

中图分类号: R917; R971<sup>+</sup>.3 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)01-0086-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.01.016



# 高效液相色谱串联质谱法同时检测人血清中 10 种 苯二氮䓬类药物质量浓度\*

梁国朝, 沈玉双, 邓顺顺<sup>△</sup>

(广东省中山市第三人民医院, 广东 中山 528400)

**摘要:**目的 建立同时测定血清中 10 种常用苯二氮䓬类药物(BZD)质量浓度的高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)法。方法 采用乙腈蛋白沉淀法对血清样本进行前处理。色谱柱为 Phenomenex Kinetex XB-C<sub>18</sub> 柱(50 mm × 3.0 mm, 2.6 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-甲醇(梯度洗脱), 流速为 0.4 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 2 μL, 采用电喷雾电离正离子、多反应监测(MRM)模式进行定量分析, 以地西洋-d5、硝西洋-d5、奥沙西洋-d5、阿戈美拉汀-d6、劳拉西洋-d4、替马西洋-d5、溴西洋-d4、氯硝西洋-d4、阿普唑仑-d5、咪达唑仑-d4 为质控内标。结果 地西洋、硝西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、劳拉西洋、替马西洋、溴西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、咪达唑仑的质量浓度分别在 25~3 200 ng/mL ( $R^2 = 0.9987$ )、5~640 ng/mL ( $R^2 = 0.9948$ )、40~5 120 ng/mL ( $R^2 = 0.9973$ )、20~2 560 ng/mL ( $R^2 = 0.9970$ )、5~640 ng/mL ( $R^2 = 0.9996$ )、25~3 200 ng/mL ( $R^2 = 0.9992$ )、5~640 ng/mL ( $R^2 = 0.9984$ )、2.5~320 ng/mL ( $R^2 = 0.9984$ )、2~256 ng/mL ( $R^2 = 0.9997$ )、20~2 560 ng/mL ( $R^2 = 0.9993$ ) 范围内与峰面积及内标峰面积的比值线性关系良好; 定量下限分别为 25.0, 5.0, 40.0, 20.0, 5.0, 25.0, 5.0, 2.5, 2.0, 20.0 ng/mL; 日内和日间精密度试验结果的 RSD 均小于 8% ( $n = 18$ ); 提取回收率为 93.22%~106.83%; 内标归一化基质因子的 RSD 均小于 15% ( $n = 18$ ); 血清质控样品于室温放置 24 h、室温与 -80 °C 反复冻融 5 次及 -80 °C 保存 1 个月条件下的含量均在 85%~115% 范围内, 结果的 RSD 均小于 15% ( $n = 3$ )。结论 所建立的方法操作简便、专属性强、准确度高、灵敏度好, 可用于 BZD 的血药浓度监测。

**关键词:** 高效液相色谱串联质谱法; 苯二氮䓬类药物; 乙腈蛋白沉淀法; 血药浓度

## Simultaneous Determination of 10 Benzodiazepines in Human Serum by HPLC - MS / MS

LIANG Guochao, SHEN Yushuang, DENG Shunshun<sup>△</sup>

(The Third People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for simultaneous determination of mass concentrations of 10 commonly used benzodiazepines (BZD) in human serum.

**Methods** Acetonitrile protein precipitation method was used for pretreatment of serum samples. The chromatographic column was Phenomenex Kinetex XB-C<sub>18</sub> column (50 mm × 3.0 mm, 2.6 μm), the mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution-methanol (gradient elution), the flow rate was 0.4 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the sample injection volume was 2 μL. The quantitative analysis was carried out by the electrospray ionization (ESI) positive ion mode with multiple reaction monitoring (MRM), with diazepam-d5, niazepam-d5, oxazepam-d5, agomelatine-d6, lorazepam-d4, temazepam-d5, bromazepam-d4, clonazepam-d4, alprazolam-d5, and midazolam-d4 as internal standards for quality control. **Results** The linear ranges of diazepam, niazepam, oxazepam, estazolam, lorazepam, temazepam, bromazepam, clonazepam, alprazolam, and midazolam were 25-3 200 ng/mL ( $R^2 = 0.9987$ ), 5-640 ng/mL ( $R^2 = 0.9948$ ), 40-5 120 ng/mL ( $R^2 = 0.9973$ ), 20-2 560 ng/mL ( $R^2 = 0.9970$ ), 5-640 ng/mL ( $R^2 = 0.9996$ ), 25-3 200 ng/mL ( $R^2 = 0.9992$ ), 5-640 ng/mL ( $R^2 = 0.9984$ ), 2.5-320 ng/mL ( $R^2 = 0.9984$ ), 2-256 ng/mL ( $R^2 = 0.9997$ ), and 20-2 560 ng/mL ( $R^2 = 0.9993$ ), respectively. The lower limits of quantification were 25.0, 5.0, 40.0, 20.0, 5.0, 25.0, 5.0, 2.5, 2.0, and 20.0 ng/mL, respectively. The RSDs of both intra-day and inter-day precision test results were lower than 8% ( $n = 18$ ). The extraction recovery rate was in the range of 93.22% - 106.83%. The RSD of internal standard normalized matrix factor was lower than 15% ( $n = 18$ ). The content of serum quality control samples stored at room temperature for 24 h, repeated freezing and thawing at room temperature and -80 °C for 5 times, and stored at -80 °C for 1 month were all within the range of 85% - 115%, and the RSDs of the results were all lower than 15% ( $n = 3$ ). **Conclusion** The established method is simple, highly specific, accurate, and sensitive, which can be used for monitoring blood drug concentration in BZD.

**Key words:** HPLC-MS/MS; benzodiazepines; acetonitrile protein precipitation method; blood drug concentration

\* 基金项目: 广东省中山市医学科研项目[2022J226]。

第一作者: 梁国朝, 男, 大学本科, 主管技师, 研究方向为治疗药物监测, (电子信箱)lgc0309047@126.com。

<sup>△</sup>通信作者: 邓顺顺, 女, 大学本科, 主任技师, 研究方向为治疗药物监测, (电子信箱)409632800@qq.com。

苯二氮䓬类药物(BZD)是临床应用最广泛的镇静催眠药,其在中枢神经系统疾病的治疗中发挥重要作用<sup>[1]</sup>,主要通过加强 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -GABA)A型(GABAA)受体的作用,产生镇静、催眠、抗焦虑、抗惊厥、松弛肌肉等作用<sup>[2]</sup>。长期使用BZD会导致成瘾性、依赖性,过量使用或与其他中枢抑制药物合用易中毒,临床表现为嗜睡、昏迷、呼吸抑制,严重者可致死亡<sup>[3-6]</sup>。近年滥用BZD或使用BZD自杀的事件时有发生,但BZD中毒患者在送往医院救治时多处于意识模糊或昏迷状态,医师难以准确判断其中毒药物,从而延误抢救时机。故建立快速、准确、简便的BZD血药浓度检测方法,并通过动态监测评估病情,对患者的确诊和治疗尤为重要<sup>[7]</sup>。常规BZD血药浓度检测方法有胶体金法、高效液相色谱(HPLC)法、气相色谱-质谱(GC-MS)法等,但存在可检测药物种类少、只能定性或半定量、操作复杂、耗时长、灵敏度低等局限性<sup>[8-9]</sup>,难以满足操作简便、检测快速、结果准确的临床需求,而高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)法则可解决上述问题。故本研究中建立了同时检测血清中10种BZD质量浓度的HPLC-MS/MS法。现报道如下。

## 1 仪器、试剂与空白血清

### 1.1 仪器

LCMS-8050 CL型液质联用仪(日本Shimadzu公司),配备DGU-20A5R型自动脱气机,LC-30AD型二元高压泵,SIL-30ACMP型自动进样器,CTO-30A型可调柱温箱,ATN-1050型氮气发生器;SPE18200-2型纯水机(重庆贝研科技发展有限公司);5424R型低温高速离心机,MixMate型混匀仪,Xplorer型电动连续分液器,Research plus型移液器,均购自德国Eppendorf公司;DW-HL218型超低温冰箱(合肥中科美菱低温科技股份有限公司)。

### 1.2 试剂

S1-S8混合校准工作液(含地西洋、硝西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、劳拉西洋、替马西洋、溴西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、咪达唑仑,批号为24011601),低、中、高质量浓度混合质控工作液(含地西洋、硝西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、劳拉西洋、替马西洋、溴西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、咪达唑仑,批号为24011603),混合内标工作液(含地西洋-d5、硝西洋-d5、奥沙西洋-d5、阿戈美拉汀-d6、劳拉西洋-d4、替马西洋-d5、溴西洋-d4、氯硝西洋-d4、阿普唑仑-d5、咪达唑仑-d4,批号为24042903),均购自杭州佰辰医疗器械有限公司;甲醇(色谱纯,批号为I1084007014),乙腈(色谱纯,批号为JA111230),均购自德国Merck公司;甲酸(广东光华科技股份有限公司,批号为20211009);水为自制纯水。

### 1.3 空白血清

由课题组成员提供血液,离心,取血清,置-20℃保存。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Phenomenex Kinetex XB-C<sub>18</sub>柱(50 mm × 3.0 mm, 2.6 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~0.5 min时5%B,0.5~2.5 min时5%B → 75%B,2.5~3.0 min时75%B → 95%B,3.0~4.0 min时95%B,4.0~4.5 min时95%B → 5%B,4.5~5.0 min时5%B);流速为0.4 mL/min;柱温为40℃;进样量为2 μL。

质谱条件:电喷雾电离(ESI)离子源,正离子扫描,多反应监测(MRM)模式;接口温度为300℃,脱溶剂管温度为250℃;加热块温度为400℃;雾化气流量为2.4 L/min;加热气流量为10 L/min;干燥气流量为10 L/min;碰撞气为氩气。10种药物与内标的质谱参数见表1。

表1 10种药物与内标的质谱参数

Tab. 1 Mass spectrometry parameters of 10 drugs and internal standards

药物/内标	质荷比( <i>m/z</i> )		驻留时间 (ms)	碰撞电压 (V)	Q1pre偏差 (V)	Q3pre偏差 (V)
	母离子	子离子				
地西洋	284.95	193.05	16.00	-40.00	-17.00	-20.0
地西洋-d5	289.80	197.95	16.00	-30.00	-29.00	-14.0
硝西洋	282.05	180.10	16.00	-31.00	-17.00	-20.0
硝西洋-d5	286.90	184.95	16.00	-33.00	-17.00	-20.0
奥沙西洋	287.05	104.05	16.00	-40.00	-13.00	-23.0
奥沙西洋-d5	291.85	108.85	16.00	-33.00	-13.00	-24.0
艾司唑仑	295.00	267.00	16.00	-30.00	-10.00	-20.0
阿戈美拉汀-d6	250.15	188.15	16.00	-15.00	-11.00	-20.0
劳拉西洋	321.10	229.10	16.00	-31.00	-21.00	-23.0
劳拉西洋-d4	325.15	233.15	16.00	-30.00	-15.00	-25.0
替马西洋	301.05	255.00	16.00	-35.00	-18.00	-19.0
替马西洋-d5	306.15	260.15	16.00	-30.00	-14.00	-20.0
溴西洋	318.10	182.10	16.00	-29.00	-11.00	-13.0
溴西洋-d4	322.10	186.10	16.00	-32.00	-16.00	-22.0
氯硝西洋	316.20	270.15	16.00	-22.00	-11.00	-30.0
氯硝西洋-d4	320.15	274.10	16.00	-24.00	-17.00	-20.0
阿普唑仑	309.15	281.15	16.00	-26.00	-22.00	-21.0
阿普唑仑-d5	314.20	286.20	16.00	-26.00	-15.00	-21.0
咪达唑仑	326.10	291.10	16.00	-35.00	-15.00	-21.0
咪达唑仑-d4	329.80	294.95	16.00	-32.00	-15.00	-21.0

### 2.2 溶液制备

混合校准样品溶液与混合质控样品溶液:取S1-S8混合校准工作液和低、中、高质量浓度混合质控工作液各适量,分别加95 μL空白血清,混匀,即得。质量浓度见表2。

表2 混合校准样品溶液与混合质控样品溶液中待测药物的质量浓度 (ng/mL)

Tab. 2 Mass concentration of the test drug in the mixed calibration sample solution and mixed quality control sample solution (ng/mL)

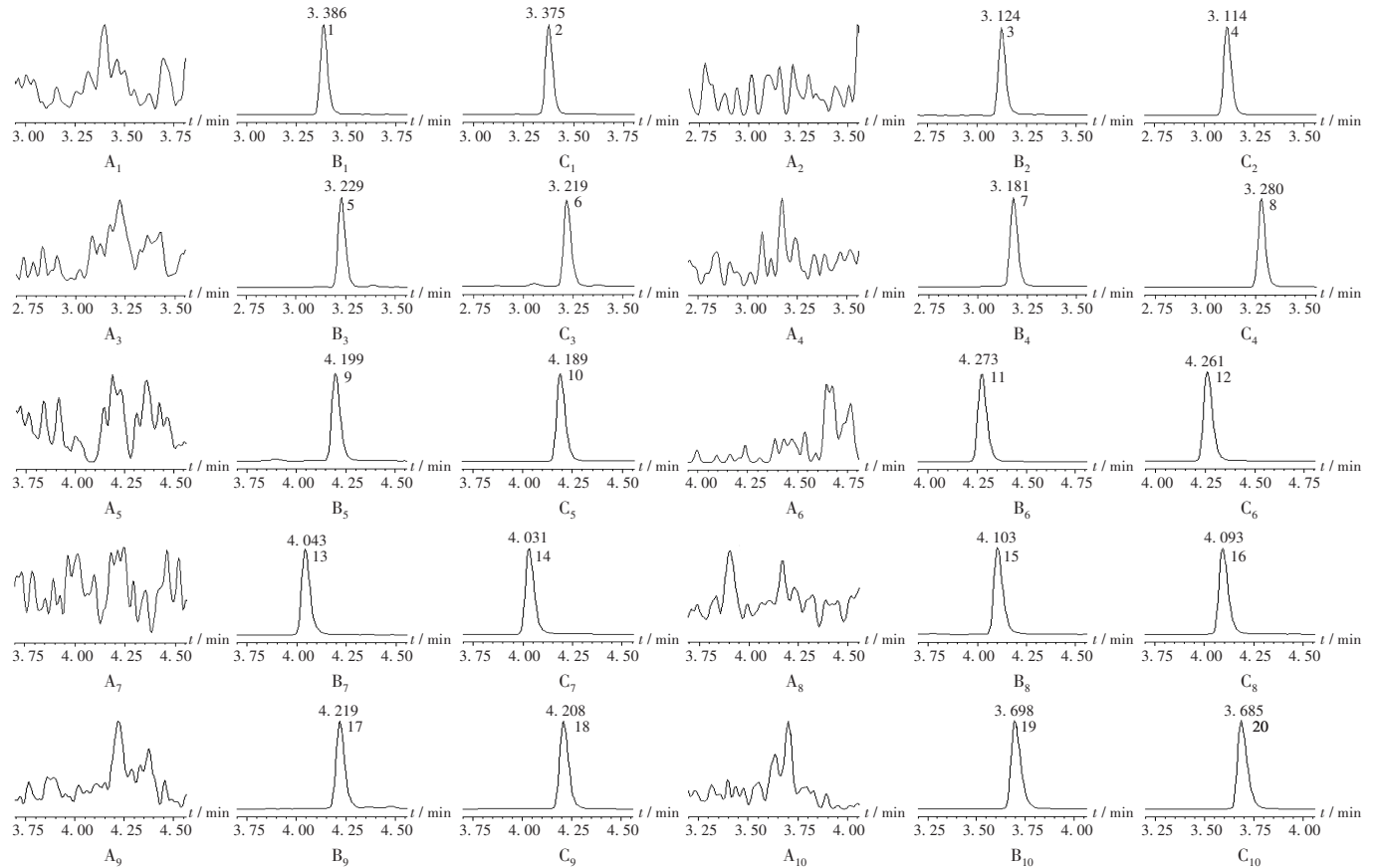
待测药物	混合校准样品溶液								混合质控样品溶液		
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	低	中	高
地西洋	25	50	100	200	400	800	1600	3200	100	500	2500
硝西洋	5	10	20	40	80	160	320	640	50	60	500
奥沙西洋	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	100	800	4000
艾司唑仑	20	40	80	160	320	640	1280	2560	100	500	2000
劳拉西洋	5	10	20	40	80	160	320	640	40	80	500
替马西洋	25	50	100	200	400	800	1600	3200	100	500	2500
溴西洋	5	10	20	40	80	160	320	640	50	120	500
氯硝西洋	2.5	5.0	10.0	20.0	40.0	80.0	160.0	320.0	25	50	250
阿普唑仑	2	4	8	16	32	64	128	256	10	25	200
咪达唑仑	20	40	80	160	320	640	1280	2560	60	1000	2000

样品前处理:取待测血清样品、S1 - S8混合校准样品溶液、混合质控样品溶液(低、中、高质量浓度)各100 μL,分别加混合内标工作液20 μL,混匀,加乙腈400 μL,涡旋1 min,离心(转速为15 000 r/min)5 min,分别取100 μL上清液置96孔板中,待测。

### 2.3 方法学考察<sup>[10-11]</sup>

专属性试验:取空白血清100 μL,平行3份,分别不加分析物和内标、加混合校准工作液、加混合内标工作液,按2.2项下方法对血清样品进行前处理,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果各待测药物及内标的色谱峰明确,检测信号稳定,信噪比高,血清中的内源性物质对待测药物及内标干扰不明显,表明方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察与检测限及定量下限确定:按2.2项下方法制备混合校准样品溶液,按2.1项下试验条件进



1. 地西洋 2. 地西洋 - d5 3. 硝西洋 4. 硝西洋 - d5 5. 奥沙西洋 6. 奥沙西洋 - d5 7. 艾司唑仑 8. 阿戈美拉汀 - d6  
9. 劳拉西洋 10. 劳拉西洋 - d4 11. 替马西洋 12. 替马西洋 - d5 13. 溴西洋 14. 溴西洋 - d4 15. 氯硝西洋 16. 氯硝西洋 - d4  
17. 阿普唑仑 18. 阿普唑仑 - d5 19. 咪达唑仑 20. 咪达唑仑 - d4  
A<sub>1</sub> - A<sub>10</sub>, 空白血清 B<sub>1</sub> - B<sub>10</sub>, 空白血清 + 混合校准工作液 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, 空白血清 + 混合内标工作液

图1 高效液相色谱串联质谱图

1. Diazepam 2. Diazepam - d5 3. Niazepam 4. Niazepam - d5 5. Oxazepam 6. Oxazepam - d5 7. Eszolan 8. Agomelatine - d6 9. Lorazepam 10. Lorazepam - d4 11. Temazepam 12. Temazepam - d5 13. Bromazepam 14. Bromazepam - d4 15. Clonazepam 16. Clonazepam - d4 17. Alprazolam 18. Alprazolam - d5 19. Midazolam 20. Midazolam - d4  
A<sub>1</sub> - A<sub>10</sub>, Blank serum B<sub>1</sub> - B<sub>10</sub>, Blank serum + mixed standard working solution C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, Blank serum + mixed internal standard working solution

Fig. 1 HPLC - MS / MS spectrum

样测定,以质量浓度( $X$ , ng/mL)为横坐标、峰面积与内标峰面积比值( $Y$ )为纵坐标,采用加权( $1/X^2$ )最小二乘法进行线性回归。结果见表2。取空白血清 95  $\mu$ L,加S1混合校准工作液 5  $\mu$ L,混匀,逐步稀释并测定,以信噪比( $S/N$ )  $\geq 3$ 时的质量浓度为检测限,以  $S/N \geq 10$ 时的质量浓度为定量下限。详见表3。

表3 线性关系与定量下限及检测限考察结果

Tab. 3 Results of the linear relationship, LLOQ and LOD

待测成分	回归方程	$R^2$	线性范围 (ng/mL)	定量下限 (ng/mL)	检测限 (ng/mL)
地西洋	$Y = 0.00741994X + 0.02585080$	0.9987	25~3200	25.0	3.1
硝西洋	$Y = 0.00711024X + 0.00321298$	0.9948	5~640	5.0	1.3
奥沙西洋	$Y = 0.01650180X - 0.01085100$	0.9973	40~5120	40.0	2.5
艾司唑仑	$Y = 0.000247776X + 0.00063799$	0.9970	20~2560	20.0	1.3
劳拉西洋	$Y = 0.00300878X + 0.00189776$	0.9996	5~640	5.0	2.5
替马西洋	$Y = 0.00124689X + 0.00059484$	0.9992	25~3200	25.0	1.6
溴西洋	$Y = 0.00218829X + 0.00268614$	0.9984	5~640	5.0	2.5
氯硝西洋	$Y = 0.00623411X + 0.000767402$	0.9984	2.5~320	2.5	1.3
阿普唑仑	$Y = 0.00472449X + 0.00322822$	0.9997	2~256	2.0	0.5
咪达唑仑	$Y = 0.00102591X + 0.00197521$	0.9993	20~2560	20.0	1.3

精密度试验与回收试验:按2.2项下方法分别制备定量下限和低、中、高质量浓度混合质控样品溶液各6份,按2.1项下试验条件进样测定,同一批样品在同1d内各测试6次,连续测试3d;另取低、中、高质量浓度混合质控样品溶液各6份,同法处理,得相应峰面积( $A$ ),另取不同来源的空白血清 95  $\mu$ L,平行6份,不加内标液,同法处理,得空白基质,分别加低、中、高质量浓度混合质控工作液 5  $\mu$ L及混合内标工作液 20  $\mu$ L,混匀 10 s,离心(转速为 15 000 r/min) 5 min,进样测定得测试峰面积( $B$ ),提取回收率( $\%$ ) =  $A/B \times 100\%$ 。结果地西洋、硝西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、劳拉西洋、替马西洋、溴西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、咪达唑仑的提取回收率为 93.22%~106.83%,日内和日间精密度的RSD均小于8%( $n = 18$ )。详见表4。

## 2.4 基质效应

分别取6份不同来源的空白血清各95  $\mu$ L,不加内标液,其余按2.2项下方法处理,即得6个空白基质样品。分别加入低、中、高质量浓度混合质控工作液 5  $\mu$ L及混合内标工作液 20  $\mu$ L,涡旋振荡 10 s,离心(转速为 15 000 r/min) 5 min,取上清液 100  $\mu$ L,按2.1项下试验条件进样测定,得分析物与内标峰面积比值( $MA$ )。另取 95  $\mu$ L 甲醇,平行3份,分别加入低、中、高质量浓度混合质控工作液 5  $\mu$ L、混合内标工作液 20  $\mu$ L和乙腈 400  $\mu$ L,涡旋 10 s,取混合液 100  $\mu$ L,按2.1项下试验条

表4 精密度试验与提取回收试验结果( $n = 18$ )

Tab. 4 Results of the precision test and the recovery test ( $n = 18$ )

待测成分	质量浓度 (ng/mL)	日内精密度		日间精密度		提取回收率( $\%$ )		内标归一化 基质因子 RSD( $\%$ )
		$\bar{X}$ (ng/mL)	RSD ( $\%$ )	$\bar{X}$ (ng/mL)	RSD ( $\%$ )	$\bar{X}$ (ng/mL)	RSD ( $\%$ )	
地西洋	25	22.91	5.65	23.55	5.99			
	100	100.89	2.14	99.85	3.77	102.92	3.29	13.21
	500	524.45	3.24	526.01	3.42	94.49	0.73	10.13
	2500	2652.20	2.12	2647.14	3.19	98.62	1.16	12.68
硝西洋	5	5.03	7.05	4.98	6.76			
	50	53.50	3.61	52.99	2.89	93.22	3.88	4.36
	60	63.92	5.16	61.83	6.13	95.50	1.61	5.81
奥沙西洋	500	540.82	2.55	511.35	5.60	97.55	1.12	8.07
	40	39.57	2.96	39.48	2.71			
	100	98.57	4.35	99.18	4.02	96.98	2.55	5.64
	800	809.93	1.88	815.95	3.55	97.16	0.92	5.48
艾司唑仑	4000	4344.13	3.15	4261.13	4.13	97.17	0.74	8.74
	20	19.98	4.14	19.75	3.81			
	100	108.27	4.03	103.91	4.62	95.83	2.39	2.76
	500	517.65	3.61	495.64	5.23	96.44	1.06	0.93
劳拉西洋	2000	2197.02	1.98	2013.50	7.73	96.34	0.27	2.05
	5	4.90	5.50	4.95	4.83			
	40	38.99	2.66	38.52	3.52	103.27	4.38	2.45
	80	80.16	1.50	80.50	2.10	99.53	2.43	3.97
替马西洋	500	529.20	1.98	530.02	3.07	98.70	0.96	2.69
	25	24.57	1.31	24.65	1.14			
	100	94.17	3.23	91.46	3.61	102.04	1.61	1.69
	500	517.82	1.28	502.49	2.57	99.26	0.73	1.01
溴西洋	2500	2637.38	2.67	2549.45	4.23	98.59	1.09	0.71
	5	4.95	6.06	4.93	5.33			
	50	50.89	3.31	50.91	3.37	99.44	4.90	4.56
	120	123.77	2.47	124.63	2.01	99.27	1.86	1.36
氯硝西洋	500	506.94	2.45	506.48	3.01	98.89	0.79	1.54
	2.5	2.39	1.75	2.42	2.22			
	25.0	26.68	2.92	26.11	3.55	102.01	3.32	3.82
	50.0	54.08	2.63	54.43	3.07	100.28	1.27	4.39
阿普唑仑	250.0	220.65	2.85	222.88	3.25	98.53	1.68	1.95
	2	1.84	6.13	1.89	6.33			
	10	10.47	0.96	10.56	2.60	106.83	3.31	4.39
	25	24.65	2.32	24.93	3.18	98.62	1.93	2.93
咪达唑仑	200	199.26	2.37	201.63	2.55	98.61	0.51	0.59
	20	17.55	2.30	18.26	6.15			
	60	55.04	3.77	54.55	3.10	104.62	4.00	4.71
	1000	1030.19	1.47	1015.58	1.83	99.70	1.24	4.78
	2000	1949.91	2.98	1938.87	2.68	99.65	0.91	4.04

件进样测定,得分析物与内标峰面积比值( $MB$ )。基质效应( $\%$ ) =  $MA/MB \times 100\%$ 。按色谱峰面积计算地西洋、

硝西泮、奥沙西泮、艾司唑仑、劳拉西泮、替马西泮、溴西泮、氯硝西泮、阿普唑仑、咪达唑仑的含量,其RSD均小于15%( $n=6$ ),在使用同位素内标的条件下,基质效应对测定结果影响不明显,表明方法稳定性良好。

稳定性试验:按2.2项下方法制备低、中、高质量浓度混合质控样品,分别于室温放置24 h、室温与 $-80^{\circ}\text{C}$ 反复冻融5次、 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存1个月,按2.1项下试验条件进样测定,考察质控样品溶液的稳定性。结果上述储存条件下的含量均在85%~115%范围内,结果的RSD均小于15%( $n=3$ ),表明血清质控样品溶液放置稳定性和反复冻融稳定性均良好。

### 2.5 临床应用

收集我院长期服用BZD的122例患者的血清(劳拉西泮39例,阿普唑仑35例,氯硝西泮21例,奥沙西泮13例,地西泮7例,艾司唑仑3例,未知4例),按2.1项下试验条件进样测定。结果质量浓度分别为9.85~69.54 ng/mL、2.48~27.02 ng/mL、12.06~55.11 ng/mL、46.61~1024.14 ng/mL、25.42~774.45 ng/mL、35.91~53.30 ng/mL,4例未检出本研究中所述BZD。参照《2017版神经精神药理学治疗药物监测共识指南》<sup>[12]</sup>(AGNP),有34例患者血清中BZD质量浓度低于药物治疗参考浓度,未发现超出药物治疗参考浓度的病例。

### 3 讨论

本研究中建立的同时测定人血清中10种BZD(地西泮、硝西泮、奥沙西泮、艾司唑仑、劳拉西泮、替马西泮、溴西泮、氯硝西泮、阿普唑仑、咪达唑仑)质量浓度的HPLC-MS/MS法,可用于临床测定BZD的种类及血药浓度。采用乙腈蛋白沉淀法处理样本,操作简单、处理效率高,整个样本处理与检测过程可在30 min内完成<sup>[13-14]</sup>。本研究中采用保留时间与离子相对丰度比相结合的双重标准进行鉴定,若待测样本色谱峰保留时间与标准品的RSD小于2.5%,且指定离子对的相对丰度比值在规定误差范围内,则判定为检出,较仅依靠保留时间鉴定更准确。采用MRM扫描方式同时监测前体离子与产物离子,提高了方法的专属性与S/N。同时,与文献<sup>[15-16]</sup>比较,除艾司唑仑使用阿戈美拉汀-d6作为内标外,其余药物均使用同位素内标,显著提升了定量的准确性。本方法检测限为0.5~3.1 ng/mL,定量下限为2.0~40.0 ng/mL,可满足临床低质量浓度样本检测需求。此外,与刑侦或司法毒物鉴定不同,本方法线性范围覆盖中毒或致死浓度,设置了较宽的检测浓度范围,以满足临床需求。纳入122例临床样本的检测结果显示,4例未检出药物,34例药物质量浓度低

于AGNP推荐的治疗参考浓度范围,表明本方法也可用于BZD服药患者的依从性管理及血药浓度监测。

### 参考文献

- [1] 刘铁桥,司天梅,张朝辉,等. 苯二氮䓬类药物临床使用专家共识[J]. 中国药物滥用防治杂志,2017,23(1):4-6.
- [2] 刘思琦,徐静宜,周姝含,等. 苯二氮䓬类镇静催眠药的分析检测及代谢研究进展[J]. 广东化工,2023,50(9):199-202.
- [3] 王志民. 长期大量使用苯二氮䓬类药物引起的不良反应分析[J]. 中国药物滥用防治杂志,2021,27(3):341-344.
- [4] 刘彩萍,黄晶晶,李华芳. 苯二氮䓬类药物暴露与精神分裂症患者认知功能损害的关联研究进展[J]. 精神医学杂志,2022,35(3):328-331.
- [5] 赵杰,吴政霖,洪武,等. 苯二氮䓬类药物在抑郁障碍中使用现状[J]. 中国神经精神疾病杂志,2019,45(2):120-124.
- [6] 黄丽婷,汤在祥,白璐,等. 基于FAERS数据库的苯二氮䓬类药物的不良反应分析[J]. 中国药物警戒,2022,19(11):1223-1227.
- [7] 毕重文,张佳成,杨丽,等. UPLC-MS/MS快速检测人血浆中7种苯二氮卓类药物及其临床应用[J]. 中国医院药学杂志,2019,39(15):1537-1542.
- [8] 熊周芳,涂凤莲,汪元符. 液质联用法检测苯二氮卓类药物的临床应用[J]. 江西中医药大学学报,2018,30(3):80-86.
- [9] 柯浩堃,吕赛男,郝红霞,等. 苯二氮卓类化合物的检测方法研究进展[J]. 分析试验室,2020,39(9):1110-1116.
- [10] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证[J]. 检验医学,2019,34(3):189-196.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:363-367.
- [12] HIEMKE C, BERGEMANN N, CLEMENT HW, et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: update 2017 [J]. Pharmacopsychiatry, 2018, 51(1/2):9-62.
- [13] PATTEET L, MAUDENS KE, SABBE B, et al. High throughput identification and quantification of 16 antipsychotics and 8 major metabolites in serum using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Clin Chim Acta, 2014, 429:51-58.
- [14] 陈晓兵,李慧文,戴欣成,等. 苯二氮䓬类药物检测提取技术的研究进展[J]. 中国药物滥用防治杂志,2023,29(7):1120-1124.
- [15] 胡骏杰,刘飞,马文俊,等. 高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱法检测血液中8种苯二氮䓬类药物[J]. 分析测试学报,2021,40(4):577-582.
- [16] 王朝虹,张琳,赵蒙,等. 超高效液相色谱-质谱定量测定全血中的13种苯二氮䓬类安眠镇静药物[J]. 刑事技术,2016,41(1):46-49.

(收稿日期:2024-10-23;修回日期:2025-11-17)