

# 酒石酸美托洛尔片假药的鉴别

魏宁漪, 周颖, 余振喜, 李婕, 施亚琴\*

(中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

**摘要** 目的: 鉴别酒石酸美托洛尔片中的掺假成分。方法: 采用 HPLC-MS/MS 和 HPLC-DAD 方法对样品中的掺假成分进行分析检测。结果: 样品中的掺假成分鉴定为氯霉素, 抽样的 2 批标示为酒石酸美托洛尔片样品中, 未含酒石酸美托洛尔而含有氯霉素。结论: 由于氯霉素的紫外光谱图和化学反应现象与酒石酸美托洛尔相似, 故极少数数据采用氯霉素冒充酒石酸美托洛尔生产假药。

**关键词:** 酒石酸美托洛尔片; 氯霉素; HPLC-MS/MS; HPLC-DAD

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)02-0285-03

## Identification of counterfeit metoprolol tartrate tablets

WEI Ning-yi ZHOU Ying YU Zhen-xi LI JIE, SHI Ya-qin\*

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

**Abstract Objective** To identify an unknown component in counterfeit metoprolol tartrate tablets **Methods** To identify the unknown component in samples marked metoprolol tartrate tablets by the high performance liquid chromatography-quadrupole mass spectrometry and HPLC-DAD method **Results** The unknown component in samples marked metoprolol tartrate tablets is not metoprolol tartrate but chloramphenicol **Conclusion** Chloramphenicol illegally added into the metoprolol tartrate tablets to substitute metoprolol tartrate by criminals for UV spectrum and chemical character of chloramphenicol is similar to those of metoprolol tartrate

**Key words** metoprolol tartrate tablets; chloramphenicol; HPLC-MS/MS; HPLC-DAD

酒石酸美托洛尔是一种选择性的  $\beta_1$  受体阻滞剂, 为抗心律失常、抗高血压药。临床常用于治疗各型高血压、心绞痛、心肌梗死、肥厚型心肌病、主动脉夹层、心律失常、甲状腺机能亢进、心脏神经官能症等, 近年来也用于心力衰竭的治疗。酒石酸美托洛尔可降低心血管病死亡率, 减少再次心肌梗死的危险, 并减少心源性死亡特别是心肌梗死后猝死率。氯霉素为广谱抗菌药, 广泛用于各种敏感菌感染, 后因对造血系统有严重的不良反应, 故对其临床应用现已做出严格控制。酒石酸美托洛尔和氯霉素在临床使用上是截然不同的 2 种药物。

近来发现市场上存在有酒石酸美托洛尔片的假冒产品, 对此类样品采用了各种分析手段进行检测, 样品中不含有标示成分酒石酸美托洛尔, 而含有抗生素氯霉素。如患者长期、大量服用此类假冒药品, 不仅造成病情延误, 对危重病人造成生命危险, 且会

由于氯霉素的副作用产生其他不良反应, 甚至对氯霉素过敏的病人危及生命。

### 1 仪器与试剂

酒石酸美托洛尔对照品 (批号为 10084-0101, 中国药品生物制品检定所提供), 酒石酸美托洛尔片 2 批 (标示为某公司生产, 批号: 0807023, 0810074), 均为山东省食品药品监督管理局抽样。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

Waters 公司 Alliance Quattro micro 液相色谱-串联三重四极杆质谱联用仪, 岛津 LC-20AT 液相色谱仪。

### 2 方法

#### 2.1 HPLC-MS/MS 条件

HPLC 条件: 色谱柱为 XTerra  $C_{18}$  柱 (150 mm  $\times$  2.1 mm, 5  $\mu$ m); 流动相为 0.01 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 醋酸铵溶液 (用三氟乙酸调节 pH 至 4.5) - 甲醇 (70:30); 流

\* 通讯作者 Tel: (010) 67095342 E-mail: shiyq@nicbpb.org.cn

速:  $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温:  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 进样量:  $10 \mu\text{L}$ 。

MS条件: 电喷雾离子化正、负离子检测方式 ( $\text{ESI}^+$ 、 $\text{ESI}^-$ );  $m/z$  50~600 amu; 毛细管电压: ( $\pm$ )  $3.0 \text{ kV}$ ; 脱溶剂气 ( $\text{N}_2$ ):  $400 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ; 锥孔反吹气:  $50 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ; 锥孔电压:  $30 \text{ V}$ 、 $25 \text{ V}$ 。源温:  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 脱溶剂温度:  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 检测方式: 全扫描一级质谱, 选择离子二级全扫描质谱监测方式。

**2.2 HPLC-DAD条件<sup>[11]</sup>** 色谱柱: Waters Symmetry  $\text{C}_{18}$  ( $150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ); 流动相: 以醋酸盐缓冲液 (取醋酸铵  $3.9 \text{ g}$  加水  $810 \text{ mL}$  溶解后, 加三乙胺  $2.0 \text{ mL}$ , 冰醋酸  $10.0 \text{ mL}$ , 磷酸  $3.0 \text{ mL}$ , 摇匀) - 乙腈 ( $824:146$ ); 流速:  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温:  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 进样量:  $20 \mu\text{L}$ 。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 5片, 精密称定, 研细, 精密称取细粉适量, 置  $50 \text{ mL}$  量瓶中, 加流动相适量, 超声 (功率  $300 \text{ W}$ , 频率  $40 \text{ kHz}$ )  $15 \text{ min}$  用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液用于 HPLC分析 (每  $1 \text{ mL}$  中含酒石酸美托洛尔约  $1 \text{ mg}$ )。精密量取续滤液  $1 \text{ mL}$  置  $10 \text{ mL}$  量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 用于 HPLC-MS/MS分析。

**2.4 对照品溶液的制备** 精密称取酒石酸美托洛尔对照品适量, 加流动相溶解并制成每  $1 \text{ mL}$  中含酒石酸美托洛尔  $0.1 \text{ mg}$  的溶液, 作为酒石酸美托洛尔对照品溶液。精密称取氯霉素对照品适量, 加流动相溶解并制成每  $1 \text{ mL}$  中含氯霉素  $0.1 \text{ mg}$  的溶液, 作为氯霉素对照品溶液。用于 HPLC-DAD、HPLC-MS/MS分析。

### 3 结果

#### 3.1 HPLC-MS/MS方法定性结果

采用  $\text{ESI}^-$  检测方式对供试品溶液进行分析, 结果表明供试品溶液中不含酒石酸美托洛尔 (A), 所含成分为氯霉素 (B)。

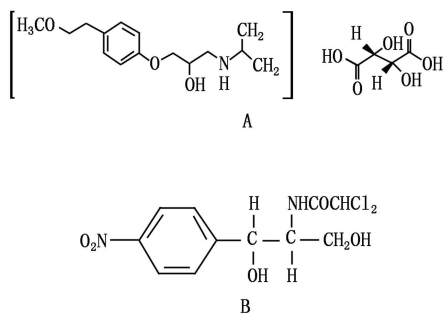


图 1 酒石酸美托洛尔 (A) 和氯霉素 (B) 的结构式

Fig 1 Chemical structures of metoprolol tartrate (A) and chloramphenicol (B)

2批样品的供试品溶液总离子流图中主峰保留时间均为  $6.78 \text{ min}$ , HPLC-DAD 方法测定样品色谱峰的紫外光吸收图中最大吸收波长为  $278 \text{ nm}$ , 一级质谱图均显示准分子离子为  $321$ , 对  $m/z$   $321$  进行二级全扫描质谱分析, 主要碎片峰为  $257$  和  $152$ , 分子离子峰  $m/z$   $321$  显示有  $323$  和  $325$  的同位素峰, 且丰度比为  $9:6:1$ , 表明该化合物含有 2 个氯原子。由于  $\text{ESI}^-$  检测方式测定的准分子离子为  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 表明该化合物的相对分子质量为  $323$ 。

在 NIST05 质谱库中检索符合上述信息的化合物, 与 Merck 数据库中紫外光吸收图谱最大吸收波长为  $278 \text{ nm}$  的化合物进行交叉比对, 推测未知物可能为氯霉素。分析未知成分的主要碎片离子峰, 与氯霉素的合理丢失吻合。与氯霉素对照品的 HPLC-MS/MS 的总离子流图、一级质谱图和二级质谱图的比较结果进一步表明, 供试品溶液中所含成分为氯霉素。采用  $\text{ESI}^-$  检测方式测定供试品溶液, 并与酒石酸美托洛尔对照品的 HPLC-MS/MS 的总离子流图、一级质谱图和二级质谱图的比较结果进一步表明, 供试品溶液中不含酒石酸美托洛尔。

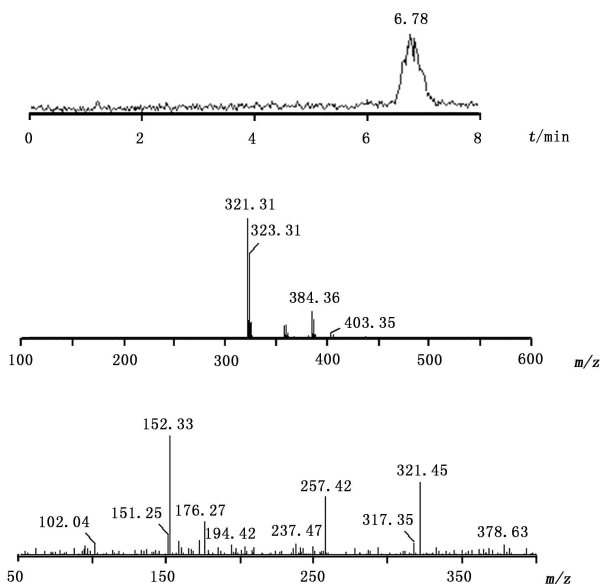


图 2 供试品溶液的总离子流图、全扫描质谱图和二级质谱图 ( $\text{ESI}^-$ )

Fig 2 TIC, the full scan mass spectrum and  $\text{M}^2$  spectrum of test solution ( $\text{ESI}^-$ )

**3.2 HPLC 方法测定结果** 酒石酸美托洛尔对照品溶液中主峰保留时间为  $8.8 \text{ min}$ , DAD 检测器采集的紫外光吸收图谱最大吸收波长为  $274 \text{ nm}$ 。2批样品均未检出酒石酸美托洛尔色谱峰, 但检出保留时间为  $15.4 \text{ min}$  的色谱峰, DAD 检测器采集的紫外

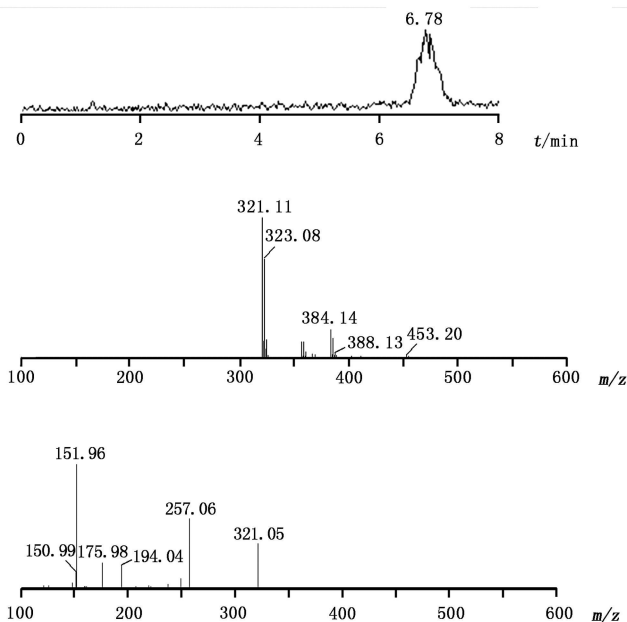


图 3 氯霉素对照品溶液的总离子流图、全扫描质谱图和二级质谱图 (ESI<sup>-</sup>)

Fig 3 TIC, the full scan mass spectrum and MS<sup>2</sup> spectrum of chloramphenicol reference solution (ESI<sup>-</sup>)

光吸收图谱最大吸收波长为 278 nm, 与氯霉素对照品溶液所得色谱图中色谱峰的保留时间与紫外光吸收图谱一致。因此, 确定 2 批样品中不含酒石酸美托洛尔而含有氯霉素。

#### 4 化学鉴别

按中国药典 2005 年版二部酒石酸美托洛尔片项下方法<sup>[2]</sup>对 2 批样品进行检验, 检验项目为鉴别 (1), 即化学鉴别, 反应原理为酒石酸的银镜鉴别反

应。2 批样品均在试管壁上生成黑色镜面, 与酒石酸美托洛尔的银镜反应生成的镜面极为相似, 仅镜面颜色不同。

#### 5 讨论

5.1 市场抽样标示为酒石酸美托洛尔片的 2 批样品, 采用 HPLC-MS/MS 和 HPLC-DAD 等各种分析方法, 确证了样品中不含酒石酸美托洛尔, 而是含有氯霉素。由此证明 2 批样品为以他种药品冒充此种药品的假药, 采用氯霉素冒充酒石酸美托洛尔的假药在国内尚属首次发现。

5.2 氯霉素照文献 [1] 鉴别项下的反应, 可在试管壁生成黑色镜面, 与酒石酸美托洛尔的银镜反应相似, 但镜面颜色不同; 且氯霉素的最大吸收波长为 274 nm, 与酒石酸美托洛尔的最大吸收波长 278 nm, 仅差 4 nm。因此, 造假分子利用氯霉素的化学性质和紫外吸收图谱与酒石酸美托洛尔相似的特点, 以氯霉素冒充酒石酸美托洛尔进行制假售假。

5.3 本文中建立的液相色谱串联四极杆质谱方法可快速、准确地鉴定药品中是否含有酒石酸美托洛尔, 并通过质荷比、二级质谱分析和紫外吸收波长等信息对掺入的未知成分进行结构确证。对于以后此类以非药品冒充药品或以他种药品冒充此种药品的假药检验具有借鉴意义, 对于打击制假售假, 保障临床用药安全具有现实意义。

#### 参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2010 Vo II (二部): 863
- 2 ChP(中国药典). 2005 Vo II (二部): 638

(本文于 2010 年 4 月 1 日收到)