

## 【化学测定方法】

## UPLC - MS/MS 法检测减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明

张翠英<sup>1,2</sup>, 李振国<sup>2</sup>, 刘乃强<sup>2</sup>

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

**[摘要]** 目的: 建立快速、准确、高灵敏度测定减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明的分析方法。方法: 采用 C<sub>18</sub> 柱分离, 以乙腈 - 10 mM 乙酸铵缓冲溶液 (0.1% 甲酸) 为流动相, 流速 0.25 ml · min<sup>-1</sup>, 离子源为 ESI 源, 正离子检测。对减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明进行定性检测, 并对其裂解途径进行了解析。结果: 受试制剂中检测到掺有西布曲明。结论: 此方法选择性强、灵敏度高, 可作为减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明的有效检测方法。

**[关键词]** 超高效液相色谱 - 质谱联用; 减肥制剂; 麻黄碱; 西布曲明; 芬氟拉明

**[中图分类号]** O657.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004 - 8685(2011)08 - 1890 - 02

### Detection of ephedrine, fenfluramine and sibutramine illegally mixed into health foods for diet by UPLC - MS/MS

ZHANG Cui - ying<sup>1,2</sup>, LI Zhen - guo<sup>2</sup>, LIU Nai - qiang<sup>2</sup>

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2. Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a quick, accurate and sensitive method for analysis of ephedrine, fenfluramine and sibutramine illegally mixed into health foods for diet by ultra high - performance liquid chromatography with mass spectrometry (UPLC - MS/MS). **Methods:** A C<sub>18</sub> column was used with the mobile phase of 10 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium acetate (0.1% formic acid) and acetonitrile by gradient elution. The flow rate was 0.25 ml · min<sup>-1</sup>. The qualitative method based on UPLC with electrospray ionization in positive ionization mode were carried out and the fragmentation of three compounds were elucidated. **Results:** Sibutramine was found in the formulation. **Conclusion:** The method is selective and sensitive and can be used to detect ephedrine, fenfluramine and sibutramine illegally added into health foods for diet.

**[Key words]** Ultra performance liquid chromatography - MS/MS (UPLC - MS/MS); Health foods for diet; Ephedrine; Sibutramine; Fenfluramine

随着肥胖者日众, 减肥产品市场空间的增大, 商家的无序竞争导致减肥食品和减肥保健品中非法添加化学药物成分比较普遍, 不但严重损害了消费者的身心健康和经济利益, 甚至危及生命, 而且也不利于该类产品的国内外市场发展。针对减肥产品市场中非法添加合成药的混乱情况, 文献报道了基于一种合成减肥药的检测方法<sup>[1-4]</sup>, 但未见有关常见添加化学药物盐酸芬氟拉明、麻黄碱和西布曲明同时检测的报道, 因此迫切需要建立一种快速、准确、灵敏的鉴定减肥产品中非法掺入的常见化学药物的检验方法。由于保健食品化学成分复杂, 色谱分析干扰严重, 定性定量难度较大, 单纯依靠色谱行为难以进行可靠的定性分析。本文建立了超高效液相 - 串联质谱法对减肥类保健食品中非法添加盐酸麻黄碱、盐酸芬氟拉明、西布曲明的定性分析方法, 该方法简单、快速、准确。

#### 1 材料与amp;方法

##### 1.1 仪器

Waters 超高效液相色谱 - 串联质谱仪 (Quity/Premier, 美国 WATERS 公司), 配有 Quity 二极管阵列检测器 (PDA)、电喷雾离子化源 (ESI)、Masslynx4.1 工作站等。

##### 1.2 药品与试剂

盐酸麻黄碱对照品 (批号 171242 - 200405)、盐酸西布曲明对照品 (100624 - 200401)、盐酸芬氟拉明 (批号 10073 - 0002) 均由中国药品生物制品检定所提供。减肥保健品由河南省药检所抽样。乙腈为色谱纯 (Merck), 其它试剂均为分析纯, 水为超纯水。

##### 1.3 UPLC 色谱条件

Waters 超高效液相色谱柱 (WATERS ACQUITY UPLC™ BEH C18 柱 (50 × 2.1 mm, 1.7 μm)); 流动相: 乙腈 - 0.01 mol · L<sup>-1</sup> 醋酸铵 (0.1% 甲酸) 缓冲溶液梯度洗脱, 0 → 2.0 min, 30% (乙腈); 2.0 → 3.0 min, 30% → 50% (乙腈); 3.0 → 4.0 min, 50% (乙腈); 4.0 → 4.1 min, 50% → 90% (乙腈); 4.1 → 6.0 min, 90% (乙腈)。检测波长: 200 nm ~ 400 nm; 柱温: 35℃; 流速 0.25 ml · min<sup>-1</sup>; 进样量: 5 μl。

【作者简介】张翠英 (1972 -), 女, 博士, 副研究员, 主要从事药品食品的研究开发工作。

1.4 质谱条件

电喷雾离子化正离子检测方式;离子源温度 110℃;脱溶剂气温度 300℃;脱溶剂气流量 600 L·h<sup>-1</sup>;锥孔气流量 50 L·h<sup>-1</sup>;氩气流量 0.20 ml·min<sup>-1</sup> 锥孔电压和碰撞能量见表 1。

1.5 对照品溶液的配制

精密称取盐酸麻黄碱对照品、盐酸西布曲明对照品、盐酸芬氟拉明对照品适量,加甲醇溶解并制成每 1 ml 各含盐酸麻黄碱对照品、盐酸西布曲明对照品、盐酸芬氟拉明 5 μg 的对照品混合储备溶液。

1.6 供试品溶液的制备

将供试品研细 称取 0.3 g 置于 50 ml 量瓶中,加入流动相 [乙腈 - 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸铵 (0.1% 甲酸) 体积比 50:50] 40 ml 超声提取 10 min 放冷至室温,加入流动相至刻度,混匀,取上清液高速离心 (不小于 3000 rpm·min<sup>-1</sup>) 10 min;吸取上清液 1 ml 置 25 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,过 0.2 μm 滤膜。

2 结果

2.1 对照品的色谱及质谱分析

采用正离子检测方式对盐酸麻黄碱、盐酸西布曲明、盐酸芬氟拉明混合对照品溶液进行 UPLC、MS 和 MS<sup>2</sup> 分析,保留时间分别为 0.79 min、3.20 min、5.30 min。麻黄碱的准分子离子 [M+H]<sup>+</sup> 峰为 m/z 166;对 m/z 166 进行子离子扫描,产生的主要碎片为 m/z 148、133、117、115、91、70、56;西布曲明的准分子离子峰为 m/z 280;对 m/z 280 进行子离子扫描,产生的主要碎片为 m/z 179、153、139、125、97、109;芬氟拉明的准分子离子峰为 m/z 232;对 m/z 232 进行子离子扫描,产生的主要碎片为 m/z 187、159 相应的二级质谱图见图 1,推测其质谱裂解途径如图 4 所示。

表 1 MRM 分析的质谱参数

化合物	毛细管电压 (KV)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)	离子对 (m/z)
麻黄碱 (Ephedrine)	+3.0	20	10	166→148
	+3.0	20	20	166→133
	+3.0	20	20	166→117
	+3.0	20	25	166→115
	+3.0	20	25	166→91
芬氟拉明 (Fenfluramine)	+3.0	30	15	232→187
	+3.0	30	25	232→159
西布曲明 (Sibutramine)	+3.0	25	15	280→179
	+3.0	25	15	280→153
	+3.0	25	15	280→139
	+3.0	25	20	280→125
	+3.0	25	15	280→109
	+3.0	25	20	280→97

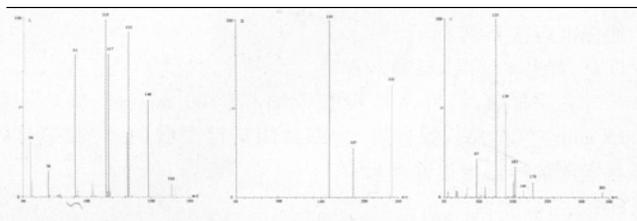


图 1 麻黄碱 (A)、芬氟拉明 (B) 和西布曲明 (C) 的二级质谱图

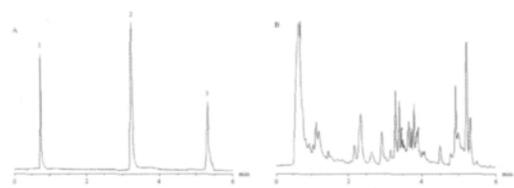


图 2 混合对照品 (A) 及样品 (B) UPLC 色谱图

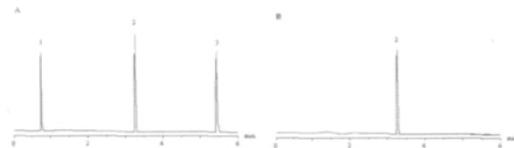


图 3 混合对照品 (A) 及样品 (B) MRM 色谱图

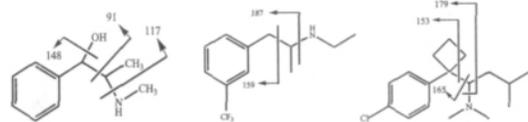


图 4 麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明对照品在 ESI (+) 方式下的质谱裂解

2.2 样品定性检测

在相同的色谱及质谱条件下样品的提取溶液进行 UPLC、MS 和 MS<sup>2</sup> 分析,在检测波长 210 nm 下 (见图 2),无法对检测的样品中是否含有麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明进行判断,背景干扰太严重。故采取 UPLC 与 MS 联用的方法,在样品中同时检测到西布曲明的准分子离子,怀疑样品中含有西布曲明;采取二级全扫描质谱分析和多反应检测分析,发现其与西布曲明对照品的色谱及质谱行为相一致,进而证明此中药制剂含有西布曲明,但不含麻黄碱和芬氟拉明,见图 3。

2.3 最低检测限

取对照品溶液,以不同比例稀释后测定,结果麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明的最低检测限 (LOD) 分别为 7.5、1.2、1.8 pg (S/N = 3)。

3 讨论

本法可快速、准确地对减肥食品中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明进行专属性检测,不但能提供质谱方面的信息,而且能利用 PDA 进行紫外检测,二者有效结合,同时检测时间非常短,6 min 就达到分离效果,样品不需特殊处理,制备简单。

经过正负扫描方式的对比,麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明均采取正离子扫描方式,灵敏度更高,碎片离子信息更加丰富,便于定性定量分析检测。

[参考文献]

[1] 李美芳,邱颖娟,庞学斌,等. 串联四极杆质谱法测定减肥类药品及保健品中非法掺入盐酸芬氟拉明的研究 [J]. 中国药师, 2006, 9(8): 721 - 722.  
 [2] 张小松,夏铮铮,周琳,等. 检测中药保健品中非法掺入的盐酸西布曲明 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(4): 293 - 295.  
 [3] 罗金文,张叶萍,朱海霖,等. 液相色谱 - 质谱联用法鉴定中药制剂中掺入的减肥药 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(7): 791 - 794.  
 [4] 于海涛. 中成药中麻黄碱的液相色谱 - 质谱测定法 [J]. 职业与健康, 2006, 22(9): 667 - 668.

(收稿日期: 2011 - 03 - 24)