Millipore纯水仪制备。

NPP和4-ANPP对照品(国家毒品实验室,纯度大于98.5%)。

1.2 标准溶液配制

分别称取NPP和4-ANPP对照品各适量,用甲醇溶解,摇匀,配制成1 mg/mL的溶液,再用0.1%甲酸水溶液稀释至1 μ g/mL,离心,取上清液。

1.3 实验条件

1.3.1 GC-MS分析条件

色谱柱:Agilent DB-5MS 石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)。柱温60 $^{\circ}$ C,以20 $^{\circ}$ C/min

升至280 $^{\circ}$ C,保持20 min,再以10 $^{\circ}$ C/min升至300 $^{\circ}$ C,保持10 min;载气为He,流速1 mL/min;分流进样,进样量1 μ L,分流比20:1,溶剂延迟3 min;进样口温度280 $^{\circ}$ C。EI电离模式,能量70 eV,离子源温度230 $^{\circ}$ C,GC/MS接口温度250 $^{\circ}$ C,扫描范围 m/z 35~500。

1.3.2 UPLC-Q-TOF MS分析条件

1) 液相部分

色谱柱:Waters ACQUITY UPLC CSH C18(1.7 μ m, 100 mm \times 2.1 mm),柱温40 $^{\circ}$ C。A相为0.1%甲酸水溶液,B相为乙腈。梯度洗脱程序:0~1.5 min(2% B),1.5~6.5 min(2%~90% B),6.5~9.4 min(90% B),9.4~9.5 min(90%~2% B),9.5~12.0 min(2% B);流速0.4 mL/min,进样量1 μ L。

2) 质谱部分

DuoSpray离子源,ESI+模式,离子源温度600 $^{\circ}$ C,喷雾电压5 500 V,雾化气50 Psi,辅助加热气50 Psi,气帘气30 Psi。TOF全扫描模式,去簇电压80 V,碰撞能量5 V,扫描范围 m/z 100~1 000;二级

碰撞诱导解离 (CID) 模式, 碰撞能量 (35 ± 15) V, 扫描范围 m/z 50~1 000。

2 结果与讨论

2.1 GC-MS结果分析

取NPP和4-ANPP 1 mg/mL的甲醇溶液供GC-MS分析,其总离子流色谱图及质谱图分别见图2和图3。在所设分析条件下,NPP的保留时间为8.49 min,对应质谱碎片主要特征离子峰为: m/z 112(基峰)、84和42。4-ANPP的保留时间为12.70 min,对应质谱碎片主要特征离子峰为: m/z 146(基峰)、189、44、96、105。2014年版的NIST库中均收录了这两种物质。

2.2 UPLC-Q-TOF MS结果分析

取NPP和4-ANPP 1 μg/mL的甲酸水溶液供UPLC-Q-TOF MS分析。在选定的UPLC-Q-TOF MS条件下,NPP和4-ANPP的全扫描总离子流色谱图分别见图4a和图5a,NPP($R_t=1.633$ min)和4-ANPP

($R_t=3.702$ min) 仅需4 min就能完成分析,色谱行为良好。在电喷雾正离子 (ESI+) 模式下,NPP的一级质谱图 (见图4b) 显示其准分子离子峰 ($[M+H]^+$) m/z 为204.138 2,预测分子式为 $C_{13}H_{18}NO^+$ 。除了准分子离子峰外,还出现了 m/z 222.149 0的峰,推测为 $[M+H_2O+H]^+$ 峰,这和分子的性质有关,哌啶酮和水加成反应,生成同碳二醇,但同碳二醇不稳定,反应是可逆的,故在一级质谱图中同时出现了 $[M+H]^+$ 和 $[M+H_2O+H]^+$ 峰。二级质谱图 (见图4c) 中除准分子离子峰外,主要的碎片离子为 m/z 186.127 5、146.096 6、134.096 5、130.065 1、112.075 5、105.070 1、103.054 4、77.038 4。4-ANPP的一级质谱图 (见图5b) 显示其准分子离子峰 ($[M+H]^+$) m/z 为281.2009,预测分子式为 $C_{19}H_{25}N_2^+$ 。二级质谱图 (见图5c) 中除准分子离子峰外,主要的碎片离子为 m/z 188.143 5、146.096 6、134.096 6、105.070 1。

NPP和4-ANPP主要碎片离子信息见表1。

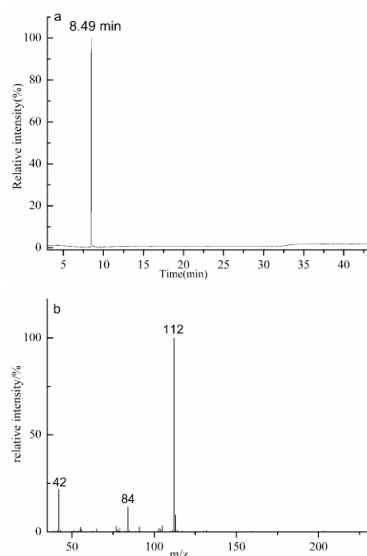


图2 GC-MS分析NPP的总离子流色谱图(a)及质谱图(b)
Fig.2 Total ion chromatogram (TIC) (a) and mass spectra (b) of NPP obtained by gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry (GC-EI-MS)

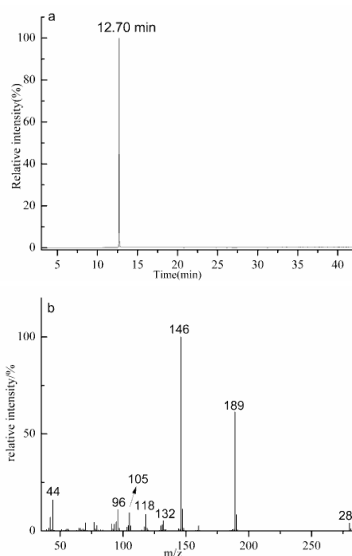


图3 GC-MS分析4-ANPP的总离子流色谱图(a)及质谱图(b)
Fig.3 TIC (a) and mass spectra (b) of 4-ANPP obtained by gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry (GC-EI-MS)

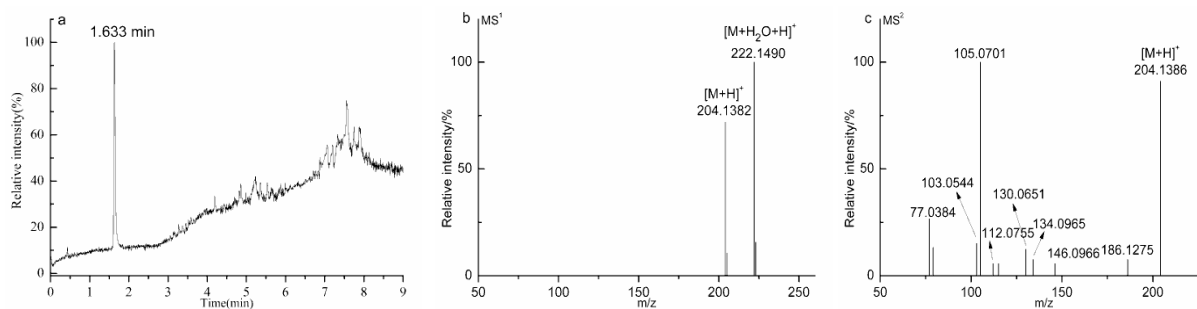


图4 UPLC-Q-TOF MS分析NPP的总离子流色谱图(a)及一级(b)和二级(c)质谱图
Fig.4 TIC (a) and mass spectra of NPP obtained by ESI-Q-TOF-MS in the MS1 (b) and MS2 (c) mode

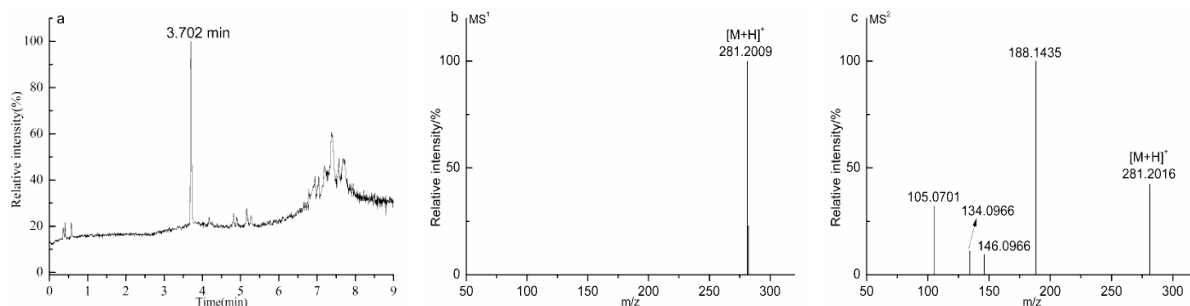


图5 UPLC-Q-TOF MS分析4-ANPP的总离子流色谱图(a)及一级(b)和二级(c)质谱图

Fig.5 TIC (a) and mass spectra of 4-ANPP obtained by ESI-Q-TOF-MS in the MS1 (b) and MS2 (c) mode

表1 ESI-CID模式下NPP和4-ANPP碎裂生成离子一览表

Table 1 Chemical formulae, exact and accurate mass m/z values, and differences between exact and accurate masses (ppm) for the protonated molecules and product ions obtained from NPP and 4-ANPP by ESI-QTOF-MS

化合物 Compound	化学结构 Chemical formula	理论质量数 Exact Mass	实际质量数 Accurate Mass	误差 Error /ppm
NPP	$C_{13}H_{18}NO^+$	204.138 3	204.138 2	-0.49
	$C_{13}H_{16}N^+$	186.127 7	186.127 5	-1.07
	$C_{10}H_{12}N^+$	146.096 4	146.096 6	1.37
	$C_9H_{12}N^+$	134.096 4	134.096 5	0.75
	$C_9H_8N^+$	130.065 1	130.065 1	0
	$C_6H_{10}NO^+$	112.075 7	112.075 5	-1.78
	$C_8H_9^+$	105.069 9	105.070 1	1.90
	$C_8H_7^+$	103.054 2	103.054 4	1.94
4-ANPP	$C_6H_5^+$	77.038 6	77.038 4	-2.60
	$C_{19}H_{25}N_2^+$	281.201 2	281.200 9	-1.07
	$C_{13}H_{18}N^+$	188.143 4	188.143 5	0.53
	$C_{10}H_{12}N^+$	146.096 4	146.096 6	1.37
	$C_9H_{12}N^+$	134.096 4	134.096 6	1.49
	$C_8H_9^+$	105.069 9	105.070 1	1.90

2.3 碎裂机理推测

在EI离子源作用下,NPP的碎裂较为简单,分子离子峰未出现,连接苯环和哌啶环的C-C键发生断裂,失去一个卓鎊离子,得到离子 m/z 112,碎片 m/z 84为哌啶环。4-ANPP在EI离子源作用下失去一个电子得到分子离子峰碎片 m/z 280。连接苯环和哌啶环的C-C键发生断裂,失去一个卓鎊离子,得到离子 m/z 189。苯乙基与哌啶环间的C-N键发生断裂,得到苯乙基离子 m/z 105。哌啶环中不同位置的断裂得到其他碎片离子,1-2位的N-C键和5-6位的C-C键发生断裂,进一步重排形成一个四元环,得到离子 m/z 146;1-2位的N-C键和4-5位的C-C键发生断裂,得到离子 m/z 132;2-3位和4-5位的C-C键发生断裂,得到离子 m/z 118。推测的碎裂途径见图6。

在电喷雾正离子模式下,NPP和4-ANPP推测的碎裂途径见图7。

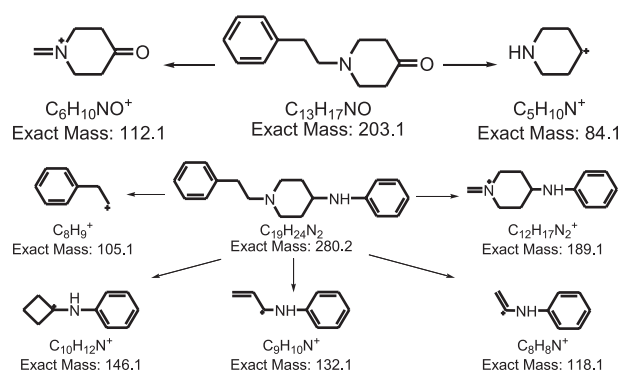


图6 EI模式下NPP和4-ANPP碎裂途径推测

Fig.6 The proposed EI fragmentation pathways of product ions from NPP and 4-ANPP

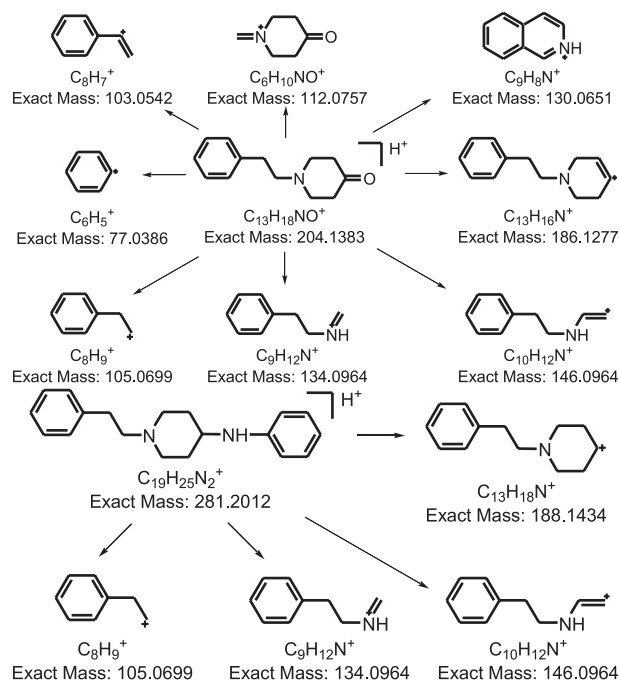


图7 CID模式下NPP和4-ANPP碎裂途径推测

Fig.7 The proposed ESI-CID fragmentation pathways of product ions from NPP and 4-ANPP

对于NPP,哌啶酮部分脱去一个 H_2O ,得到离

子 m/z 186.127 7。哌啶环中 N-C 键和 C-C 键的断裂, 分别得到离子 m/z 146.096 4 和 m/z 134.096 4, 同时还可能发生重排, 形成六元环的共轭结构, 得到离子 m/z 130.065 1。连接苯环和哌啶环的 C-C 键发生断裂, 失去一个卓鎊离子, 得到离子 m/z 112.075 7。离子 m/z 105.069 9 和 m/z 77.038 6 分别为苯乙基和苯基碎片。4-ANPP 的碎裂相对简单, 哌啶环与苯胺基间的 C-N 键发生断裂, 得到离子 m/z 188.143 4; 苯乙基与哌啶环间的 C-N 键发生断裂, 得到离子 m/z 105.069 9; 哌啶环中 N-C 键和 C-C 键的断裂, 得到离子 m/z 146.096 4 和 m/z 134.096 4。

3 结论

本文建立了芬太尼类物质制毒原料 NPP 和 4-ANPP 的 GC-MS 和 UPLC-Q-TOF MS 两种质谱联用技术定性检验方法, 同时对它们的碎裂机理进行了探讨。该分析方法操作简便, 分析快速, GC-MS 方法需要 13 min, UPLC-Q-TOF MS 方法仅需要 4 min, 可以满足实际工作中快速检测的需要, 适用于司法鉴定实践中对 NPP 和 4-ANPP 的定性分析, 从而为禁毒工作提供技术支持。

参考文献

[1] Drug Enforcement Administration. Counterfeit prescription pills containing fentanyl: a global threat[R]. Washington, DC: US

- Department of Justice, Drug Enforcement Administration, 2016.
- [2] UNODC. Global SMART update. Fentanyl and its analogues—50 years on[R]. Vienna: UNODC, 2017.
- [3] SCHULZ W. Fentanyl[J]. *Chemical & Engineering News*, 2005, 83(25): 66.
- [4] LABROO R B, PAINE M F, THUMMEL K E, et al. Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P450 3A4: Implications for interindividual variability in disposition, efficacy, and drug interactions[J]. *Drug Metabolism & Disposition the Biological Fate of Chemicals*, 1997, 25(9): 1072-1079.
- [5] MELENT'EV A B, KATAEV S S, DVORSKAYA O N. Identification and analytical properties of acetyl fentanyl metabolites[J]. *Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 70(2): 216-224.
- [6] STEUER A E, WILLINER E, STAEHELI S N, et al. Studies on the metabolism of the fentanyl-derived designer drug butyrfentanyl in human in vitro liver preparations and authentic human samples using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS)[J]. *Drug Testing & Analysis*, 2017, 9(7): 1085-1092.
- [7] WATANABE S, VIKINGSSON S, ROMAN M, et al. In vitro and in vivo metabolite identification studies for the new synthetic opioids acetylfentanyl, acrylfentanyl, furanylfentanyl, and 4-fluoro-isobutyrylfentanyl[J]. *Aaps Journal*, 2017, 19(4): 1102-1122.
- [8] MARTUCCI H F H, INGLE E A, HUNTER M D, et al. Distribution of furanyl fentanyl and 4-ANPP in an accidental acute death: A case report[J]. *Forensic Science International*, 2017, DOI: 10.1016/j.forsciint.2017.12.005

收稿日期: 2018-03-30; 修回日期: 2018-05-02