

# 超高效液相色谱-二极管阵列检测器法同时测定电子烟中依托咪酯与美托咪酯含量

赖昌威, 李嘉炜, 黄财顺, 王素娟\*

(中山市食品药品检验所, 中山 528400)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA)法快速、准确地检测电子烟中的依托咪酯与美托咪酯,以甄别电子烟的非法添加行为。**方法** 分析方法采用Waters ACQUITY UPLC® HSS T3色谱柱(1.8 μm, 2.1 mm×100 mm);流动相为甲醇-水(60:40),等度洗脱;体积流量为0.15 mL/min;检测波长为241 nm;柱温为35 °C。**结果** 依托咪酯、美托咪酯分别在1.123~224.6 μg/mL、1.043~208.6 μg/mL范围内线性关系良好,依托咪酯、美托咪酯的平均加样回收率分别为95.92%(RSD为0.60%)、104.16%(RSD为0.52%)。**结论** 该方法准确、快速,可用于电子烟中违法添加物依托咪酯与美托咪酯的检验分析。

**关键词:** 电子烟; 依托咪酯; 美托咪酯

## 0 引言

依托咪酯为非巴比妥类短效催眠药物,主要通过激活γ-氨基丁酸A型受体,抑制兴奋性递质传递,从而发挥镇静与麻醉效应<sup>[1]</sup>,临床实践中用于全麻诱导及短时手术麻醉。2021年起,含依托咪酯“上头电子烟”问题显现,成为国家重点打击对象<sup>[2]</sup>。2023年1月—8月期间,全国范围共侦破相关犯罪案件3400余起,抓获涉案人员6800余名,缴获依托咪酯636公斤,含依托咪酯烟弹4.5万余个<sup>[3]</sup>。药理毒理研究<sup>[4]</sup>表明,在治疗剂量下,依托咪酯可诱发肾上腺皮质功能抑制、呼吸循环系统异常及肌阵挛等不良反应。在超剂量使用时,依托咪酯还可引发呼吸抑制直至呼吸暂停。长期滥用者除生理依赖外,易出现认知功能障碍及精神行为异常等神经毒性表现<sup>[5-9]</sup>。美托咪酯为依托咪酯的结构类似物,发挥着与依托咪酯相似的药理作用,被美国食品药品监督管理局批准用于观赏鱼类的镇静和麻醉。最近不法分子将美托咪酯作为依托咪酯“平替”,各地相继报道了相关违法行为。由于兽用药品纯度、杂质等质量控制均低于人用药品,未经人体临床试验,故美托咪酯的安全风险较大。

依托咪酯滥用出现时间早,其体外检材(烟油、烟

粉、烟草等)及体内检材(血液、尿液、毛发等)的检测技术及方法较为完善,而新兴滥用物质美托咪酯的相关研究文献较少。本文参照《中华人民共和国药典》<sup>[10]</sup>四部通则0512高效液相色谱法的定性方法,通过比对保留时间及光谱相似度来对化学成分进行定性分析,并结合超高效液相的快速分析特点来建立超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA)法,旨在为电子烟中非法添加物的检测分析提供一定参考与支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与材料

ACQUITY UPLC H-CLASS超高效液相色谱仪,配置二极管阵列检测器(PDA,沃特世公司);XS205电子分析天平(梅特勒托利多仪器有限公司)。依托咪酯对照品(批号:101132-202203,含量:99.8%)购自中国食品药品检定研究院;盐酸美托咪酯对照品(批号:0140-RE-0037,含量:99.7%)购自广州佳途科技股份有限公司;相关样品来自缴获的涉案物品;甲醇(美国Honeywell公司)为色谱纯;水为超纯水(本实验室纯水机制备)。

### 1.2 色谱条件

Waters ACQUITY UPLC® HSS T3色谱柱(1.8 μm,

**基金项目:** 广东省药品监督管理局科技创新项目(2023TDB24)。

**第一作者:** 赖昌威, 硕士, 主管药师, 研究方向为化学药品分析及非法添加化学物质研究。

**\* 通信作者:** 王素娟, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品质量控制及质量标准研究。E-mail:923242201@qq.com。

2.1 mm×100 mm); 流动相为水-甲醇(40:60); 流速为0.15 mL/min; 柱温为35℃; 检测波长为241 nm; 进样量为1 μL。

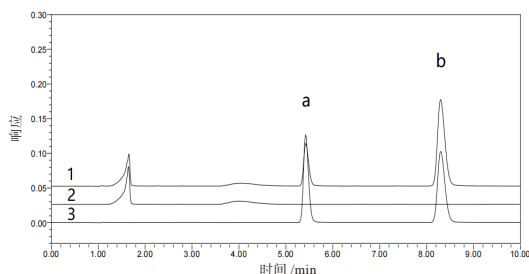
### 1.3 溶液的制备

对照品: 分别称取依托咪酯、美托咪酯对照品约10 mg, 置于100 mL量瓶中, 加入适量流动相, 振摇溶解, 用流动相稀释至刻度。烟油供试品溶液和烟粉供试品溶液的制备: 称取样品约10 mg, 制备流程同对照品。

## 2 结果与分析

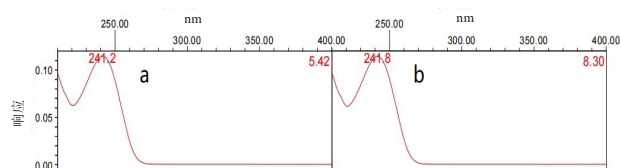
### 2.1 专属性试验

精密吸取阳性烟油供试品、对照品溶液、阴性烟油供试品各1 μL, 按1.2项下色谱条件进行进样检测。烟油中各成分色谱峰对目标检测物出峰位置无干扰, 见图1; 经PDA扫描(210~400 nm)可知, 供试品中目标检测物色谱峰的吸收光谱图特征与对照品的一致, 依托咪酯、美托咪酯的最大吸收波长分别为241.2 nm和241.8 nm, 见图2、3。



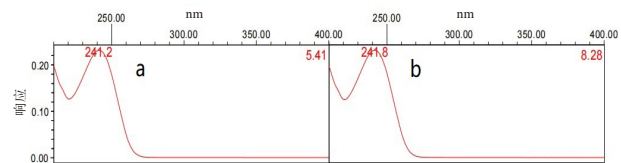
注: a—美托咪酯; b—依托咪酯; 1—阳性烟油供试品; 2—阴性烟油供试品; 3—对照品

图1 UPLC 专属性色谱图



注: a—美托咪酯; b—依托咪酯

图2 供试品主峰光谱图



注: a—美托咪酯; b—依托咪酯

图3 对照品主峰光谱图

### 2.2 方法学考察

#### 2.2.1 线性关系考察

精密吸取系列浓度的混合对照品溶液各1 μL, 按1.2项色谱条件下进行进样检测, 并绘制标准曲线, 结果见

表1, 可知两种成分在线性范围内线性关系良好。

表1 线性关系

成分	回归方程	线性范围/(μg/mL)	r
依托咪酯	$Y=20371X-4515$	1.123~224.6	1
美托咪酯	$Y=18484X-2823$	1.043~208.6	1

#### 2.2.2 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液1 μL, 按1.2项色谱条件下连续进样测定6次, 测得依托咪酯、美托咪酯峰面积的RSD分别为0.03%、0.05%, 表明仪器精密度良好。

#### 2.2.3 重复性试验

称取烟油样品适量, 按1.3项下方法平行制备供试品溶液6份, 并在1.2项色谱条件下进行进样测定, 测得依托咪酯、美托咪酯含量的RSD分别为1.47%、1.35%, 表明该方法重复性良好。

#### 2.2.4 稳定性试验

精密吸取烟油供试品溶液1 μL, 分别于0、2、4、6、12、24 h在1.2项色谱条件下进行进样测定, 测得依托咪酯、美托咪酯峰面积的RSD分别为0.74%、0.71%, 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

#### 2.2.5 加样回收率试验

称取含量已知(依托咪酯、美托咪酯含量分别为53.89、19.99 mg/g)的烟油样品约50 mg, 置100 mL量瓶中, 继续精密加入混合对照品溶液(依托咪酯、美托咪酯含量分别为2.719、1.122 mg/mL)1 mL, 按1.3项下方法平行制备供试品溶液6份, 并在1.2项色谱条件下进行进样测定, 结果见表2。

表2 加样回收率结果(n=6)

成分	称样量/原有量/加入量/测得量/回收率/平均回收率(RSD)/%				
	mg	mg	mg	mg	mg
依托咪酯	51.12	2.755	2.719	5.376	96.41
	47.35	2.552	2.719	5.165	96.13
	55.19	2.974	2.719	5.582	95.94
	59.29	3.195	2.719	5.820	96.56
	54.39	2.931	2.719	5.516	95.10
美托咪酯	52.66	2.838	2.719	5.430	95.36
	51.12	1.022	1.122	2.195	104.61
	47.35	0.947	1.122	2.118	104.43
	55.19	1.103	1.122	2.274	104.38
	59.29	1.185	1.122	2.358	104.57
	54.39	1.087	1.122	2.246	103.32
	52.66	1.053	1.122	2.215	103.64

#### 2.2.6 检测限及定量限

在阴性烟油中加入依托咪酯、美托咪酯对照品适量,

用流动相逐级稀释, 以信噪比为 3:1 时相应浓度作为检测限, 以信噪比为 10:1 时相应浓度作为定量限。测得检测限为 0.14  $\mu\text{g/mL}$ (依托咪酯)、0.10  $\mu\text{g/mL}$ (美托咪酯); 定量限为 0.34  $\mu\text{g/mL}$ (依托咪酯)、0.25  $\mu\text{g/mL}$ (美托咪酯)。

### 2.3 样品含量测定

分别取烟油及烟粉样品各 3 批, 按 1.3 项下方法制备供试品溶液, 在 1.2 项色谱条件下进行进样测定。通过比对保留时间及光谱相似度进行鉴别后计算含量, 测定结果见表 3。在 3 批烟油样品中, 依托咪酯及美托咪酯的含量差别较大, 是添加配方不一样所致; 而在 3 批烟粉样品中, 它们均为较高纯度的依托咪酯, 且未检出美托咪酯。

表 3 含量测定结果

样品	编号	依托咪酯含量/(mg/g)	美托咪酯含量/(mg/g)
烟油	S1	65.28	100.1
	S2	84.38	109.1
	S3	51.41	19.13
烟粉	S1	957.6	0
	S2	900.4	0
	S3	911.8	0

## 3 讨论与结论

### 3.1 方法的选择及优化

针对电子烟中依托咪酯及美托咪酯的检测需求, 当前尚未建立统一的标准方法。为突破这一问题, 实验室初步建立了基于 UPLC-PDA 的分离分析方法。为进一步提高方法的定性鉴别能力, 实验室下一步将利用液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术对包括但不限于以上两种非法添加物进行检测。LC-MS 通过结合液相色谱的高分离效能与质谱的强鉴别能力, 可显著提升目标物鉴别的可靠性。

### 3.2 检验数据分析

本单位累计完成了辖区内公安委托的 146 批电子烟烟油、烟粉及相关涉案物品的检验分析任务。由于美托咪酯是依托咪酯列管后的新兴滥用物质, 故实验室所检验的涉案物品中, 尚未发现检出美托咪酯。对于依托咪酯, 其在烟油中的质量分数主要在 1%~25%(w/w) 范围内, 其中以含约 5%, 10%, 20% 的最为常见; 烟粉中依托咪酯的质量分数则主要在 80%~100%(w/w) 范围内, 以近 95%~100% 的最为常见。除了常规样品外, 还有装过烟油、烟粉的容器、袋子、吸食完的烟弹等非正规样品。这些样品通过流动相浸渍提取后, 同样可以参照本方法来开展检验分析。

### 3.3 色谱条件的考察

本方法以 2020 年版《中华人民共和国药典》中依托

咪酯有关物质项下色谱条件为基础, 对柱温(25、35、45、55  $^{\circ}\text{C}$ )、水相中乙酸铵浓度(0%、0.062%、0.1%)、流速(0.1、0.15、0.2 mL/min)与检测波长进行了考察优化。结果显示, 柱温过低会使各色谱峰分离度减小、分析时间增长、峰形变宽, 过高则会损耗色谱柱寿命而使柱效降低, 综合考虑下选择 35  $^{\circ}\text{C}$  作为柱温; 水相中的乙酸铵浓度对依托咪酯及美托咪酯色谱峰均没有显著影响, 故直接选择甲醇-水作为洗脱液; 综合考虑色谱柱耐受压力, 本方法选择 0.15 mL/min 作为流速。经液相色谱仪的 PDA 扫描可知, 依托咪酯及美托咪酯的最大吸收波长均在 241 nm 附近处, 故选择 241 nm 作为检测波长。

本实验建立的 UPLC-PDA 法通过比对保留时间及光谱相似度来进行定性分析, 并利用超高效液相快速分析的特点, 在 10 min 内即可完成电子烟中依托咪酯、美托咪酯的含量分析。该方法专属性良好, 可快速、准确地检测出电子烟中依托咪酯与美托咪酯, 为涉案电子烟及其相关物品的检验分析提供一定的参考。

## 参考文献

- BELELLI D, MUNTONI A L, MERRYWEST S D, *et al.* The in vitro and in vivo enantioselectivity of etomidate implicates the GABAA receptor in general anaesthesia [J]. *Neuropharmacology*, 2003, 45(1): 57-71.
- 中国国家禁毒委员会办公室. 2021 年中国毒情形势报告 [N]. *中国禁毒报*, 2022-06-28(3).
- 谢俊思. 重拳出击! 整治“笑气”“上头电子烟”问题 [N]. *人民公安报*, 2023-09-27(4).
- 依托咪酯乳状注射液药品说明书 [EB/OL]. [2025-02-21]. <https://db.yaozh.com/instruct/25254544.html>.
- 王文甫, 王绪轶, 李江红, 等. 560 例吸食含依托咪酯烟草、电子烟住院患者的临床分析 [J]. *中国药物滥用防治杂志*, 2024, 30(1): 1-4.
- 车向通, 李晓东, 毛瀚尉, 等. 11 例烟粉依赖患者心理治疗体会 [J]. *中国药物滥用防治杂志*, 2023, 29(4): 560-564.
- 罗颖, 陈倩, 唐楚文, 等. 吸食含依托咪酯电子烟所致依赖的病例分析 1 例 [J]. *中国药物依赖性杂志*, 2024, 33(2): 178-180.
- 崔超丹, 郑俊玮, 曾莞勇, 等. 61 例吸食含依托咪酯电子烟患者的临床特征分析 [J]. *中国药物滥用防治杂志*, 2024, 30(12): 2165-2166+2176.
- 邓怀冬. 依托咪酯致全身性肌痉挛死亡 1 例 [J]. *医药导报*, 2024, 43(7): 1144-1145.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版. 二部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.