

LC-MS/MS方法鉴定中药制剂中掺入的 7种西药成分

刘斐, 陈长青, 郑静, 李冰

(山东省药品检验所, 济南 250101)

摘要 目的: 采用 LC-MS/MS 联用技术, 检查中药制剂中掺入的茶碱、醋酸泼尼松、地西洋、吡罗昔康、萘普生、吲哚美辛、双氯芬酸钠。方法: 色谱柱为 Phenomenex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 柱温 30℃, 流动相为甲醇-甲酸铵缓冲溶液 (取甲酸铵 0.5 g 加水 2000 mL 使溶解, 用冰醋酸调 pH 值至 3.86) (60:40), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长为 240 nm, 电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 雾化气压力 207 kPa, 干燥气温度 350℃, 流速 10 L·min⁻¹, 扫描范围 100~600。结果: 检出 6 批假药中掺入的茶碱、醋酸泼尼松、地西洋、吡罗昔康、萘普生、吲哚美辛、双氯芬酸钠。结论: 建立的 LC-MS/MS 方法可同时鉴定掺入的上述西药成分。

关键词: 传统中药; 茶碱; 醋酸泼尼松; 地西洋; 吡罗昔康; 萘普生; 吲哚美辛; 双氯芬酸钠; 液相色谱-串联质谱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)08-1378-03

LC-MS/MS identification of seven chemical substances added into traditional Chinese medicine

LIU Fei CHEN Chang-qing ZHENG Jing LI Bing

(Shandong Institute for Drug Control, Jinan 250101, China)

Abstract Objective To deploy LC-MS/MS multiple techniques for identify theophylline, prednisone acetate, diazepam, piroxicam, naproxen, indometacin, diclofenac sodium added into traditional Chinese medicine **Methods** The column was phenomenex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and the temperature was set at 30℃, the mobile phase was methanol-ammonium formate buffer (0.5 g ammonium formate dissolved in 2000 mL water, adjust pH to 3.86 with acetate acid) (60:40), and the flow rate was 1 mL·min⁻¹, the detection wavelength was at 240 nm, Electrospray ionization source (ESI) was applied and operated in positive ion mode, nebulizer pressure was 207 kPa, drying gas temperature was at 350℃ and flow was 10 L·min⁻¹, the scanning range was from 100 to 600. **Results** Found seven abovementioned components in six counterfeit drugs **Conclusion** The LC-MS/MS methods established can be used to quantitatively determine the seven abovementioned components simultaneously

Key words traditional Chinese medicine; theophylline; prednisone acetate; diazepam; piroxicam; naproxen; indometacin; diclofenac sodium; LC-MS/MS

中药制剂具有疗效确切、不良反应小的特点, 适于长期服用, 但作用缓慢。极少数人利用人们对传统中药的信任, 以及急于获得疗效的心理, 在传统中药制剂中掺入疗效确切、价廉易得的西药成分, 给疾病的治疗带来隐患。

为此, 我们建立了检查中药制剂中掺入茶碱、醋酸泼尼松、地西洋、吡罗昔康、萘普生、吲哚美辛、双氯芬酸钠 7 种化学成分的 LC-MS/MS 快速筛选及鉴定的方法。

1 仪器及试剂

Agilent1200 HPLC 离子阱质谱 (LC/MSD Trap/VL)。

茶碱 100121-199903, 醋酸泼尼松 100012-200105, 地西洋 1230-9601, 吡罗昔康 100177-199802, 萘普生 100198-200403, 吲哚美辛 100258-199602, 双氯芬酸钠 100334-200302 对照品均购自中国药品生物制品检定所。

甲醇为色谱醇, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 HPLC 条件 色谱柱: Phenomenex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-甲酸缓冲溶液 (取甲酸铵 0.5 g 加水 2000 mL, 振摇使溶解, 用冰醋酸调 pH 至 3.86) (60:40) 为流动相; 检测波长为 240 nm; 柱温 30 °C; 流速 1 mL·min⁻¹; 进样 10 μL。

2.2 MS 条件 电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式 (ESI⁺), 雾化气压力 207 kPa 干燥气温度 350 °C, 流速 10 L·min⁻¹, 扫描范围 100~600 柱尾分流 (5:1)。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取茶碱、醋酸泼尼松、地西洋、吡罗昔康、萘普生、吲哚美辛、双氯芬酸钠对照品各 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 5.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取样品 10 片或 10 粒胶囊的内容物, 研细, 用甲醇 60 mL 分次转移至 100 mL 量瓶中, 超声 5 min (频率 40 kHz 功率 300 W), 冷却至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.5 测定方法 分别精密量取对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 进样, 扫描方式采用全扫描一级质谱、全扫描二级质谱。

2.6 精密度试验 取同一份对照品溶液, 连续进样 5 次, HPLC 色谱峰保留时间 RSD ≤ 0.3%, 峰面积 RSD ≤ 0.5%。

2.7 稳定性实验 取同一份对照品溶液, 分别在 0, 3, 6, 9, 12h 时间进行分析, 各色谱峰保留时间

RSD ≤ 0.8%, 峰面积 RSD ≤ 1.0%。

2.8 重复性实验 配制对照品溶液 5 份, 按上述方法实验, 各色谱峰保留时间 RSD ≤ 0.5%, 峰面积 RSD ≤ 0.8%。

2.9 最小检出量 7 种成分 HPLC 最小检出限小于 5 μg MS 最小检出限均小于 20 ng (S/N > 3), 可满足试验要求。

3 结果与讨论

3.1 对照品溶液总离子流和提取离子流图谱 见图 1, 各对照品的提取离子流的 [M+H]⁺ 质核比如下: 茶碱 181.1, 醋酸泼尼松 401.3, 地西洋 285.2, 吡罗昔康 332.1, 萘普生 231.2, 吲哚美辛 358.2, 双氯芬酸钠 296.1; 对照品二级质谱图谱见图 2。

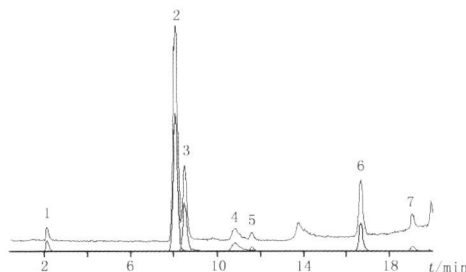


图 1 对照品 TIC 图谱

Fig 1 TIC chromatogram of reference substances

1. 茶碱 (theophylline) 2. 醋酸泼尼松 (prednisone acetate) 3. 地西洋 (diazepam) 4. 吡罗昔康 (piroxicam) 5. 萘普生 (naproxen) 6. 吲哚美辛 (indometacin) 7. 双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)

3.2 供试品溶液的 HPLC 色谱图中出现的与对照品保留时间相同的色谱峰, 并且该色谱峰一级质谱、二级质谱均与相应的对照品一致, 确认含待测成分。对 7 批样品的检验情况见表 1。

表 1 7 批样品检测表

Tab 1 Table of seven samples detect

检品名称 (sample name)	批号 (Lot No.)	供样单位 (supply sample unit)	检出成分 (detect ingredient)
百花定喘丸 (Baihuadingshuan wan)	20050801	济南市食品药品监督管理局 (Jinan Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	地西洋 (diazepam)、醋酸泼尼松 (prednisone acetate)
秘特灵 (Mieting)	/	梁山食品药品监督管理局 (Liangshan Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	茶碱 (theophylline)、醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、地西洋 (diazepam)
复方咳嗽灵 (Fufangkechuanling)	20051028	阳谷县食品药品监督管理局 (Yanggu Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、地西洋 (diazepam)
咳嗽喘喘胶囊 (Kecouchuanchuan Capsules)	20050701	莘县食品药品监督管理局 (Shenxian Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、地西洋 (diazepam)
速效关节炎胶囊 (Suxiaoguanjieyan capsules)	051003	济南市食品药品监督管理局 (Jinan Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、地西洋 (diazepam)、吡罗昔康 (piroxicam)、吲哚美辛 (indometacin)、双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)
甲茸状骨痛痹胶囊 (Jiarongzhuanggu Tongbi capsules)	/	梁山县食品药品监督管理局 (Liangshan Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)、吲哚美辛 (indometacin)、萘普生 (naproxen)
风湿灵 (Fengshiling)	05050808	梁山县食品药品监督管理局 (Liangshan Administration Bureau for Food and Drug Surveillance)	醋酸泼尼松 (prednisone acetate)、双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)、吲哚美辛 (indometacin)

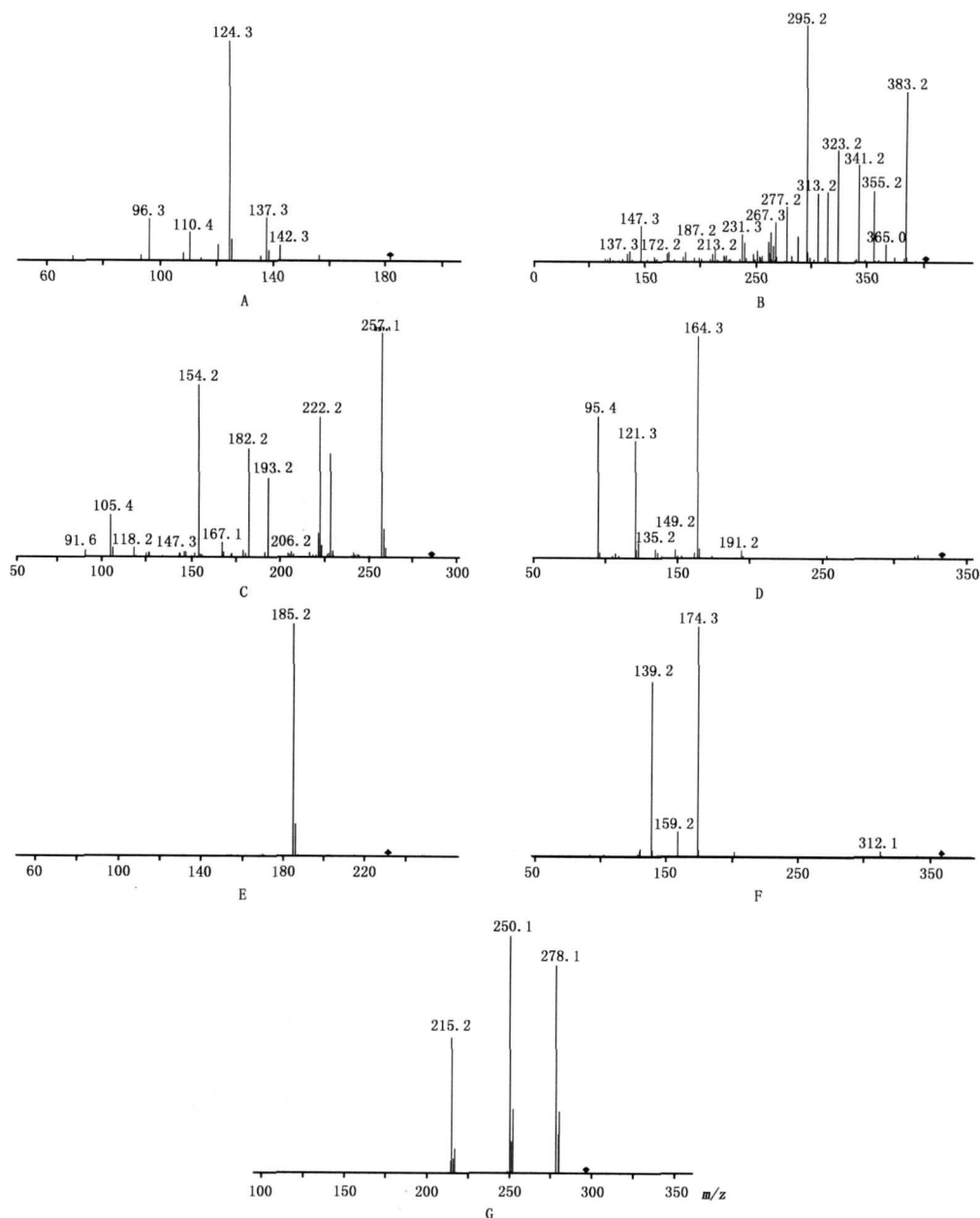


图 2 对照品二级质谱图

Fig 2 MS/MS chromatograms of reference substances

A. 茶碱 (theophylline) B. 醋酸泼尼松 (prednisone acetate) C. 地西泮 (diazepam) D. 吡罗昔康 (piroxicam) E. 萘普生 (naproxen)
F. 吲哚美辛 (indometacin) G. 双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)

3.3 HPLC 具有将不同的物质进行分离的能力, 一种可行的 HPLC 色谱条件系统可以将不同的待测物质进行有效的分离, 相同的物质在高效液相色谱图中表现为能在相同的保留时间出现色谱峰, 根据这一特性, HPLC 可对待测样本进行筛选。液相色谱-质谱技术可提供待测组分的分子结构信息, 相同的物质具有相同的分子结构信息, 根据这一特性, 可用 LC-MS 及 MS/MS 技术判定待测样本中是否含待测成分。由于中成药中含天然的成分较多, 在 HPLC 色谱图中, 可能在待测峰位置出现假阳性峰, 因此,

采用 LC-MS 及 MS/MS 技术对样本进行确认。

3.4 本文建立的 LC-MS/MS 方法可用于上述 7 种西药成分的快速鉴定。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol III (二部): Appendix(附录) 28
- 2 Ling X iao(凌霄). Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志). Beijing(北京): National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products(中国药品生物制品检定所), 2007, 27(12): 1920

(本文于 2009 年 2 月 11 日收到)