

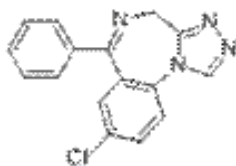
超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定安眠药中的艾司唑仑

LCMSMS-016

摘要：艾司唑仑(estazolam)是一种苯二氮卓类抗焦虑药，直接作用于中枢神经系统，对不同部位产生抑制。艾司唑仑属于国家管制类药品，由于其安眠效果好、作用快、给药剂量低，故常被一些不法分子滥用。本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定安眠药中艾司唑仑含量的方法。艾司唑仑在0.5~1000 µg/L浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为0.9999以上；精密度实验结果显示，连续6次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在0.16%和2.05%以下，系统精密度良好。

关键词：艾司唑仑 三重四极杆质谱 超高效液相色谱

艾司唑仑(estazolam)又称舒乐安定，是一种苯二氮卓类抗焦虑药，作为精神药品它是可能被用作毒品的来源之一。化学结构式如下，



由于艾司唑仑的中枢抑制作用，过量服用后会出现持续的精神紊乱、嗜睡、心动过缓、呼吸困难、严重肌无力等临床症状。艾司唑仑属于《中华人民共和国精神药品品种目录》中第二类管制精神药品，同时也是农业部禁止在饲料和动物饮用水中使用的精神药物之一。

目前，建立针对艾司唑仑的简单、便捷、灵敏的检测方法非常必要。岛津超高效液相色谱(UHPLC)LC-30A采用填料粒径1.6 µm的色谱柱，全面提升了分离效率、峰容量和灵敏度，结合岛津LCMS-8030三重四极杆质谱仪，可以对目标化合物进行快速、灵敏的分析。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A与三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用系统。具体配置为LC-30AD×2(输液泵)，DGU-20A5(在线脱气机)，SIL-30AC(自动进样器)，CTO-30AC(柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-8030(三重四极杆质谱仪)，LabSolutions Ver. 5.41(色谱工作站)。

1.1 仪器

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III

2.0 mm I.D.× 50 mm L., 1.6 µm

流动相：A相-0.1%甲酸水溶液

B相-乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：40℃

进样量：10 µL

洗脱方式：梯度洗脱，时间程序见表1

表1 梯度洗脱时间程序

Time	Module	Action	Value(%)
0.01	Pumps	B.Conc	40
0.50	Pumps	B.Conc	100
0.80	Pumps	B.Conc	100
0.81	Pumps	B.Conc	40
2.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI(+)

离子喷雾电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

DL温度: 250 C

加热模块温度: 400 C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 ms

延迟时间: 3 ms

MRM参数: 见表2

1.3 标准品溶液的配制

取艾司唑仑片1片(1片含艾司唑仑1 mg)用甲醇于5 mL容量瓶定容, 用0.22 μm滤膜过滤, 制得0.2 mg/mL艾司唑仑溶液。将其作为艾司唑仑标准溶液母液, 用流动相(乙腈/0.1%甲酸水溶液=65/35, V/V)稀释成0.5、1、5、10、50、100、500、1000 ng/mL 8个不同浓度的标准工作液。

表2 MRM 参数列表

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
艾司唑仑	295.10	267.05	-15	-25	-20
		205.05*	-15	-45	-24

注: *表示定性离子

结果与讨论

2.1 标准工作液的色谱图

10 ng/mL的标准工作液色谱图如图1和图2所示, 本实验中以m/z 267.05的产物离子的峰面积做定量分析。

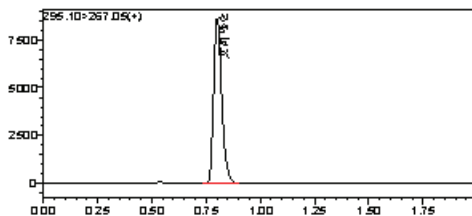


图1 10 ng/mL的艾司唑仑色谱图(295.10>267.05)

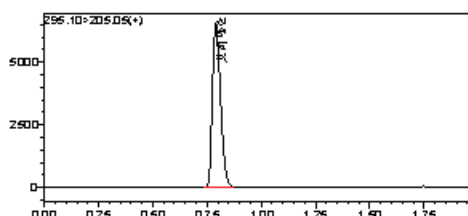


图2 10 ng/mL的艾司唑仑色谱图(295.10>205.05)

2.2 线性关系

将浓度为0.5、1、5、10、50、100、500和1000 ng/mL的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。

所得校准曲线如图3所示，线性关系良好，线性相关系数 $r^2=0.9999$ 。

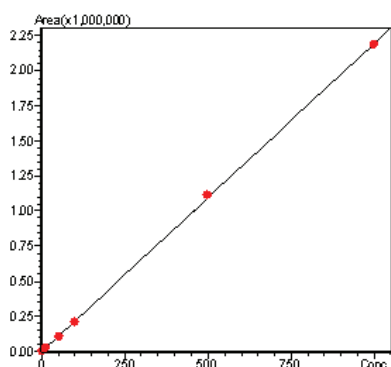


图3 艾司唑仑的标准曲线

2.3 精密度实验

分别对1 ng/mL、50 ng/mL、500 ng/mL三个不同浓度的标准工作液连续测定6次，考察方法的精密度，保留时间和峰面积的重现性结果如表3所示，重复性良好。

表3 艾司唑仑的重复性数据(n=6)

Conc. (ng/mL)	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	0.15	2.05
50	0.16	0.70
500	0.16	0.83

2.4 灵敏度实验

将低浓度0.5 ng/mL的标准工作液连续测定6次，考察方法灵敏度。0.5 ng/mL标准工作液的色谱图如图4、图5所示。其信噪比结果如表4所示。

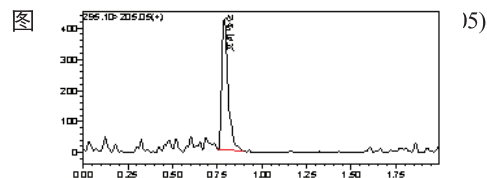
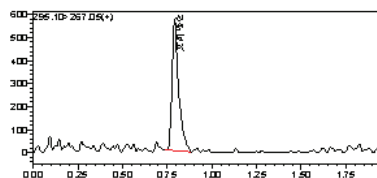


图5 0.5 ng/mL的艾司唑仑色谱图(295.10>205.05)

表4 艾司唑仑(295.10>267.05)信噪比数据

n	信噪比(S/N)
1	13.59
2	16.11
3	12.67
4	15.56
5	16.29
6	17.23
平均值	15.24

2.5 实际样品分析结果

实际样品艾司唑仑片按1.3中方法前处理，进行分析。按2.2中标准曲线方程计算得艾司唑仑浓度为55.847 ng/mL，最终测得实际样品中艾司唑仑含量为1.11 mg/片。

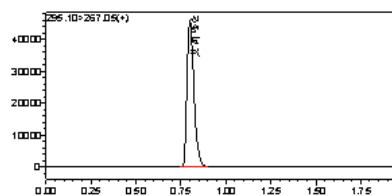


图6 实际样品艾司唑仑浓度为55.847 ng/mL的色谱图(295.10>267.05)

结论

使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用建立了安眠药片中艾司唑仑的定量分析方法。本实验中标准工作液母液由艾司唑仑片中提取，分析方法速度快，精密度高，灵敏度高，线性范围宽(0.5~1000 ng/mL)，校准曲线的相关系数在0.9999以上，检测限为0.10 ng/mL，定量限为0.33 ng/mL。可以满足药片中艾司唑仑含量的检测要求。