

doi: 10.12452/j.fxcxb.25101401

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱 同时测定唾液中18种新型苯二氮卓类药物

李想¹, 林嘉宇², 朱昱^{1*}, 许英健¹

(1. 中国刑事警察学院 刑事科学技术学院, 辽宁 沈阳 110854; 2. 甘肃省公安厅 刑事侦查总队刑事技术支队, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 该文建立了一种基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q/Orbitrap HRMS)测定唾液中18种新型苯二氮卓类物质的检测方法, 对色谱、质谱条件和前处理方法进行优化, 并对质谱特征峰归属进行分析。使用乙腈沉淀蛋白法处理唾液样本, 在平行反应监测模式下, 采用内标法定量。该方法可在8 min内完成检测。18种待测物质在各自的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 $r^2 \geq 0.9990$, 检出限为0.009~0.36 ng/mL, 定量下限为0.03~1.20 ng/mL。在2、10、50 ng/mL 3个加标水平下, 18种待测物质的回收率为89.2%~104%, 日内精密度的1.1%~8.7%, 日间精密度的1.6%~9.8%。该方法具有检验速度快、灵敏度高优点, 可实现唾液样本中18种新型苯二氮卓类物质的分析, 为相关检测提供参考依据。

关键词: 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 唾液; 新型苯二氮卓类药物; 沉淀蛋白法

中图分类号: O657.7; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)04-0893-07

Simultaneous Determination of 18 New Benzodiazepines in Saliva by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Quadrupole/ Orbitrap Mass Spectrometry

LI Xiang¹, LIN Jia-yu², ZHU Yu^{1*}, XU Ying-jian¹

(1. College of Criminal Science and Technology, Criminal Investigation Police University of China, Shenyang 110854, China; 2. Criminal Investigation Bureau Criminal Technology Branch, Public Security Department of Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

Abstract: The abuse of new benzodiazepines may lead to dependence, withdrawal reactions, and various health hazards. Saliva collection is not limited by location, making it suitable for various application scenarios such as drug-impaired driving sites. To evaluate the abuse of new benzodiazepines, this paper proposes a method for the determination of 18 new benzodiazepines in saliva based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap mass spectrometry (UPLC-Q/Orbitrap HRMS). The chromatographic conditions, mass spectrometry parameters and pretreatment methods were optimized, and the attribution of mass spectral characteristic peaks was analyzed. Saliva samples were treated using an acetonitrile protein precipitation method and quantified by an internal standard method under parallel reaction monitoring mode. The experimental results showed that 18 new benzodiazepines were detected within 8 min. The calibration curves for the 18 NBZs exhibited good linearity in their respective mass concentration ranges, with correlation coefficients $r^2 \geq 0.9990$. The limits of detection ranged from 0.009 to 0.36 ng/mL, and the limits of quantitation ranged from 0.03 to 1.20 ng/mL. At three spiked levels of 2, 10 and 50 ng/mL, the recoveries of 18 new benzodiazepines ranged from 89.2% to 104%. The intra-day precisions ranged from 1.1% to 8.7%, and the inter-day precisions ranged from 1.6% to 9.8%. This method offers the advantages of high speed and high sensitivity. It can be used for qualitative and quantitative analysis of 18 new benzodiazepines in saliva samples to meet relevant identification requirements, providing a reliable reference

收稿日期: 2025-10-14; 修回日期: 2025-11-28

基金项目: 辽宁省教育厅高校基本科研项目(LJ212410175012); 公安部技术研究计划项目(2024JSYC08); 辽宁省科技厅重点研发项目(民生科技类)(2024JH2/102500083)

* 通讯作者: 朱昱, 教授, 研究方向: 毒品毒物分析, E-mail: zhuyu@cipuc.edu.cn

网络首发日期: 2026-02-06

for the detection of such substances in saliva.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography–quadrupole/orbitrap mass spectrometry; saliva; new benzodiazepines; protein precipitation method

苯二氮卓类药物用于治疗焦虑、失眠、癫痫及肌肉痉挛等疾病,但可能被患者滥用或非法用于娱乐目的^[1]。新型苯二氮卓类药物正被越来越多地引入娱乐药物市场^[2]。近十年,我国对9种新型苯二氮卓类药物进行列管,包括芬纳西洋、瑞玛唑仑、科纳唑仑、二氯西洋、氟阿普唑仑、氟溴唑仑、依替唑仑、氟溴西洋、波玛唑仑^[3]。2024年我国对氟溴西洋、波玛唑仑进行列管。但仍有相当数量的该类物质未被列管,且新型苯二氮卓类药物数量持续增加。2017年起出现Fluclotizolam的滥用现象,其镇静安定的效果强于当年发现的其他新型苯二氮卓类药物^[4]。健康受试者服用10 mg阿地唑仑可导致镇静、精神运动障碍和记忆障碍^[5]。2 mg去氯依替唑仑与10 mg地西洋具有相似效力,其生理效应包括镇静、呼吸抑制等,认知效应涉及遗忘、焦虑抑制、思维减缓^[6]。综上,分析实验室亟需发展不同检材中新型苯二氮卓类药物的检测方法。

口腔分泌物由龈沟液与腮腺、下颌下腺和其他小唾液腺的分泌物组成。唾液腺可分泌唾液,唾液中含有水、酶、胆固醇、蛋白质和电解质等^[7]。健康成人每天产生约0.75~1 L唾液,pH值为6.2~7.4^[8]。唾液的pH值低于血液,而苯二氮卓类药物呈碱性,能与酸形成盐,因此其在唾液中的浓度高于血液^[9]。唾液检测窗口为12~24 h^[10],与血液相似^[11-12],但唾液的采集过程更简单,无需专业医疗技术和设备。且唾液样本较尿液样本掺假风险更低,更能反映近期服用药物情况^[13-14]。作为非侵入性检材,唾液取样快速、容易、不受场地限制,更适合毒驾现场采样。

唾液中苯二氮卓类药物的检验方法主要为液相色谱–质谱联用法^[15-24],该法兼具液相色谱的分离能力和质谱的鉴定能力,具有高效、灵敏、准确等优势。熊周芳等^[15]利用QuEChERS前处理方法结合超高效液相色谱–质谱联用仪分析全血、尿液、唾液中9种苯二氮卓类药物,检出限为0.5 ng/mL,加标回收率为86.0%~98.2%。吴东星等^[16]采用超高效液相色谱–串联质谱检测唾液中奥沙西洋,志愿者服药12 h内唾液中可检出奥沙西洋。Brigitte等^[17]采用液质联用法检测唾液中92种目标物,提高了7种苯二氮卓类药物的稳定性。Joakim等^[18]基于盐析辅助液–液萃取(SALLE),结合高效液相色谱–串联质谱方法对37种药物进行筛选和确认,方法检出限为0.001~0.03 ng/mL,该方法已成功用于每月约100万份样品的常规分析。Patricia等^[19]采用固相微萃取(SPME)结合液相色谱–质谱联用法从口腔液体中提取检测安非他明、阿片类药物、苯二氮卓类药物和大麻素等22种药物,回收率为68%~120%,相对标准偏差(RSD)小于10%。Sarah等^[20]利用液相色谱–飞行时间质谱方法对事故发生后2 h 25 min和9 h 19 min采集的唾液和血液样本进行检验,氟溴西洋浓度为2 ng/mL,低于定量限。现有方法多集中在奥沙西洋等常见苯二氮卓类药物,对新列管和未被列管的新型苯二氮卓类药物覆盖不足。目前,唾液中阿地唑仑、苯他西洋、瑞玛唑仑、去氯依替唑仑、Fluclotizolam、氟阿普唑仑、氟溴唑仑、波玛唑仑、科纳唑仑、去甲依替唑仑、芬纳唑仑、氟溴西洋、依替唑仑、甲基氯硝西洋、4'-氯地西洋均无相关报道,且利用超高效液相色谱–四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC–Q/Orbitrap HRMS)进行检测的研究也未见报道。UPLC–Q/Orbitrap HRMS具有快速扫描、高分辨率、精确质量测定优势,依此构建的方法检出限更低,可满足体内检材中微量物质的检验需求。

本研究采用UPLC–Q/Orbitrap HRMS建立了唾液中18种新型苯二氮卓类物质的检测方法。该方法前处理简单、检验快速、准确性高,能够同时对新型苯二氮卓类药物进行定性定量分析,可为执法工作提供技术支撑和参考数据。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Ulti Mate 3000 高效液相色谱仪–四极杆/轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); XSR 电子天平(精度 0.000 01 g, 瑞士 Mettler 公司); HC-3018R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳公司); Vortex dancer I 旋涡混合器(美国 Scientific Industries 公司); Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯, 美国 Thermo Fisher 公司); 阿地唑仑、苯他西洋、瑞玛唑仑、科纳唑

仑、N-去甲基氟硝西洋、去氯依替唑仑、Fluclozepam、氟阿普唑仑、氟溴唑仑、波玛唑仑、去甲依替唑仑、芬纳唑仑、氟溴西洋、依替唑仑、甲基氯硝西洋、芬纳西洋、二氯西洋、4'-氯地西洋、地西洋-D₅标准品,纯度均大于99.0%,Cerilliant公司;实验用水为超纯水;空白唾液由实验室健康志愿者提供。

1.2 标准溶液配制

标准储备液:分别准确称取18种标准物质1 mg(精确至0.000 01 g),用甲醇溶解定容至10 mL容量瓶中,配制成质量浓度为0.1 mg/mL的标准储备液。

内标储备液:准确称取地西洋-D₅标准物质1 mg(精确至0.000 01 g),用甲醇溶解定容至10 mL容量瓶中,配制成质量浓度为0.1 mg/mL的内标储备液。

唾液系列工作溶液:移取适量0.1 mg/mL的18种标准物质储备液,用甲醇逐级稀释,配制成质量浓度为1 μg/mL和10 ng/mL的混合标准中间液;移取适量0.1 mg/mL的内标储备液,用甲醇逐级稀释,配制成质量浓度为1 μg/mL的内标中间液;空白唾液添加适量混合标准中间液和内标中间液,配制成含有2.0 ng/mL内标物的质量浓度为0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、10、50 ng/mL的唾液系列工作溶液。

1.3 样本前处理

量取0.5 mL唾液样本置于离心试管,加入1.5 mL乙腈,旋涡混匀,8 000 r/min离心5 min,将上清液过0.22 μm滤膜备检。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱Hypersil Gold Vanquish(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm);柱温:35 °C;进样量10 μL;流动相A为0.1%甲酸水,B为0.1%甲酸乙腈,梯度洗脱程序:0~4.0 min,60% B;4.0~7.0 min,60%~35% B;7.0~8.0 min,35%~5% B;8.0~9.0 min,5%~60% B。

1.4.2 质谱条件 可加热电喷雾电离源(HESI),正离子扫描模式;扫描范围: m/z 50~600;离子传输管温度:350 °C;离子源温度:320 °C;鞘气:4 MPa;辅助气:1 MPa;阶梯碰撞能量:40、50、60 eV。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

比较了Hypersil Gold Vanquish(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)和Hypersil Gold(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)色谱柱的分离效果。结果显示,Hypersil Gold Vanquish色谱柱在复杂基质中分离性能更好,尤其对二氯西洋、4'-氯地西洋同分异构体的分离效果显著,因此采用该色谱柱分析唾液中的18种新型苯二氮卓类药物。

考察了甲醇和乙腈作为流动相的洗脱效果。以乙腈-水为流动相时,内标物地西洋-D₅及18种新型苯二氮卓类药物具有更好的响应。酸性环境有利于提高质子化效率,以0.1%甲酸水和0.1%甲酸乙腈进行梯度洗脱时,目标物的色谱峰形更好。因此,选择0.1%甲酸水和0.1%甲酸乙腈作为流动相。18种新型苯二氮卓类药物及内标的色谱图见图1。

2.2 质谱条件的优化

平行反应监测(PRM)模式不仅能选择母离子和子离子对,还可同时监测多个碎片离子反应,提升信息量和选择性。在高分辨率、高质量精度的全扫描模式下获取所有碎片离子,通过一级、二级质谱的碎片离子信息和精确质量数进行定性筛查。PRM模式在低浓度分析时基线噪声更低。因此,本文采用PRM扫描模式,优化离子源温度、鞘气、辅助气、梯度碰撞能量(NCE)使测定响应达到最大,最佳质谱条件如表1所示。

2.3 前处理条件的优化

本文采用蛋白沉淀法对唾液样本中的新型苯二氮卓类药物进行前处理。分别考察了甲醇、乙腈提取和去蛋白的效果,发现乙腈的沉淀蛋白率高于甲醇,而唾液主要成分是水,选择乙腈作为沉淀试剂更有利于蛋白沉淀凝结。进一步考察了唾液样本与乙腈的体积比为1:2、1:3、1:4时的沉淀效果及回收率,发现唾液样本与乙腈体积比为1:3时,蛋白沉淀完全且目标物回收率最高。因此,本文采用乙腈作为沉淀试剂。

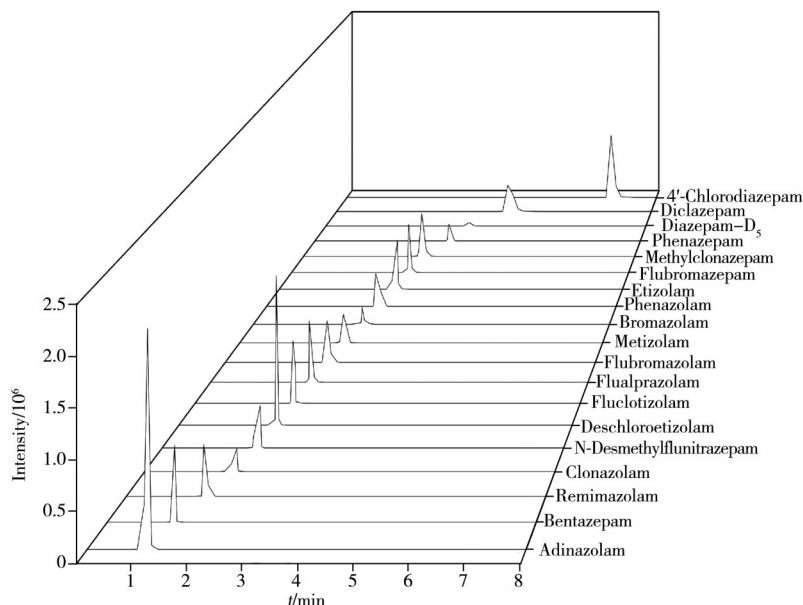


图 1 18 种新型苯二氮卓类物质及内标的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of 18 new benzodiazepines and internal standard

表 1 18 种新型苯二氮卓类物质及内标的分子式、质谱参数及二级质谱特征峰归属

Table 1 Molecular formulas and MS parameters of 18 new benzodiazepines and internal standard

No.	Compound	t_R / min	Molecular for- mula	Theoretical parent ion (m/z)	Actual par- ent ion (m/z)	Mass preci- sion ($\times 10^{-6}$)	Product ion (m/z)	Attribution of characteristic peak in MS ²
1	Adinazolam (阿地唑仑)	1.13	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₅	352.13235	352.13141	-2.6695	58.06597* 100.11247	[(M+H)-Cl-C ₁₅ H ₉ N ₂ -CH ₂ N=NH] ⁺ [(M+H)-Cl-C ₁₅ H ₉ N ₂] ⁺
2	Bentazepam (苯他西洋)	1.29	C ₁₇ H ₁₆ N ₂ OS	297.10561	297.10571	0.3366	166.06850* 269.11041	[(M+H)-CO-C ₇ H ₅ N] ⁺ [(M+H)-CO] ⁺
3	Remimazolam (瑞玛唑仑)	1.51	C ₂₁ H ₁₉ BrN ₄ O ₂	439.07642	439.07559	-1.8903	362.02817* 390.02310	[(M+H)-C ₆ H ₅] ⁺ [(M+H)-HOCH ₂ -OH] ⁺
4	Clonazolam (科纳唑仑)	1.83	C ₁₇ H ₁₂ ClN ₅ O ₂	354.07523	354.07477	-1.2992	340.07150* 308.08170	[(M+H)-CH ₂] ⁺ [(M+H)-NO ₂] ⁺
5	N-Desmethylflunitrazepam (N-去甲基氟硝西洋)	1.99	C ₁₅ H ₁₀ FN ₃ O ₃	300.07790	300.07718	-2.3994	286.07419* 254.08426	[(M+H)-CH ₂] ⁺ [(M+H)-NO ₂] ⁺
6	Deschloroetizolam (去氯依替唑仑)	2.01	C ₁₇ H ₁₆ N ₄ S	309.11684	309.11621	-2.0381	255.09454* 280.07718	[(M+H)-N ₂ -C ₂ H ₂] ⁺ [(M+H)-CH ₃ -CH ₂] ⁺
7	Fluclozizolam	2.06	C ₁₅ H ₁₀ ClFN ₄ S	333.03715	333.03668	-1.4113	298.06802* 279.01551	[(M+H)-Cl] ⁺ [(M+H)-N ₂ -C ₂ H ₂] ⁺
8	Flualprazolam (氟阿普唑仑)	2.12	C ₁₇ H ₁₂ ClFN ₄	327.08073	327.08038	-1.0701	292.11130* 299.06149	[(M+H)-Cl] ⁺ [(M+H)-N ₂] ⁺
9	Flubromazolam (氟溴唑仑)	2.23	C ₁₇ H ₁₂ BrFN ₄	371.03021	371.02972	-1.3207	292.11133* 343.01080	[(M+H)-Br] ⁺ [(M+H)-N ₂] ⁺
10	Metizolam (去甲依替唑仑)	2.32	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₄ S	329.06222	329.06042	0.6078	275.04001* 300.02258	[(M+H)-N ₂ -C ₂ H ₂] ⁺ [(M+H)-CH ₃ -CH ₂] ⁺
11	Bromazolam (波玛唑仑)	2.48	C ₁₇ H ₁₃ BrN ₄	353.03964	353.03943	-0.5948	325.02051* 274.12091	[(M+H)-CH=NH] ⁺ [(M+H)-Br] ⁺
12	Phenazolam (芬纳唑仑)	2.53	C ₁₇ H ₁₂ BrClN ₄	387.00066	387.00092	0.6718	308.08173* 358.98117	[(M+H)-Br] ⁺ [(M+H)-CH=NH] ⁺
13	Etizolam (依替唑仑)	2.78	C ₁₇ H ₁₅ ClN ₄ S	343.07787	343.07739	-1.3991	314.03833* 206.07451	[(M+H)-CH ₃ -CH ₂] ⁺ [(M+H)-C ₇ H ₄ ClN] ⁺
14	Flubromazepam (氟溴西洋)	2.81	C ₁₅ H ₁₀ BrFN ₂ O	333.00333	333.00272	-1.8318	226.08972* 183.97537	[(M+H)-CO-Br] ⁺ [(M+H)-CO-C ₇ H ₄ FN] ⁺
15	Methylclonazepam (甲基氯硝西洋)	2.89	C ₁₆ H ₁₂ ClN ₅ O ₃	330.06400	330.06424	0.7271	316.06018* 284.07028	[(M+H)-CH ₂] ⁺ [(M+H)-NO ₂] ⁺
16	Phenazepam (芬纳西洋)	3.32	C ₁₅ H ₁₀ BrClN ₂ O	348.97378	348.97339	-1.1176	206.08360* 183.97540	[(M+H)-Cl-Br-CO] ⁺ [(M+H)-CO-C ₇ H ₄ ClN] ⁺
17	Diazepam-D ₅ (地西洋-D ₅)	3.62	C ₁₆ H ₈ ClD ₅ N ₂ O	290.11030	290.10995	-1.2064	198.11955* 154.04153	[(M+H)-Cl-CO-CH ₂ =NH] ⁺ [(M+H)-CO-CN-C ₆ D ₅] ⁺

(续表1)

No.	Compound	t_R / min	Molecular for- mula	Theoretical parent ion (m/z)	Actual par- ent ion (m/z)	Mass preci- sion ($\times 10^{-6}$)	Product ion (m/z)	Attribution of characteristic peak in MS^2
18	Diclazepam (二氯地西洋)	4.39	$C_{16}H_{12}Cl_2N_2O$	319.039 94	319.039 43	-1.598 6	154.041 66* 227.049 26	$[(M+H)-CO-Cl-C_7H_4ClN]^+$ $[(M+H)-CO-Cl-HCN-H_2]^+$
19	4'-Chlorodiazepam (4'-氯地西洋)	6.86	$C_{16}H_{12}Cl_2N_2O$	319.039 94	319.039 43	-1.598 6	154.041 61* 227.049 19	$[(M+H)-CO-Cl-C_7H_4ClN]^+$ $[(M+H)-CO-Cl-HCN-H_2]^+$

*quantitative ion

2.4 质谱特征峰归属

新型苯二氮卓类药物包括1, 4-苯二氮卓类、三唑苯二氮卓类、噁吩三唑二氮卓类、噁吩二氮卓类4种。1, 4-苯二氮卓类为含有七元亚胺内酰胺环和苯环的三元环化合物, 三唑苯二氮卓类为含有三唑环、七元亚胺内酰胺环和苯环的四元环化合物, 噁吩三唑二氮卓类为含有噁吩环、三唑环、七元亚胺内酰胺环和苯环的四元环化合物, 噁吩二氮卓类为含有噁吩环、七元亚胺内酰胺环和苯环的三元环化合物。新型苯二氮卓类物质的裂解途径主要为: 七元亚胺内酰胺环的裂解、三唑环的裂解以及噁吩环、苯环、三唑环的断裂。1, 4-苯二氮卓类物质的二氮杂环失去: CH_2 形成6原子构型以及脱去苯环上的自由基; 三唑苯二氮卓类物质脱去三唑环上的自由基以及三唑环裂解脱去1个中性 N_2 分子; 噁吩三唑二氮卓类物质脱去噁吩环上的自由基以及三唑环裂解脱去1个中性 N_2 分子; 噁吩二氮卓类物质七元亚胺内酰胺环断裂脱去CO以及七元亚胺内酰胺环断裂·CHO自由基。18种新型苯二氮卓类物质的二级质谱特征峰归属见表1, 化学结构式见图2。

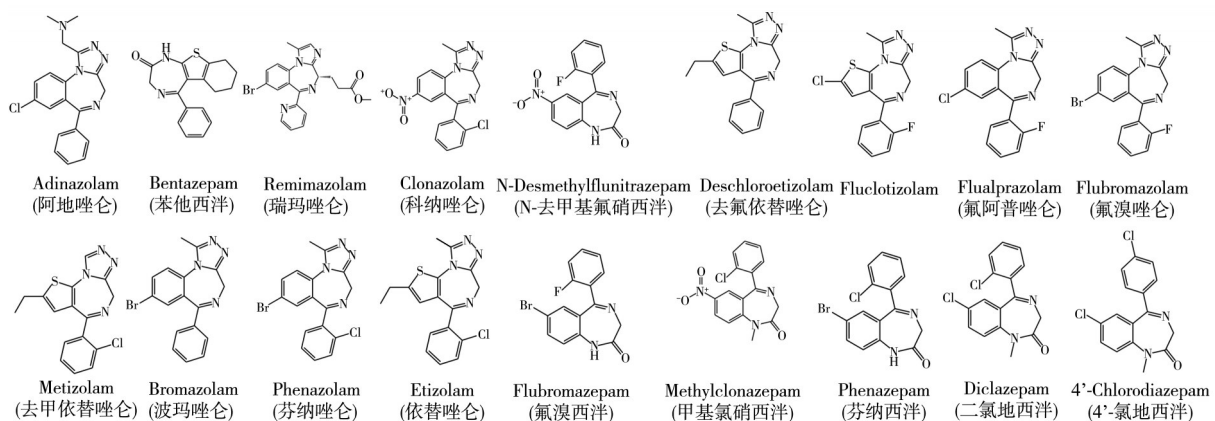


图2 18种新型苯二氮卓类物质的化学结构式

Fig. 2 Chemical structural formulas of 18 new benzodiazepines

2.5 基质效应

基质效应是指样品基质对目标物离子化效应的影响, 表现为响应信号的增强或抑制。实验选取不含目标物的唾液样品, 按照“1.3”方法前处理, 得到空白基质提取液, 配制系列基质匹配标准溶液, 并以甲醇为溶剂配制系列溶剂标准溶液。按下式计算基质效应: $ME = (\text{基质匹配标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率} - 1) \times 100\%$, ME在 $\pm 20\%$ 范围内表明基质效应弱。结果显示, 唾液中18种新型苯二氮卓类物质的ME为 $-24.8\% \sim 19.1\%$, 说明本文前处理方法引起的基质效应较低。

2.6 线性范围、检出限和定量下限

采用空白唾液样本基质提取液配制唾液系列工作溶液, 以目标物峰面积与内标物峰面积(y)对目标物质量浓度(x)绘制标准曲线, 结果表明, 18种新型苯二氮卓类物质在各自的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 $r^2 \geq 0.9990$ 。在空白唾液样本基质中添加不同低浓度标准溶液, 测量特征离子信噪比, 以3倍信噪比为检出限(LOD), 以10倍信噪比为定量下限(LOQ)。结果表明, 18种新型苯二氮卓类物质的检出限为 $0.009 \sim 0.36$ ng/mL, 定量下限为 $0.03 \sim 1.20$ ng/mL(见表2)。

2.7 回收率和精密度

向空白唾液样本分别加入2、10、50 ng/mL 3个水平的混合标准溶液, 每个浓度的加标样本在日内

平行测定 6 次, 计算平均回收率及日内精密度; 连续测定 3 天, 计算日间精密度。如表 3 所示, 18 种目标物在唾液基质中的平均回收率为 89.2%~104%, 日内精密度为 1.1%~8.7%, 日间精密度为 1.6%~9.8%。

表 2 18 种新型苯二氮卓类物质的线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量下限

Table 2 Regression equations, linear ranges, correlation coefficients, LODs and LOQs of 18 new benzodiazepines

Compound	Regression equation	Linear range/(ng·mL ⁻¹)	r ²	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
Adinazolam(阿地唑仑)	y=1.274 5x+0.082 4	0.05~50.0	0.999 9	0.009	0.03
Benzazepam(苯他西洋)	y=0.702 8x-0.174 3	0.5~50.0	0.999 7	0.01	0.04
Remimazolam(瑞玛唑仑)	y=0.350 3x-0.311 7	0.5~50.0	0.999 0	0.36	1.20
Clonazolam(科纳唑仑)	y=0.176 2x-0.029 1	1.0~50.0	0.999 8	0.06	0.22
N-Desmethylflunitrazepam(N-去甲基氟硝西洋)	y=0.320 4x-0.064 9	0.2~50.0	0.999 8	0.05	0.15
Deschloroetizolam(去氯依替唑仑)	y=0.955 0x-0.061 0	0.1~50.0	0.999 7	0.02	0.06
Fluclotizolam	y=0.604 6x-0.208 6	0.5~50.0	0.999 4	0.02	0.06
Flualprazolam(氟阿普唑仑)	y=0.429 1x-0.071 9	0.2~50.0	0.999 9	0.04	0.15
Flubromazolam(氟溴唑仑)	y=0.318 0x-0.199 4	0.5~50.0	0.999 2	0.05	0.16
Metizolam(去甲依替唑仑)	y=0.273 5x-0.183 9	0.5~50.0	0.999 7	0.13	0.43
Bromazolam(波玛唑仑)	y=0.135 7x-0.091 6	1.0~50.0	0.999 3	0.17	0.57
Phenazolam(芬纳唑仑)	y=0.305 9x-0.071 9	0.5~50.0	0.999 2	0.08	0.25
Etizolam(依替唑仑)	y=0.416 5x-0.108 1	0.1~50.0	0.999 8	0.10	0.35
Flubromazepam(氟溴西洋)	y=0.382 9x-0.087 1	0.05~50.0	0.999 1	0.02	0.05
Methylclonazepam(甲基氯硝西洋)	y=0.578 7x-0.273 3	0.2~50.0	0.999 5	0.03	0.10
Phenazepam(芬纳西洋)	y=0.190 3x-0.106 6	1.0~50.0	0.999 9	0.22	0.72
4'-Chlorodiazepam(4'-氯地西洋)	y=0.296 6x-0.077 5	0.5~50.0	0.999 2	0.03	0.10
Diclazepam(二氯地西洋)	y=0.554 9x-0.178 7	0.2~50.0	0.999 7	0.04	0.13

表 3 18 种新型苯二氮卓类物质的回收率、日内精密度和日间精密度

Table 3 Recoveries, intra-day RSDs and inter-day RSDs of 18 new benzodiazepines

Compound	Spiked/(ng·mL ⁻¹)	Recovery/%	RSD/%	
			Intra-day(n=6)	Inter-day(n=3)
Adinazolam(阿地唑仑)	2, 10, 50	98.3, 97.5, 95.2	8.3, 7.4, 5.3	8.9, 8.2, 5.8
Benzazepam(苯他西洋)	2, 10, 50	97.4, 104, 96.1	5.1, 4.7, 2.9	8.2, 7.7, 3.1
Remimazolam(瑞玛唑仑)	2, 10, 50	95.3, 93.9, 94.8	7.1, 6.3, 4.7	8.0, 7.4, 5.3
Clonazolam(科纳唑仑)	2, 10, 50	96.2, 98.5, 94.5	8.3, 7.4, 5.3	9.0, 8.2, 5.8
N-Desmethylflunitrazepam(N-去甲基氟硝西洋)	2, 10, 50	98.3, 101, 99.6	5.4, 4.5, 3.4	7.1, 6.4, 5.3
Deschloroetizolam(去氯依替唑仑)	2, 10, 50	95.3, 100, 102	6.8, 4.3, 1.1	7.1, 4.7, 2.7
Fluclotizolam	2, 10, 50	96.3, 94.4, 98.4	8.7, 6.5, 2.2	9.8, 8.0, 4.2
Flualprazolam(氟阿普唑仑)	2, 10, 50	94.2, 95.9, 96.9	8.2, 7.5, 1.3	8.0, 7.7, 2.2
Flubromazolam(氟溴唑仑)	2, 10, 50	96.2, 97.5, 93.0	4.7, 3.1, 1.5	5.2, 3.8, 1.6
Metizolam(去甲依替唑仑)	2, 10, 50	96.3, 98.3, 97.4	6.4, 6.0, 5.6	8.6, 8.3, 6.6
Bromazolam(波玛唑仑)	2, 10, 50	92.5, 96.8, 94.6	5.2, 4.1, 3.5	5.3, 4.5, 4.0
Phenazolam(芬纳唑仑)	2, 10, 50	96.3, 102, 101	7.3, 6.7, 2.0	9.2, 8.6, 5.4
Etizolam(依替唑仑)	2, 10, 50	89.2, 96.0, 96.8	5.2, 4.9, 3.8	7.4, 6.8, 4.2
Flubromazepam(氟溴西洋)	2, 10, 50	98.2, 97.9, 101	5.1, 4.9, 3.8	7.3, 6.8, 4.2
Methylclonazepam(甲基氯硝西洋)	2, 10, 50	94.5, 96.8, 95.9	8.3, 6.2, 4.0	9.0, 8.9, 4.2
Phenazepam(芬纳西洋)	2, 10, 50	102, 97.4, 98.9	8.2, 7.9, 4.8	9.4, 9.0, 7.6
4'-Chlorodiazepam(4'-氯地西洋)	2, 10, 50	94.6, 99.8, 95.7	7.3, 6.4, 1.1	8.5, 7.7, 2.0
Diclazepam(二氯地西洋)	2, 10, 50	95.3, 100, 102	7.9, 6.8, 2.9	5.7, 4.4, 3.3

2.8 案例应用

某市禁毒支队在涉毒案件中抓获一名吸毒人员, 其陈述 2 h 前吸食毒品, 采集其唾液约 1 mL 送检。检材于 4 °C 冷藏保存, 6 h 后进行检测。采用本方法取 0.5 mL 唾液样本进行检验, 检出依替唑仑, 质量浓度为 1.81 ng/mL。表明该方法可用于涉毒案件中唾液样本检验。

3 结论

本研究建立了唾液样本中 18 种新型苯二氮卓类物质的 UPLC-Q/Orbitrap HRMS 同时测定方法。该方法采用沉淀蛋白法进行前处理, 操作简单、成本低、基质去除率高, 适用于唾液中苯二氮卓类物质的高通量筛查及定量分析, 弥补了当前检验方法的不足。所建方法灵敏度高、准确度高、精密度好, 为苯二氮卓类物质的滥用监测提供了技术支撑。此外, 鉴于新型苯二氮卓类药物的滥用和成瘾现象,

建议国家相关部门尽快建立公共安全行业标准,以实施日常监督。

参考文献:

- [1] Li P, Zheng H. *Forensic Sci. Technol.* (李彭, 郑琿. 刑事技术), **2025**, 50(4): 1-9.
- [2] Miskulin A, Wallace B, Gill C, Hore D. *Drug Test. Anal.*, **2024**, 16(10): 1085-1093.
- [3] Lu J Y, Yan H, Shen M. *Chin. J. Forensic Sci.* (陆佳玥, 严慧, 沈敏. 中国司法鉴定), **2022**, (4): 20-32.
- [4] Kieran R M, Laura W, Shozeb H, Peter D M. *Forensic Toxicol.*, **2022**, 40(2): 349-356.
- [5] Venkatakrishnan K, Culm K E, Ehrenberg B L, Harmatz J S, Corbett K E, Fleishaker J C, Greenblatt D J. *J. Clin. Pharmacol.*, **2005**, 45: 529-537.
- [6] Alice A, Nadia A, Jean S R, Pascal K. *Case Reports Ther. Drug Monit.*, **2018**, 40(6): 759-761.
- [7] Gao T F, Dong Z Z, Shen X T, Huang C X. *J. Instrum. Anal.* (高同飞, 董壮壮, 沈先涛, 黄垂秀. 分析测试学报), **2025**, 44(1): 25-33.
- [8] Chen Y, Yu Z S, Zhu J, Liu Y. *Chin. J. Forensic Med.* (陈跃, 于忠山, 朱军, 刘耀. 中国法医学杂志), **2013**, 28(1): 26-29.
- [9] Cynthia A C, Christine M M. *Methods Mol. Biol.*, **2019**, 1872: 237-259.
- [10] Feng X Y, Shen M, Chen H. *Chin. J. Forensic Sci.* (冯雪伊, 沈敏, 陈航. 中国司法鉴定), **2016**, (4): 57-67.
- [11] Quintela O, Crouch D J, Andrenyak D M. *J. Anal. Toxicol.*, **2006**, 30: 614-616.
- [12] Alexandra D, Laurence P T, Frank C, André L. *Forensic Sci. J.*, **2017**, 50: 90-102.
- [13] Tang M H Y, Ching C K, Poon S, Chan S S S, Ng W Y, Lam M, Wong C K, Pao R, Lau A, Mak T W L. *Forensic Sci. Int.*, **2018**, 286: 113-120.
- [14] Krotulski A J, Mohr A L A, Friscia M, Logan B K. *J. Anal. Toxicol.*, **2018**, 42: 170-176.
- [15] Xiong Z F, Tu F L, Wang Y F. *J. Jiangxi Univ. Chin. Med.* (熊周芳, 涂凤莲, 汪元符. 江西中医药大学学报), **2018**, 30(3): 80-86.
- [16] Wu D X, Li S H, Li J Y, Ren G Y, Zeng S H, Li H. *J. Henan Univ. Sci. Technol.: Med. Sci.* (吴东星, 李树华, 李继印, 任国印, 曾思火, 李虹. 河南科技大学学报: 医学版), **2018**, 36(2): 137-140.
- [17] Brigitte D, Marie L, Julie L, Pascal M, Cameron D S. *Forensic Sci. Int.*, **2020**, 317: 110506.
- [18] Joakim T, Alexia R, Anders B, Anders B, Niclas N S. *J. Mass Spectrom.*, **2025**, 60(5): 5132.
- [19] Patricia G A, Jaime M S, Rafael L, Soledad C, Sergio A, José M H M, Héctor M P C. *Anal. Chim. Acta*, **2025**, 1365: 344243.
- [20] Sarah M R W, Malika B, Jari R, Vincent D F, Nele S. *J. Anal. Toxicol.*, **2023**, 46(9): 280-284.
- [21] Cynthia C, Margaux G, Christine M. *J. Anal. Toxicol.*, **2022**, 46(8): 899-904.
- [22] Ivana G, Alessandro M, Kim W, Alison W, Andrew S, Fan G, Duncan H, David C. *Drug Test. Anal.*, **2022**, 14(8): 1482-1490.
- [23] Eirin B, Gudrun H, Håvard F, Thomas B, Marianne A, Hallvard G. *Ther. Drug Monit.*, **2020**, 42(5): 795-800.
- [24] Stephen M, Miranda J L E, Ruqayyah A O, Pete R, Brandi A, Piyadarsha A, Bridget L L, Matthew L, Eric D A. *Drug Alcohol Depend.*, **2023**, 250: 110894.

(责任编辑: 丁 岩)