

# LC-MS/MS 法测定尿液中毒品替代物依托咪酯及其代谢物

## LCMSMS-758

**摘要：**使用岛津三重四极杆液质联用系统建立了尿液中依托咪酯及其代谢物检测方法。本方法采用内标法定量，化合物线性、重复性良好，不同浓度水平加标实验考察回收率，各组分的回收率在 83.3-110.8% 之间，方法可靠性良好。

**关键词：**三重四极杆质谱 尿液 依托咪酯及其代谢物

### 技术特点：

- ❖ 该方法前处理简单，且通过选择合适内标，确保结果准确性。
- ❖ 实现依托咪酯及代谢物同时检测，为依托咪酯滥用监管提供参考。

依托咪酯系非巴比妥类静脉短效催眠药，通过静脉注射对中枢神经有较强的抑制作用，适用于全麻诱导，也可用于短时手术麻醉。前期由于暂不属于管制类精神药品，一些不法分子将其当做毒品替代品进行销售，造成部分地区出现依托咪酯滥用问题。

依托咪酯吸食后致人上头，呈现头晕站立不稳，东倒西歪等类似醉酒后的状态。长期大量吸食会出现脾气暴躁，生活懒散等影响人的情绪、思维和意志行为的精神障碍，依托咪酯滥用会造成严重的社会问题。2月13日，国家药监局、公安部、国家邮政局三部门联合发布《关于进一步加强复方地芬诺酯片等药品管

理的通知》，该通知首次将依托咪酯注射剂放到“严管”药品之中。

依托咪酯静脉注射后很快进入脑和其他血流丰富的器官，主要在肝内进行代谢和转化，代谢的主要产物为依托咪酯 (ET) 的水解物 R-(+)-1-(1-苯乙基)-1H 咪唑-5 羧酸 (ETA)，大部分以代谢物的形式随尿排出。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，建立了尿液中依托咪酯及其代谢物的测定方法，该方法简单、快速、准确，可为依托咪酯滥用管控提供有效依据，具有重要的现实意义。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-30A	检测器：	LCMS-8050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP- C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32001-03)

流动相：A相 - 0.1% 甲酸水溶液； B相 - 甲醇  
 流速：0.3 mL/min  
 进样体积：2  $\mu$ L  
 柱温：40°C  
 洗脱方式 梯度洗脱，B相初始浓度为 25%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	55
3.50	Pumps	Pump B Conc.	98
4.50	Pumps	Pump B Conc.	98
4.60	Pumps	Pump B Conc.	25
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI +	接口温度：300°C
接口电压：1.0 kV	DL 温度：200°C
雾化气流速：氮气 3.0 L/min	加热块温度：400°C
加热气流速：空气 10 L/min	驻留时间：41 ms
干燥气流速：氮气 10 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
碰撞气：氩气 270 kPa	MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	依托咪酯 (ET)	Etomidate	33125-97-2	245.10	141.10*	-12	-11	-14
					95.05	-26	-25	-21
2	ETA	Etomidate acid	3157-27-5	217.10	113.10*	-15	-10	-12
					105.10	-15	-23	-11
3	美托咪酯 (MET、内标)	Metomidate	5377-20-8	231.15	95.05*	-11	-23	-10
					127.10	-11	-10	-13

注：\* 表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

在 120  $\mu$ L 尿液中加入 30  $\mu$ L 50 ng/mL 的 MET 内标溶液，涡旋混匀，14000 r/min 冷冻离心 10 min，取上清上机分析。

1.4 校准曲线的制备

吸取适量 1  $\mu$ g/mL 浓度的混合标准中间液，使用初始比例流动相进行稀释，配制不同浓度的混合标准溶液，其中 ET 浓度为 0.1、0.4、2、8、20、40 ng/mL，ETA 浓度为 0.25、1、5、20、50、100 ng/mL，MET 内标浓度为 10 ng/mL。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

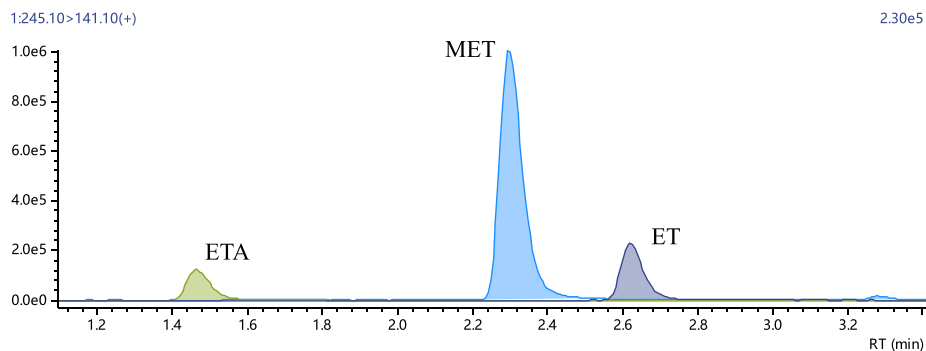


图 1 依托咪酯 (ET) 及其代谢物 (ETA) 的 MRM 色谱图

### 2.2 线性范围与检出限

将上述混合标准系列工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用内法定量。以浓度为横坐标，峰面积比值为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。ET 在 0.1~40 ng/mL 线性范围内，其准确率在 92.8~108.3% 间，ETA 在 0.25~100 ng/mL 线性范围内，其准确率在 92.7~110.3% 间，线性相关系数 R 均大于 0.999，线性关系良好。采用 ASTM 的计算方式，以信噪比 S/N=3 计算仪器检出限，ET 和 ETA 仪器检出限分别为 0.01、0.03 ng/mL。

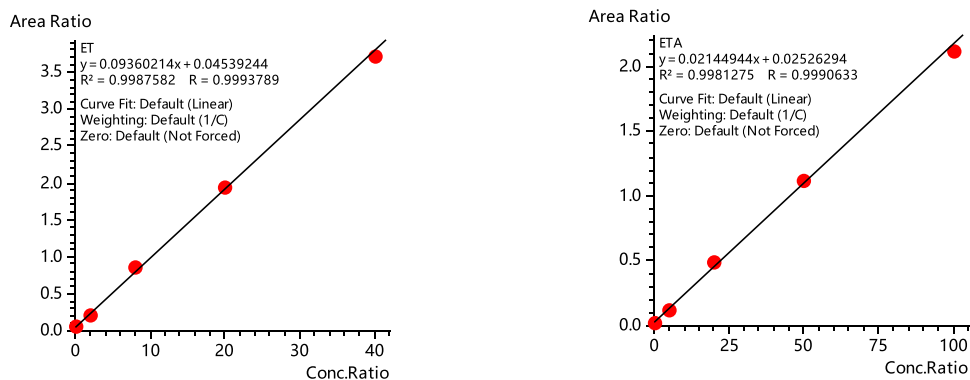


图 2 依托咪酯及其代谢物的校准曲线

### 2.3 精密度实验

对高中低 3 个浓度的 ET、ETA 混合标准工作溶液连续测定 6 次，其中 ET 浓度为 0.2、2、20 ng/mL，ETA 浓度为 0.5、5、50 ng/mL，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示：ET、ETA 保留时间和峰面积的相对标准偏差不高于 0.52% 和 3.60%，显示仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	浓度 1		浓度 2		浓度 3	
	R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%
ET	0.11	1.25	0.10	2.02	0.15	2.12
ETA	0.18	3.60	0.23	2.40	0.52	1.08

## 2.4 加标回收率实验

取空白尿液，加入 ET、ETA 混合标准品储备溶液，其中 ET 浓度分别为 1.6、8 ng/mL；ETA 浓度分别为 4、20 ng/mL，平行做 9 份，ET、ETA 平均加标回收率结果在 83.3-110.8% 之间（见表 4）。

表 4 加标回收率结果 (n=9)

序号	名称	样品浓度 (ng/L)	加标 1		加标 2	
			回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	ET	N.D.	95.8	3.52	110.8	2.10
2	ETA	N.D.	83.3	4.60	90.4	1.53

## ■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统建立了尿液中依托咪酯及其代谢物的检测方法。方法验证结果表明：在考察的线性范围内，线性相关系数大于 0.999，线性良好，高中低标准溶液重复进 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差不高于 0.52% 和 3.60%，仪器重复性良好，加标回收率在 83.3-110.8% 之间。该方法灵敏度高且结果准确，可为依托咪酯滥用检测提供参考。

岛津应用云

