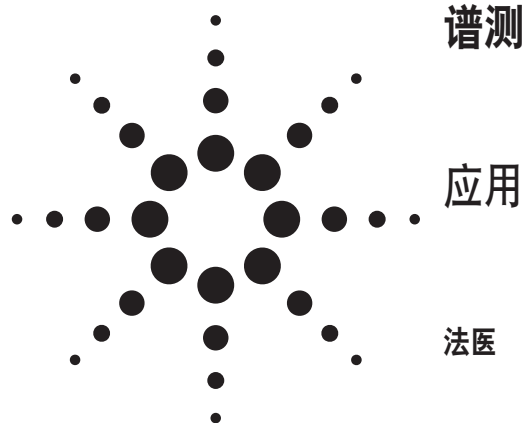


高分离度快速液相色谱 — 三重串联四极杆质谱测定尿和血中的苯二氮草类药物



作者

Christine Moore, Cynthia Coulter, and Katherine Crompton
Immunalysis Corporation
829 Towne Center Dr.
Pomona, CA 91767
USA

Michael Zumwalt
Agilent Technologies, Inc.
9780 S. Meridian Blvd.
Englewood, CO 80112
USA

摘要

本文阐述了使用安捷伦 6410 三重串联四极杆质谱仪以电喷雾模式对尿和血中的 14 种苯二氮草类药物及其 6 种代谢物同时进行的一种快速、简便而且灵敏度高的分析方法。尿样的制备包括在实样中加入 β -葡萄糖苷酶进行处理。血样的制备包括加入乙腈使红细胞沉淀，然后进行固相萃取，蒸干最终获得的洗脱液，加流动相溶解后注入 LC/MS/MS 系统。

据我们所知，该方法首次同时监测定性离子，并要求其与主要离子的比值在可接受的范围内。安捷伦软件独有的特征使得这一裂解转变能够得到监测并且自动计算成比值，如果落在校正标样的范围之内，则被认为是阳性的。尽管对定性离子的监测自然影响到分析的灵敏度，但对于法医学分析而言，对结果的可信度要求更高而且更为严格。

引言

苯二氮草类药物是美国最为普遍应用的处方类药物，用于焦虑和失眠的治疗，尤其是老年病人最为常用[1]。它们还被用于肌肉松弛剂和抗痉挛剂，并且经常在性侵害案件、服药后驾驶（DUID）等情况下被检出，而且常在其他药物治疗中被合并使用[2, 3]。Hegstad 等发表了使用 LC/MS/MS 检测尿样中一些苯二氮草类药物，包括 7-氨基硝西泮、7-氨基氯硝西泮、7-氨基氟硝西泮、阿普唑仑、 α -羟基阿普唑仑、奥沙西泮、3-羟基地西泮和去甲地西泮[4]。在单剂量服用劳拉西泮（2.5 mg）后，Kintz 等能够检出 96 小时后尿中劳拉西泮的含量在 5 ng/mL 以上[5]。在给予单剂量的溴西泮（6 mg）和氯硝西泮（2 mg）后，Cheze 等报道 60 小时溴西泮浓度在 5 ng/mL 以上，而 7-氨基氯硝西泮在至少 144 小时仍能被检出。



Agilent Technologies

血样通常在交通事故中得到采集，而且是尸体解剖后用于分析的主要生物样本。然而，对于苯二氮䓬类药物的检测，尤其是在血样中，并非毫无困难的，因为其存在的浓度，尤其作为治疗用途时，可能会很低。一些刊物介绍了他们在血浆或血清中分析的例子，但是，很少有人尝试对全血样品进行检测。Gunnar 等[7]通过提取、衍生化和 GC/MS 分析对全血中的一些苯二氮䓬类药物进行了测定。

Laloup 等发表的一份优秀的论文介绍了使用串联 LC/MS 对尿、血和头发中 26 种苯二氮䓬类药物及其代谢物进行监测的方法[8]。作者列出了每个药物的一种主要裂解反应和一个定性离子，同时指出，需要通过再进行一次样对每个化合物的两次反应进行监测从而进一步对阳性样品进行确证。使用安捷伦的系统，对定性离子进行监测并且计算其与主要反应的强度比值是其软件整体功能的一部分。

实验部分

样品制备

标准物质和试剂

- 氘代内标物质：D5-地西泮；D5-替马西泮；D5-阿普唑仑；D7-7-氨基氟硝西泮；D4-氯硝西泮；以及无标签的药用标准物质：7-氨基氟硝西泮；7-氨基氯硝西泮；7-氨基硝西泮； α -羟基阿普唑仑； α -羟基三唑仑；去烷基氟西泮；溴西泮；氯硝西泮；硝西泮；三唑仑；阿普唑仑；氟硝西泮；氟西泮；劳拉西泮；咪达唑仑；利眠宁；地西泮；奥沙西泮；去甲地西泮；替马西泮。以上物质均购自 Cerilliant (Round Rock, TX)。
- 混合型固相萃取柱 (Clin II) 购自 SPEWare (San Pedro, CA)。
- 所有溶剂均为 HPLC 级或更纯；所有试剂均为 ACS 级且购自 Spectrum Chemical (Gardena, CA)。

标准溶液 (用甲醇制备)

- 内标混合物：D7-7-氨基氟硝西泮；D5-阿普唑仑；D4-氯硝西泮；D5-替马西泮；D5-奥沙西泮；D5-地西泮 (1,000 ng/mL)
- 无标签的药物：7-氨基氟硝西泮；7-氨基氯硝西泮；7-氨基硝西泮； α -羟基阿普唑仑； α -羟基三唑仑；去烷基氟西泮；溴西泮；氯硝西泮；硝西泮；三唑仑；阿普唑仑；氟硝西泮；氟西泮；劳拉西泮；咪达唑仑；利眠宁；地西泮；奥沙西泮；去甲地西泮；替马西泮

提取步骤一 尿样

取尿样 1 mL，加氘代内标溶液 100 μ L，混匀。

校正曲线：

阴性对照：	氘代储备液 100 μ L (1,000 ng/mL)
10 ng/mL：	氘代储备液 100 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 10 μ L
25 ng/mL：	氘代储备液 100 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 25 μ L
50 ng/mL：	氘代储备液 100 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 50 μ L
100 ng/mL：	氘代储备液 100 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 100 μ L

加入 2 M 醋酸钠缓冲液 (pH 5.0) 0.1 mL，对于实样，另加 α -葡萄糖苷酸酶 50 μ L。混匀后，在 45 °C 加热 3 小时。离心 (10 分钟；2,500 转/分) 后，倾取上清液，加 0.1 M 磷酸钠缓冲液 (pH 6.0) 1 mL。将萃取管置于多管真空系统，用甲醇 3 mL、去离子水 3 mL、0.1 M 磷酸缓冲液 (pH 6.0) 2 mL 进行处理。柱床应保持湿润，不能干。将每份样品倾入萃取管中过柱至干，然后以去离子水 3 mL 和 0.1 M pH 6.0 的磷酸盐缓冲液: 乙腈 (80:20) 2 mL 淋洗至干。而后以 1 mL 正己烷洗柱。最后，用乙酸乙酯 +2% 氨水 (2 mL) 将药物洗脱。洗脱液用氮气 (20 psi/37 °C) 吹干并加甲醇¹ 50 μ L 溶解后备分析用。

¹ 本次研究结束后发现以水溶解并制成溶液比用甲醇更为稳定

提取步骤 — 血样

取全血 1 mL，加乙腈 1 mL，加 50 ng/mL 氘代内标混合物 100 μ L，混匀，离心（20 分钟；2,500 转/分）。倾取上清液，加 0.025 M 磷酸钠缓冲液（pH 2.7）1.5 mL。

校正曲线：

阴性对照：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL)
5 ng/mL：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 50 μ L
10 ng/mL：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 10 μ L
25 ng/mL：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 25 μ L
50 ng/mL：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 50 μ L
100 ng/mL：	氘代储备液 50 μ L (1,000 ng/mL) 1,000 ng/mL 储备液 100 μ L

将萃取管置于多管真空系统，用甲醇 3 mL、去离子水 3 mL、0.1 M 磷酸缓冲液（pH 6.0）2 mL 进行处理。柱床应保持湿润，不能干。将每份样品倾入萃取管中过柱至干，然后以去离子水 3 mL 和 0.1 M pH 6.0 的磷酸盐缓冲液:乙腈（80:20）2 mL 淋洗至干。而后以 1 mL 正己烷洗柱。最后，用乙酸乙酯 +2% 氨水（2 mL）将药物洗脱。洗脱液用氮气（20 psi/37 °C）中吹干并加甲醇² 50 μ L 溶解后备分析用。

² 本次研究结束后发现以水溶解并制成溶液比用甲醇更为稳定

分析步骤 — 尿样和血样

氟硝西泮、硝西泮和氯硝西泮的 7-氨基代谢物能很快从分析柱洗脱，即使流速仅为 0.2 mL/min。尝试对梯度和流速进行了优化，但未能得到这三个代谢物的满意色谱图。随后，采用了另一个方法，耗时仅 3.5 分钟且仅对上述三种代谢物进行监测。将两个方法分开以后，色谱图和灵敏度均得到显著改善。

两种方法均用 Agilent 6410 三重串联四极杆质谱（LC/MS/MS）、Agilent 1200 系列液相泵和 ZORBAX Eclipse XDB C18 4.6 x 50 mm x 1.8 μ m 色谱柱（安捷伦部件号：922975-902），进样量为 5 μ L。尽管作者（CM）使用 4.6 mm 内径的色谱柱获得了较好的结果，为了在相同的流速条件下获得更高的灵敏度，安捷伦推荐使用 2.1 mm 内径的 1.8 μ m 粒径色谱柱。

质谱参数如表 1 所示，括号中为定性离子。

苯二氮䓬类（7-氨基代谢物除外）：

柱温：	35 °C
溶剂流速：	0.2 mL/min
流动相：	A = 20 mM 甲酸铵 (pH = 8.6) B = 乙腈
等度：	50% B
时间	(分钟)
(分钟)	(mL/min)
0	0.2
6.5	0.2
8	1
10	0.2
Post time:	4.5 分钟

只用于分析 7-氨基代谢物：

柱温：	45 °C
溶剂流速：	0.6 mL/min
流动相：	A = 20 mM 甲酸铵 (pH = 8.6) B = 乙腈
等度：	35% B
Stop time:	3.5 分钟

质谱仪条件：

运行模式:	电喷雾正离子模式	
	7-氨基代谢物	其他苯二氮革类
气体温度:	350 °C	300 °C
气体流速 (N ₂):	6 L/min	6 L/min
雾化器压力:	20 psi	15* psi
毛细管电压:	4000 V	4500 V

* 当液相色谱流速为 0.6 mL/min 时，为获得稳定的离子喷雾，推荐将雾化器压力设置为 50 psi。

表 1a. 7-氨基代谢物的采集参数

化合物 片段 1	起始时间 (min)	母离子	子离子	碰撞诱导解离 电压 (V)	CE (V)
D7-7-氨基氟硝西洋	0	291	263	120	25
7-氨基氟硝西洋	0	286	222 (121)	200	25 (25)
7-氨基硝西洋	0	252	121 (208)	120	30 (35)
7-氨基氟硝西洋	0	284	226 (256)	160	30 (25)

表 1b. 苯二氮䓬类药物的采集参数

化合物 片段 1	起始时间 (min)	母离子	子离子	碰撞诱导解离 电压 (V)	CE (V)
溴西洋	0	316	288 (209)	160	20 (30)
片段 2					
D4-氯硝西洋	4.1	320	274	120	25
氯硝西洋	4.1	316	270 (214)	120	25 (35)
α -羟基阿普唑仑	4.1	325	297 (216)	120	30 (35)
α -羟基三唑仑	4.1	359	331 (176)	120	25 (25)
劳拉西洋	4.1	321	275 (229)	140	25 (35)
硝西洋	4.1	282	236 (180)	160	25 (35)
D5-阿普唑仑	4.1	314	286	160	25
阿普唑仑	4.1	309	281 (274)	160	25 (30)
利眠宁	4.1	300	283 (227)	120	15 (30)
D5-奥沙西洋	4.1	292	246	120	20
奥沙西洋	4.1	287	241 (269)	120	20 (20)
三唑仑	4.1	343	308 (239)	120	35 (35)
片段 3					
氟硝西洋	5.4	314	268 (239)	160	30 (35)
咪达唑仑	5.4	326	291 (249)	200	30 (40)
D5-替马西洋	5.4	306	260	120	25
替马西洋	5.4	301	255 (177)	120	35 (40)
去烷基氟硝西洋	5.4	289	226 (261)	160	30 (25)
去甲地西洋	5.4	271	140 (165)	160	30 (30)
片段 4					
5-地西洋	7.2	290	262	160	25
地西洋	7.2	285	257 (222)	160	25 (25)
氟西洋	7.2	388	315 (288)	160	25 (25)

* () 定性离子；定性离子比与校正点的偏差应在 20% 以内

LC/MS/MS 方法验证

分析方法按标准协议进行验证，包括通过一个时间段（5 天）内多次测定（5 次）而得到的定量限、线性范围、相关性，以及日内、日间精密度。校正曲线的斜率未强行通过原点。校正曲线的方程和相关系数 (R^2) 见表 2a（尿样）和 2b（血样）；测定的日间精密度

和准确度数值分别见表 3a 和 3b。另外，日内精密度和准确度数值分别见表 4a 和 4b。该测定方法在选定浓度水平 25 ng/mL 处是稳定、精密和准确的，并且在 5 ~ 100 ng/mL 范围内成线性。所有药物的日内和日间精密度均小于 20%，其中大部分苯二氮䓬类药物其偏差小于 10%。仅有一个例外，即尿样中的 7-氨基硝西洋，5 次重复测定值的偏差为 24.4%。所有药

物的定量限均为 5 ng/mL。对经常遇到的药物在高浓度水平进行了提取和分析，未发现对本测定方法有干扰。

图 1a 为尿样中劳拉西泮的典型校正曲线 ($R^2 > 0.998$)。图 1b 为咪达唑仑的典型校正曲线，其相关系数大于 0.999。

表 2a. 尿样中苯二氮草类药物的线性、相关系数和定性离子比允许值

被分析物	方程	相关系数 (R^2)	定性离子比 (20% 范围)
7-氨基氟硝西洋	$Y = 0.0210x - 0.0481$	0.9985	69.4 (55.4–83.2)
7-氨基硝西洋	$Y = 0.5293x - 0.2512$	0.9990	8.6 (6.9–10.3)
7-氨基氯硝西洋	$Y = 0.0523x - 0.1647$	0.9959	84.5 (67.6–101.4)
α -羟基阿普唑仑	$Y = 0.0019x - 0.0053$	0.9997	40.4 (32.3–48.5)
α -羟基三唑仑	$Y = 0.000971x - 0.0024$	0.9996	92 (73.6–110.45)
阿普唑仑	$Y = 0.0117x + 0.00063$	0.9998	15.8 (12.6–18.9)
溴西洋	$Y = 0.0035x + 0.0095$	0.9948	59.4 (47.5–71.25)
利眠宁	$Y = 0.0064x + 0.0284$	0.9982	80.2 (64.1–96.2)
氯硝西洋	$Y = 0.0121x - 0.0342$	0.9997	24.5 (19.5–29.3)
去烃基氟西洋	$Y = 0.0027x + 0.023$	0.9986	26.7 (21.3–32)
地西洋	$Y = 0.0116x + 0.0166$	0.9996	82.5 (66–99)
氟硝西洋	$Y = 0.0025x - 0.000311$	0.9994	49.4 (39.5–59.2)
氟西洋	$Y = 0.1291x + 0.2849$	0.9993	13.6 (10.8–16.3)
劳拉西洋	$Y = 0.0104x - 0.0457$	0.9981	34.2 (27.3–41)
咪达西洋	$Y = 0.0117x + 0.0149$	0.9997	31.4 (25–37.6)
硝西洋	$Y = 0.015x + 0.0176$	0.9948	20 (34.9–52.3)
去甲地西洋	$Y = 0.0032x + 0.0139$	0.9998	65.8 (52.6–78.9)
奥沙西洋	$Y = 0.0079x - 0.0123$	0.9999	24.3 (19.4–29.1)
替马西洋	$Y = 0.0062x + 0.0011$	0.9998	31 (24.8–37.2)
三唑仑	$Y = 0.0076x + 0.0522$	0.9983	92.1 (73.7–110.5)

表 2b. 血样中苯二氮草类药物的线性、相关系数和定性离子比允许值

被分析物	方程	相关系数 (R^2)	定性离子比 (20% 范围)
7-氨基氟硝西洋	$Y = 0.0199x - 0.0196$	0.9997	73.3 (58.6–88)
7-氨基硝西洋	$Y = 0.525x - 0.2845$	0.9985	7.3 (5.8–8.7)
7-氨基氯硝西洋	$Y = 0.0403x - 0.0429$	0.9996	97.8 (78.2–117.3)
α -羟基阿普唑仑	$Y = 0.001x - 0.0016$	0.9989	41.0 (32.8–49.2)
α -羟基三唑仑	$Y = 0.00033x + 0.00065$	0.9985	90.4 (72.3–108.5)
阿普唑仑	$Y = 0.0124x - 0.0092$	0.9999	15.0 (12–18)
溴西洋	$Y = 0.0029x - 0.0128$	0.9940	59.2 (47.4–71.1)
利眠宁	$Y = 0.0136x + 0.0708$	0.9833	78.9 (63.1–94.7)
氯硝西洋	$Y = 0.0113x - 0.0332$	0.9980	25.2 (20.2–30.3)
去烃基氟西洋	$Y = 0.0029x + 0.0006$	0.9996	26.6 (21.3–31.9)
地西洋	$Y = 0.0105x - 0.0197$	0.9992	83.3 (66.6–100)
氟硝西洋	$Y = 0.00083x + 0.00084$	0.9989	49.7 (39.8–59.7)
氟西洋	$Y = 0.1303x + 0.1446$	0.9994	13.8 (11.0–16.6)
劳拉西洋	$Y = 0.0153x - 0.0538$	0.9971	35.1 (28.1–42.2)
咪达西洋	$Y = 0.0142x - 0.0088$	0.9986	31.8 (25.4–38.2)
硝西洋	$Y = 0.0273x + 0.0974$	0.9951	42.7 (34.2–51.3)
去甲地西洋	$Y = 0.0048x + 0.0058$	0.9980	65.5 (52.4–78.6)
奥沙西洋	$Y = 0.009x - 0.0136$	0.9997	23.6 (18.9–28.4)
替马西洋	$Y = 0.0063x - 0.0041$	0.9999	30.6 (24.5–36.7)
三唑仑	$Y = 0.0032x + 0.00091$	0.9966	92.7 (74.2–111.3)

表 3a. 尿样中苯二氮草类药物的日间精密度和准确度 (25 ng/mL 控制样本; n=5)

药物	平均回收率 (ng/mL)	SD	精密度 (%)	准确度 (%)
7-氨基氯硝西洋	25.18	3.15	12.5	99.29
7-氨基氟硝西洋	23.92	1.55	6.47	104.52
7-氨基硝西洋	23.52	2.14	9.09	106.29
α -羟基阿普唑仑	24.8	1.74	7.02	100.81
α -羟基三唑仑	24.94	2.21	8.85	100.24
阿普唑仑	25.5	0.81	3.16	98.04
溴西洋	27.1	1.63	6.02	92.25
利眠宁	25.3	1.35	5.32	98.81
氯硝西洋	24.86	0.84	3.37	100.56
去烃基氟硝西洋	26.16	0.3	1.13	95.57
地西洋	25.02	1.01	4.04	99.92
氟硝西洋	25.2	0.31	1.22	99.21
氟西洋	25.64	1.4	5.46	97.5
劳拉西洋	23.8	1.85	7.76	105.04
咪达西洋	25.58	0.98	3.83	97.73
硝西洋	26.84	1.11	4.15	93.14
去甲地西洋	26.26	0.65	2.46	95.2
奥沙西洋	24.94	0.55	2.19	100.24
替马西洋	25.4	0.34	1.34	98.43
三唑仑	27.16	1.96	7.23	92.05

表 3b. 血样中苯二氮草类药物的日间精密度和准确度 (25 ng/mL 控制样本; n=5)

药物	平均回收率 (ng/mL)	SD	精密度 (%)	准确度 (%)
7-氨基氯硝西洋	26.3	1.46	5.54	105.2
7-氨基氟硝西洋	24.84	1.05	4.24	99.36
7-氨基硝西洋	25.1	1.57	6.27	100.4
α -羟基阿普唑仑	24.62	0.88	3.56	98.48
α -羟基三唑仑	25.7	1.39	5.41	102.8
阿普唑仑	24.56	0.42	1.72	98.24
溴西洋	26.14	2.9	11.1	104.56
利眠宁	25.26	4.03	15.94	101.04
氯硝西洋	24.32	0.85	3.51	97.28
去烃基氟硝西洋	25.54	0.53	2.06	102.16
地西洋	24.84	0.59	2.39	99.36
氟硝西洋	24.82	1.49	5.99	99.28
氟西洋	26	1.05	4.04	104
劳拉西洋	24.82	0.53	2.12	99.28
咪达西洋	24.72	1.41	5.7	98.88
硝西洋	28.32	2.73	9.65	113.28
去甲地西洋	25.86	0.62	2.41	103.44
奥沙西洋	24.32	0.89	3.67	97.28
替马西洋	24.72	0.41	1.65	98.88
三唑仑	25.8	3.41	13.22	103.2

表 4a. 尿样中苯二氮草类药物的日内精密度 (n=5)

药物	平均回收率 (ng/mL)	SD	精密度 (%)
7-氨基氯硝西洋	27.36	2.84	10.4
7-氨基氯硝西洋	24.74	0.57	2.31
7-氨基硝西洋	28.26	6.9	24.4
α -羟基阿普唑仑	23.9	2.74	11.47
α -羟基三唑仑	23.6	3.16	13.4
阿普唑仑	26.26	0.74	2.83
溴西洋	23.5	3.93	16.7
利眠宁	23.2	1.49	6.42
氯硝西洋	25.9	0.29	1.13
去羟基氯硝西洋	26.2	1.06	4.03
地西洋	25.78	0.82	3.18
氟硝西洋	25.42	0.79	3.13
氟西洋	26.88	1.09	4.05
劳拉西洋	24.78	0.47	1.9
咪达西洋	25.8	0.74	2.86
硝西洋	27.62	1.76	6.37
去甲地西洋	25.28	0.47	1.77
奥沙西洋	25.28	0.92	3.64
替马西洋	25.42	0.36	1.43
三唑仑	27.24	2.2	8.09

表 4b. 血样中苯二氮草类药物的日内精密度 (n=5)

药物	平均回收率 (ng/mL)	SD	精密度 (%)
7-氨基氯硝西洋	24.02	1.57	6.52
7-氨基氯硝西洋	23.82	1.35	5.67
7-氨基硝西洋	28.64	1.04	3.86
α -羟基阿普唑仑	24.36	1.77	7.28
α -羟基三唑仑	24.66	3.35	13.57
阿普唑仑	24.6	0.33	1.35
溴西洋	27.38	4.24	15.5
利眠宁	25.52	2.69	10.54
氯硝西洋	23.84	0.34	1.41
去羟基氯硝西洋	26.96	2.32	8.61
地西洋	24.96	1.82	7.29
氟硝西洋	24.54	4.37	17.8
氟西洋	25.74	0.55	2.12
劳拉西洋	17.66	2.38	13.48
咪达西洋	23.74	1.53	6.43
硝西洋	30.52	2.88	9.45
去甲地西洋	27.28	2.76	10.1
奥沙西洋	23.84	0.6	2.51
替马西洋	25.04	0.53	2.12
三唑仑	26.02	4.17	16.02

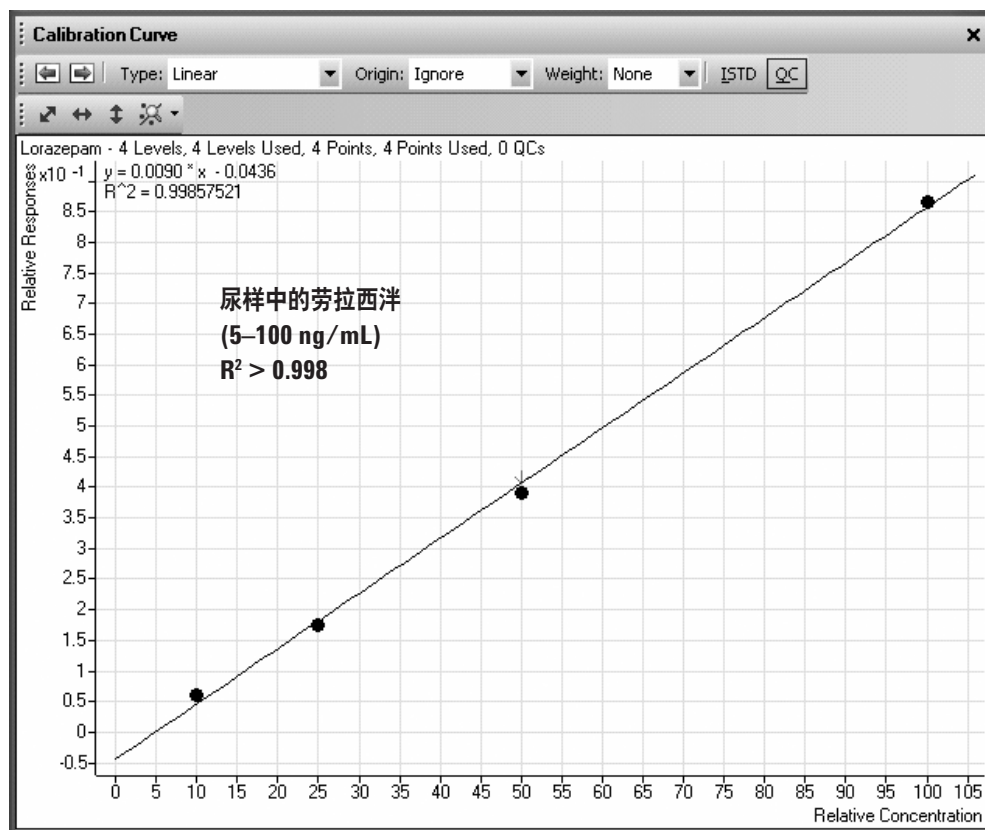


图 1a. 尿样中劳拉西洋的校正曲线 (5, 10, 25, 50 和 100 ng/mL)

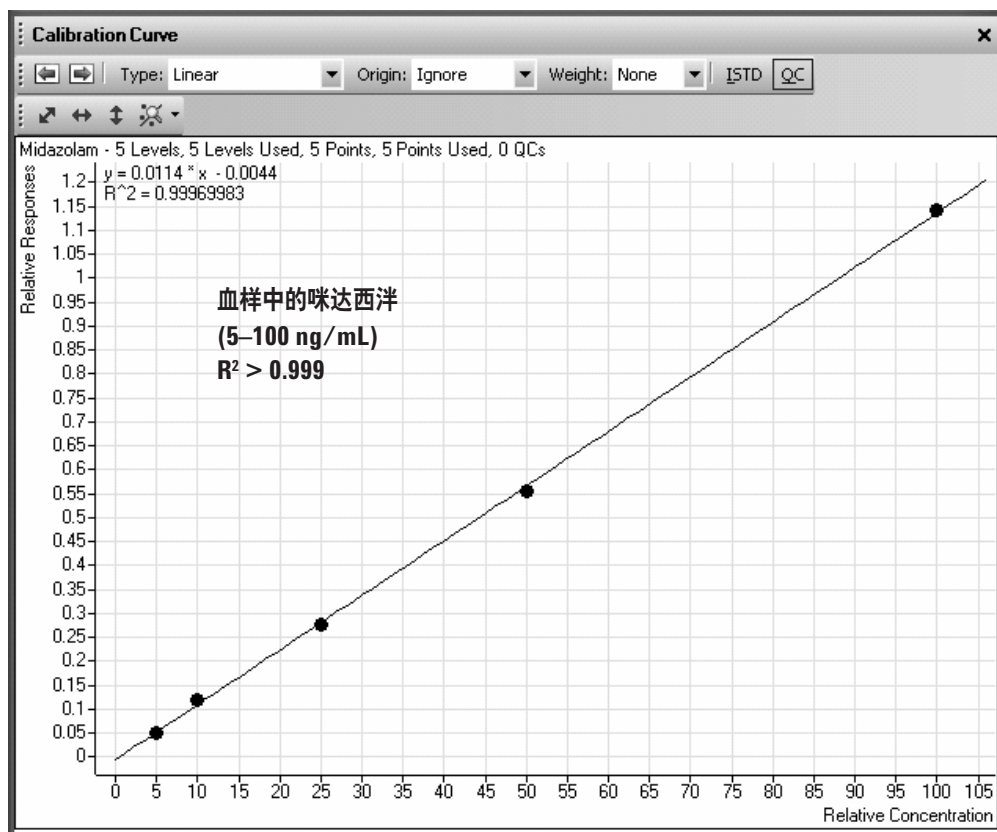


图 1b. 血样中咪达西洋的校正曲线 (5, 10, 25, 50 和 100 ng/mL)

讨论

使用安捷伦的设备可以对尿和血中的 14 种苯二氮䓬类药物及 6 种代谢物进行快速测定。通过小粒径的分析柱获得的色谱分离将峰分为不同的片段组（分别见图 2a 和 2b）。7-氨基硝西洋、氟硝西洋和氯硝西洋等代谢物在此色谱条件下分离效果差，因此用另一种快速分离条件对它们分别进行分析。

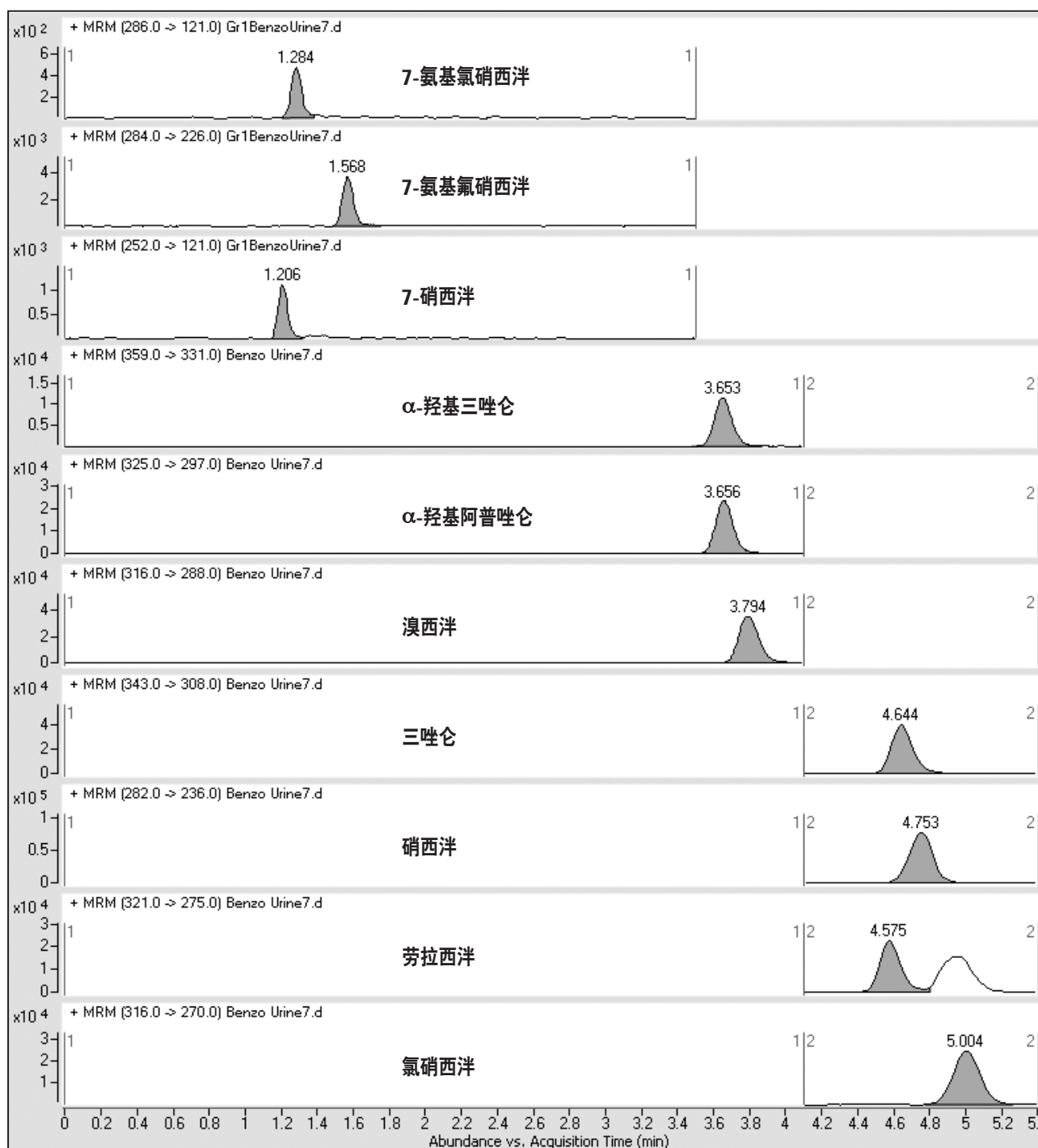


图 2a. 从尿样中提取的苯二氮草类药物 (25 ng/mL): 主要裂解转变, 为清楚起见, 未显示内标物质

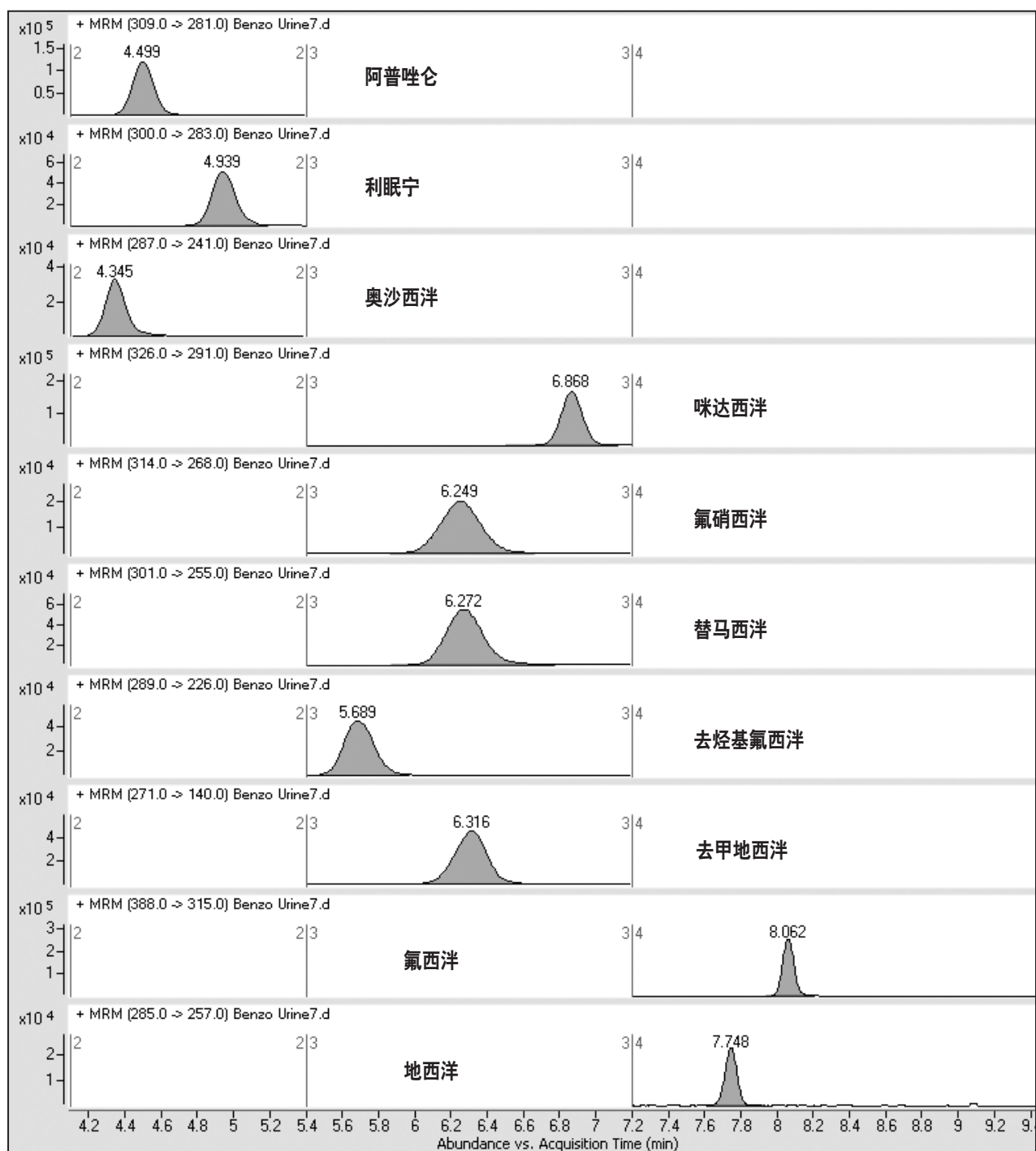


图 2a. 从尿样中提取的苯二氮草类药物 (25 ng/mL): 主要裂解转变, 为清楚起见, 未显示内标物质 (续)

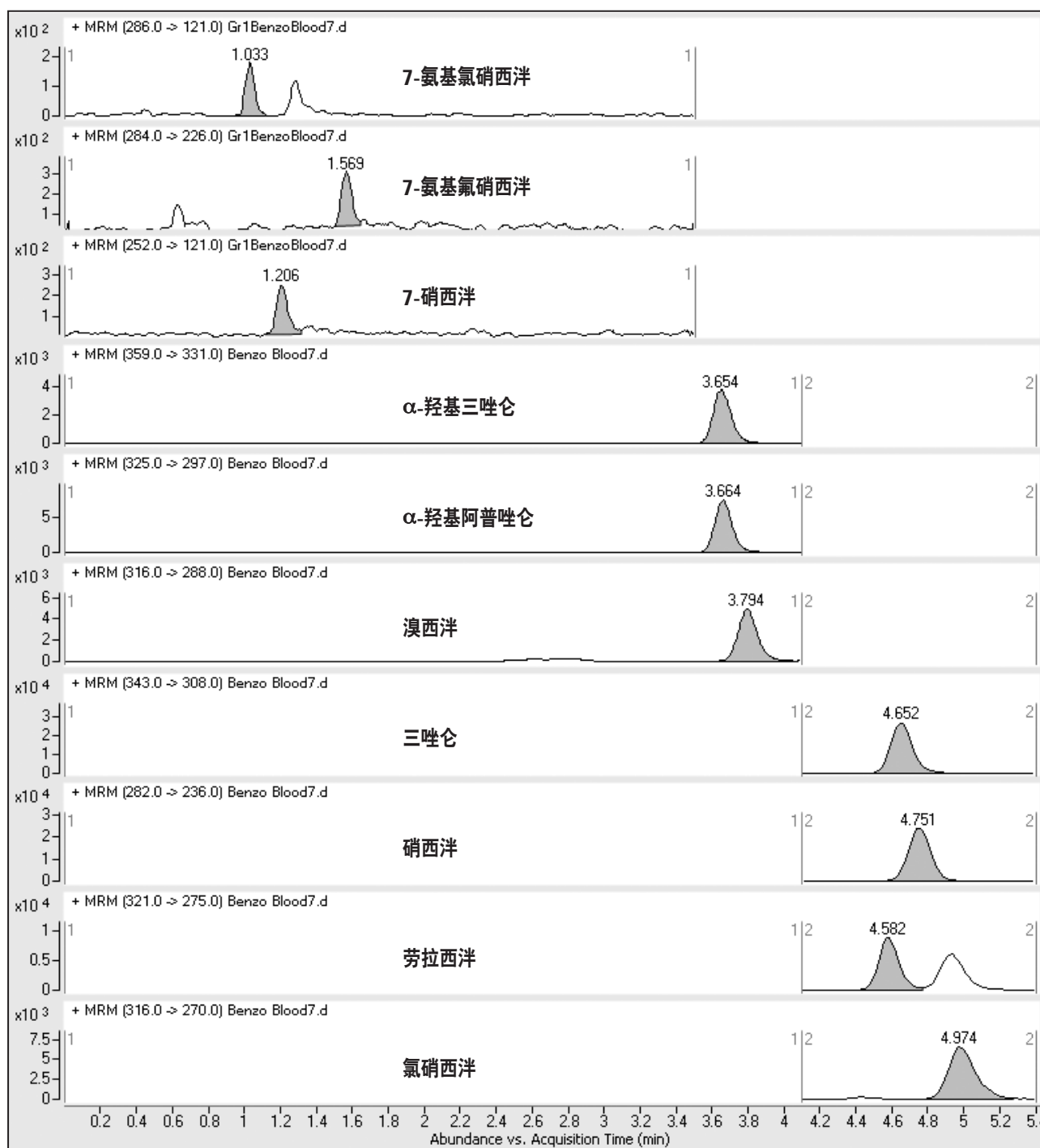


图 2b. 从血样中提取的苯二氮草类药物 (25 ng/mL): 主要裂解转变, 为清楚起见, 未显示内标物质

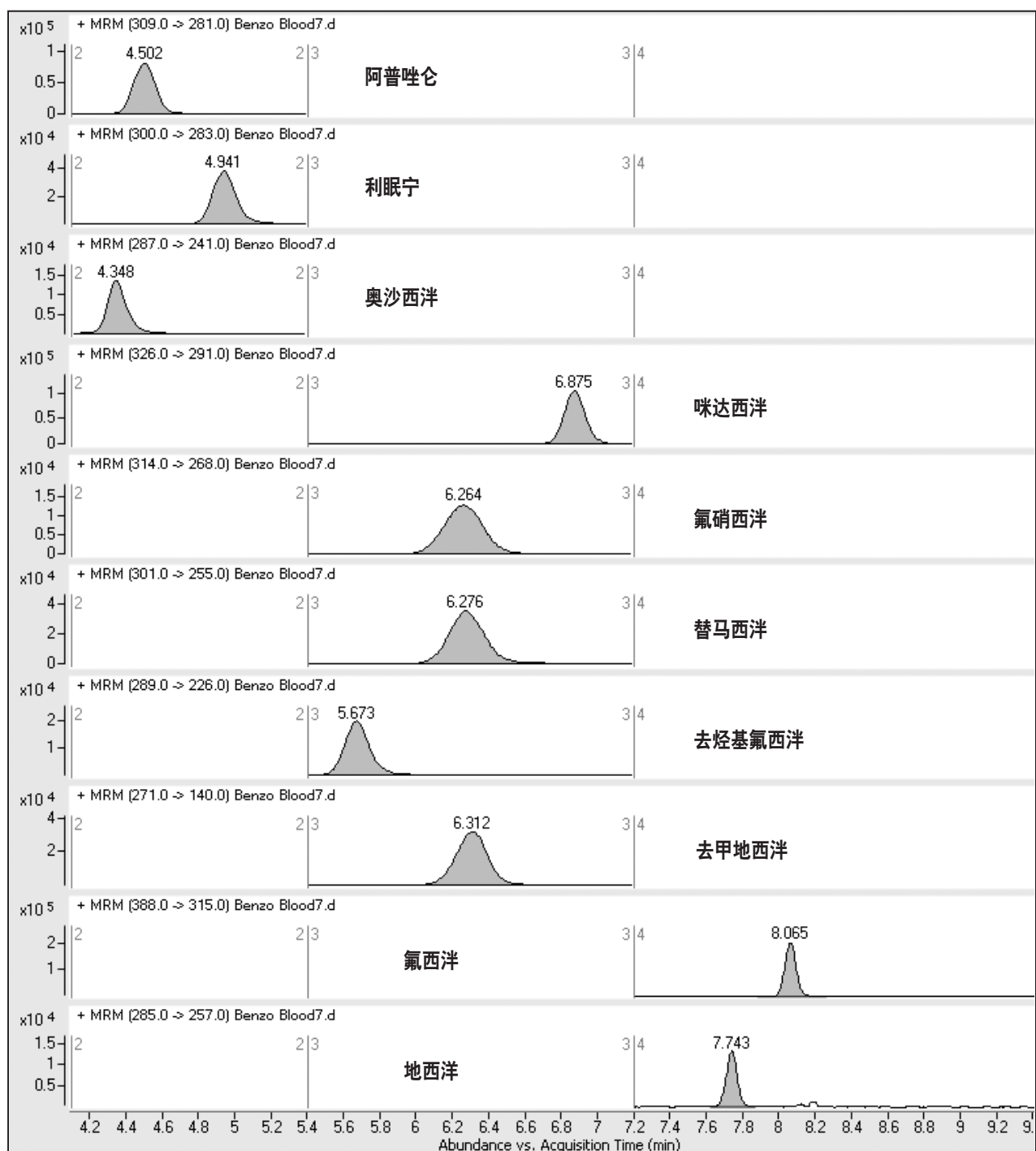


图 2b. 从血样中提取的苯二氮草类药物 (25 ng/mL): 主要裂解转变, 为清楚起见, 未显示内标物质 (续)

仪器所提供的软件其独特之处在于能够监测从母离子裂解产生的次级转变, 并能自动计算其与主要子离子的比值。如果该比值与校正标准品相比, 不在 20% 的偏差范围内, 则该鉴定结果被拒绝。这是三重串联四极杆质谱仪的一个附加特征, 它对法医分析而言尤其重要, 因为法院对实验室数据的质询是很常见的。

监测次级转变对结果赋予了额外的可靠性; 对次级转变与主要子离子的比值的应用进一步增强了对尿样中药物的鉴定作用。软件能将该比值显示在色谱图窗口, 这样操作人员能够利用软件给出的“不确定性”范围直观地判断鉴定结果的准确性 (图 3a: 尿样; 图 3b: 血样)。

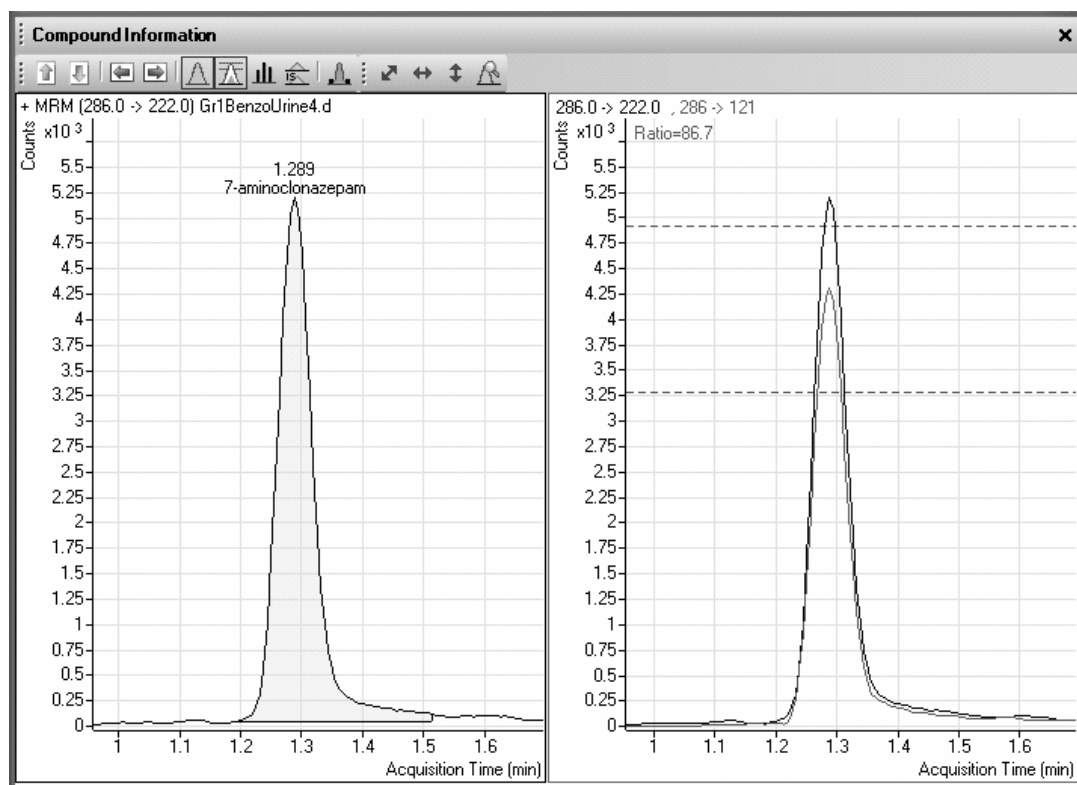


图 3a. 尿样中提取 7-氨基氯硝西泮 (50 ng/mL) 的定性离子 (峰面积归一化) 及比值 $86.7 \pm 20\%$ 的允许限值 (范围: 69.4 ~ 104.0)

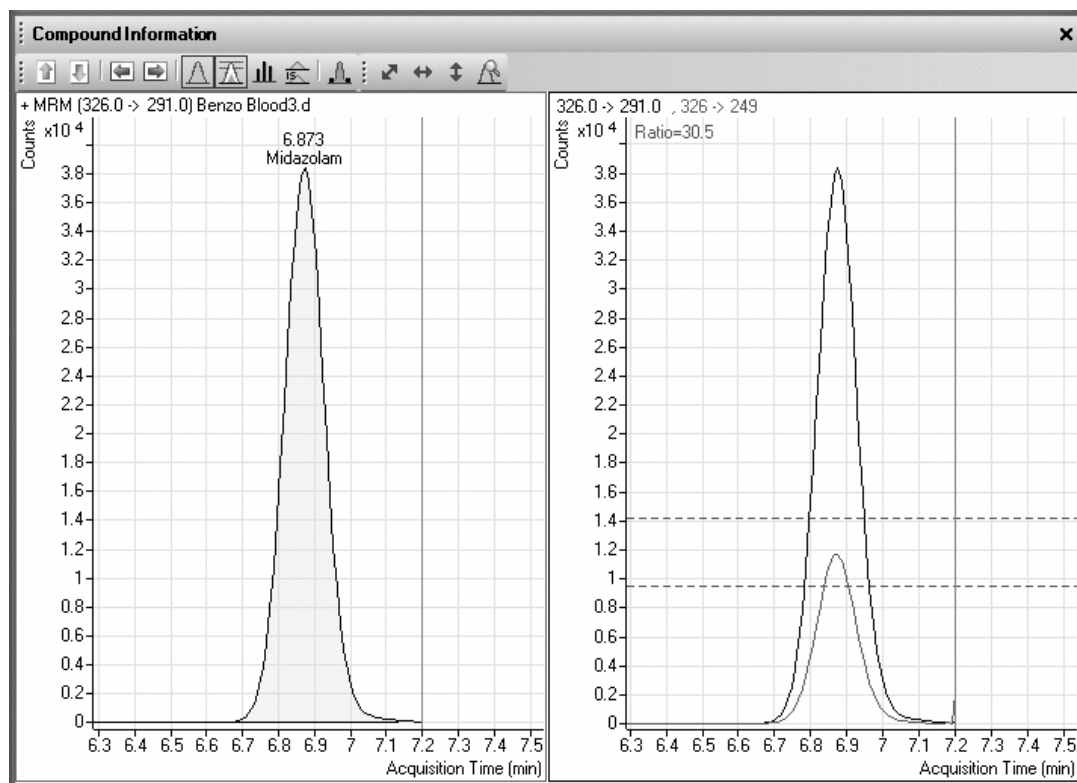


图 3b. 血样中提取咪达唑仑 (10 ng/mL) 的定性离子 (峰面积归一化) 及比值 $86.7 \pm 20\%$ 的允许限值 (范围: 69.4 ~ 104.0)

结论

本文中阐述的步骤适用于使用安捷伦科技公司的三重串联四极杆 LC/MS/MS 系统检测尿样中的苯二氮革类药物。据我们所知,该方法首次提出定性裂解转变与主要转变之强度比应在特定范围内的要求。

参考文献

1. J. M. Cook, R. Marshall, C. Masci, J. C. Coyne, "Physicians' Perspectives on Prescribing Benzodiazepines for Older Adults: A Qualitative Study," *J Gen Intern Med* 22(3): 303-307 (2007)
2. A. W. Jones, A. Holmgren, F. C. Kugelberg, "Concentrations of Scheduled Prescription Drugs in Blood of Impaired Drivers: Considerations for Interpreting the Results," *Ther Drug Monit* 29(2): 248-260 (2007)
3. E. W. Schwilke, M. I. Sampaio dos Santos, B. K. Logan, "Changing Patterns of Drug and Alcohol Use in Fatally Injured Drivers in Washington State," *J Forens Sci* 51(5): 1191-1198 (2006)
4. S. Hegstad, F. L. Oiestad, U. Johnsen, A. S. Christophersen, "Determination of Benzodiazepines in Human Urine Using Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry," *J Anal Toxicol* 30(1) 31-37 (2006)
5. P. Kintz, M. Villain, V. Cirimele, G. Pepin, B. Ludes, "Windows of Detection of Lorazepam in Urine, Oral Fluid and Hair With a Special Focus on Drug Facilitated Crimes," *Forens Sci Int* 145:131-135 (2004)
6. M. Cheze, M. Villain, G. Pepin, "Determination of Bromazepam, Clonazepam and Metabolites After a Single Intake in Urine and Hair by LC-MS/MS: Application to Forensic Cases of Drug Facilitated Crimes," *Forens Sci Int* 145: 123-130 (2004)
7. T. Gunnar, K. Ariniemi, P. Lillsunde, "Fast Gas Chromatography-Negative-Ion Chemical Ionization Mass Spectrometry With Microscale Volume Sample Preparation for the Determination of Benzodiazepines and Alpha-Hydroxy Metabolites, Zaleplon and Zopiclone in Whole Blood," *J Mass Spectrom* 41(6): 741-754 (2006)
8. M. Laloup, M. del Mar Ramirez Fernandez, G. De Boeck, M. Wood, V. Maes, N. Samyn, "Validation of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Determination of 26 Benzodiazepines and Metabolites, Zolpidem and Zopiclone in Blood, Urine and Hair," *J Anal Toxicol* 29:616-626 (2005)

致谢

安捷伦科技公司的 John Hughes 先生审阅并提出了有益的意见,对此,作者表示衷心的感谢。

更多信息

如需了解更多信息,请访问我们的网站
www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本资料中的错误,及因使用本资料所引发的相关损失不承担责任。

本资料中的信息、说明和性能指标如有更改,恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司, 2007

中国印刷
2007 年 7 月 25 日
5989-7074CHCN



Agilent Technologies