

液相色谱-串联质谱法同时检测中药制剂 中非法添加的 10 种糖皮质激素

姜春来,曹红,陈玉敏,水彩红,邢俊波,乌宁奇

[摘要] 目的 建立准确、灵敏的液相色谱-串联质谱方法,检查中药制剂中非法添加的 10 种糖皮质激素。方法 采用液相色谱-串联质谱分析法,以 SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 为色谱柱;流动相:乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液 (30:70);流速:0.3 ml/min;柱温:30℃;质谱条件:以正离子模式进行质谱数据采集。结果 10 种糖皮质激素高效液相色谱图分离度良好,质谱分辨率符合要求。结论 此方法简便、快速,灵敏度高,专属性强,可作为检测中药制剂中非法添加 10 种糖皮质激素的有效手段。

[关键词] 液相色谱-串联质谱分析法;糖皮质激素;中药制剂

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2011)06-0524-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.06.018

Determination of Ten Glucocorticoids in Traditional Chinese Medicine Preparations by High Performance Liquid Chromatography-Mass/Mass

JIANG Chun-lai, CAO Hong, CHEN Yu-min, SHUI Cai-hong, XING Jun-bo, WU Ning-qi

Institute for Drug and Instrument Control, Health Dept, GLD of PLA, Beijing 100071, China

[Abstract] **Objective** To establish an high performance liquid chromatography-mass/mass spectrometry method for the identification of ten glucocorticoids which may be illegally adulterated in Traditional Chinese Medicine preparations. **Methods** The determination was carried out by liquid chromatography-mass/mass spectrometry in the positive mode using a VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column and acetonitrile/10 mmol/L ammonium acetate (30:70) as the eluting solvent. The flow rate was 0.3 ml/min and the column temperature was 30℃. **Results** A good resolution of the ten kinds of glucocorticoids was reached in the high performance liquid chromatography-mass analysis. **Conclusion** The method is simple, rapid, sensitive and specific and can be used to detect the ten glucocorticoids illegally added in in Traditional Chinese Medicine preparations.

[Key words] high performance liquid chromatography-mass/mass; glucocorticoids; Traditional Chinese Medicine preparations

糖皮质激素是由肾上腺皮质分泌的一类甾体激素,具有调节糖、脂肪和蛋白质的生物合成和代谢的作用,还有抑制免疫应答、抗炎、抗毒、抗休克的作用,尤其对风湿热、风湿性心肌炎、风湿性及类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、皮炎等自身免疫性疾病有显著疗效^[1]。但是过量应用本类药物,可引起多种代谢紊乱。一些为牟取暴利的不法商人,在所谓的特效中药制剂中添加糖皮质激素,使服用的患者在短期内症状明显改善。如果长期使用,必将对患者的健康造成更大的危害。本文采用液相色谱-串

联质谱 (high performance liquid chromatography-mass/mass, HPLC-MS/MS) 法检测中药制剂中非法添加的 10 种糖皮质激素,该方法简便、快速、灵敏度高,为患者健康提供科学保障。

1 仪器与试剂

6410A 三重四极杆液-质联用仪,配有电喷雾源、自动进样器及二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司)。曲安西龙、泼尼松龙、氢化可的松、甲泼尼龙、倍他米松、地塞米松、醋酸泼尼松龙、醋酸氢化可的松、醋酸泼尼松龙、醋酸可的松(中国药品生物制品检定所);供试品为市场上销售的一种中成药;甲醇、乙腈、乙酸铵为色谱纯,水为超纯水。

作者简介:姜春来,在读硕士。研究方向:药物分析。Tel: (010) 66949081

作者单位:100071 北京 总后勤部卫生部药品仪器检验所

2 方法与结果

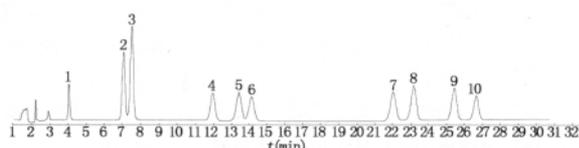
2.1 色谱及质谱条件 (1) 色谱条件 色谱柱: SHI-MADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液(30:70); 流速: 0.3 ml/min; 柱温: 30°C; 进样量: 10 μl。(2) 质谱条件 电喷雾源 源电压 4.0 kV 毛细管电压 20 V 脱溶剂气温度 350°C 鞘气流速 9.0 L 正离子扫描检测, 扫描方式采用全扫描一级质谱 多反应监测扫描 质量范围 50~1000。具体参数见表 1。

表 1 10 种糖皮质激素的质谱参数

编号	名称	分子式	[M+H] ⁺ (m/z)	碎片离子 m1 (m/z)	碎片离子 m2 (m/z)	碎裂电压	碰撞电压
1	曲安西龙	C ₂₁ H ₂₇ FO ₆	395.2	225.1	357.0	100	10
2	泼尼松龙	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	361.2	147.0	343.1	100	10
3	氢化可的松	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	363.2	121.1	309.1	130	20
4	甲泼尼龙	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	375.2	339.1	356.9	100	5
5	倍他米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	393.2	355.2	373.1	100	5
6	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	393.2	291.3	355.0	100	10
7	醋酸泼尼松龙	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	403.2	147.1	385.2	100	15
8	醋酸氢化可的松	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	405.2	120.9	241.2	140	25
9	醋酸泼尼松	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	401.2	147.1	295.0	120	15
10	醋酸可的松	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	403.2	162.6	343.1	140	20

2.2 溶液的制备 (1) 供试品溶液 取供试品粉末 0.5 g, 精密称定, 置 50 ml 量瓶中, 加入甲醇适量 超声处理使溶解, 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀 滤过, 取滤液过微孔滤膜, 即得。(2) 对照品溶液 取所测定的 10 种糖皮质激素对照品适量 精密称定, 加甲醇适量 超声使溶解, 分别制成 200 μg/L 的溶液。(3) 混合对照溶液 分别精密量取对照品溶液 1 ml 置 100 ml 量瓶中, 制成浓度均为 2 μg/L 的混合对照品溶液。

2.3 10 种糖皮质激素的总离子流色谱图 全扫描一级质谱和多反应监测扫描行为 精密量取 2.2 项下供试品和对照品溶液各 10 μl 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 10 种糖皮质激素得到较好分离。总离子流色谱见图 1, 全扫描一级质谱见图 2, 多反应监测扫描见图 3。



1~10: 见表 1 编号

图 1 总离子流色谱

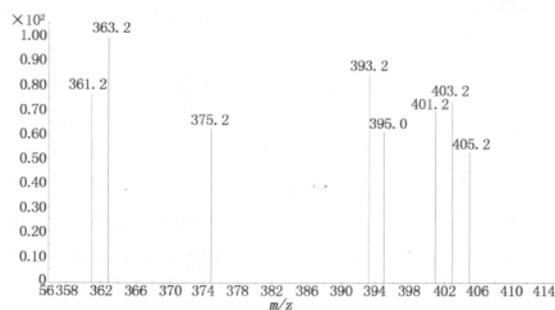


图 2 全扫描一级质谱

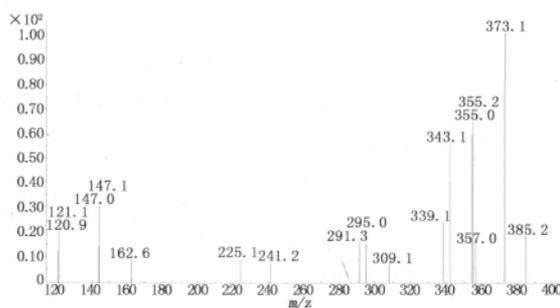


图 3 多反应监测扫描

2.4 重复性试验 精密量取 2.2(2) 项下对照品溶液 连续进样 6 次, 在总离子流色谱中保留时间的 RSD 均在 0.5% 以内, 表明方法稳定性良好。

2.5 供试品中激素的测定 通过比较样品与对照品的一级、二级质谱和多反应监测扫描图, 可以确定样品中含有地塞米松成分, 见图 4~6。

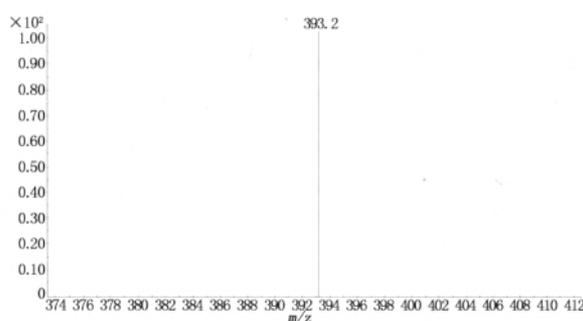


图 4 供试品中地塞米松的一级质谱

2.6 检出限 取 2.2(2) 项下的对照品溶液, 逐级稀释 测定各成分的检出限, 以多反应监测扫描中色谱峰的信噪比(S/N=3) 计算, 其中甲泼尼龙、倍他米松、地塞米松的检出限为 3 ng, 曲安西龙、泼尼松龙、醋酸泼尼松龙、醋酸氢化可的松的检出限为 4 ng, 氢化可的松、醋酸泼尼松的检出限为 14 ng, 说明方法具有较高的灵敏度, 可以快速做出定性鉴别。

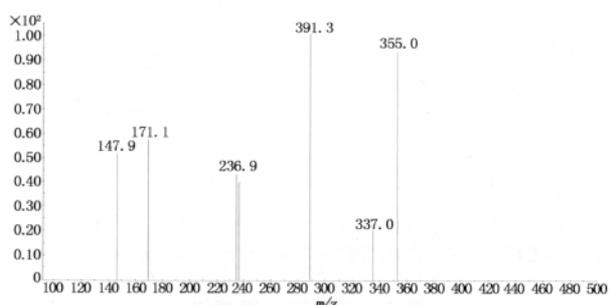


图 5 供试品中地塞米松的二级质谱

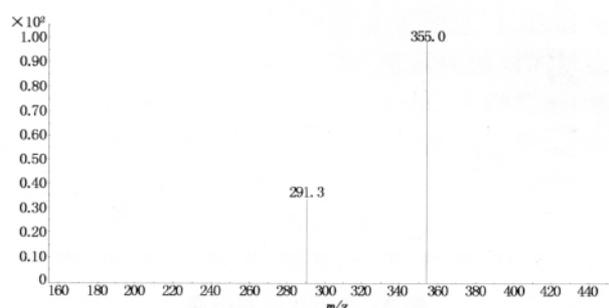


图 6 供试品中地塞米松的多反应监测扫描

3 讨论

3.1 流动相的选择 本文流动相采用乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液(30:70) 等度洗脱, 虽然洗脱时

间较长, 但 10 种糖皮质激素的分离效果和峰形较佳。文献[2] 阐述 在等度洗脱下 不能有效分离多种糖皮质激素, 尤其是泼尼松龙和氢化可的松、倍他米松和地塞米松两组糖皮质激素。经反复试验, 其原因不仅仅在流动相上, 也与色谱柱的选择有关。

3.2 色谱柱的选择 在试验中发现, 首先选用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈(2.1 mm × 50 mm 3.5 μm) 色谱柱, 仅通过调整流动相不能分离泼尼松龙和氢化可的松、倍他米松和地塞米松两组糖皮质激素, 而采用 SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈(4.6 mm × 150 mm 5 μm) 色谱柱则可较好分离, 说明适当的增加色谱柱的柱长、内径和粒径可以明显提高糖皮质激素的分离度。

本文报道了的 10 种糖皮质激素的检测方法, 该方法简便、快速、灵敏度高, 专属性强。

[参考文献]

[1] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学(第 16 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007. 622
 [2] 雷玉萍, 殷帅, 吴公平. 中成药和保健食品中非法添加肾上腺皮质激素类药物的检测方法研究[J]. 中医药导报, 2009, 15(5): 81-83

(收稿日期: 2010-10-07; 修回日期: 2011-03-10)

(本文编辑 金杨红)

(上接 486 页) 高剂量组可明显减轻⁶⁰Coγ 射线全身照射所致肺损伤, 表现为肺脏指数较模型组显著降低, 肺脏组织结构大体存在, 肺泡数目明显多于模型组, 肺泡间隔距离较模型组短, 结果表明高剂量组具有保护辐射后肺脏呼吸功能的作用。

低、中、高剂量凉血活血颗粒升高外周血中 WBC 的作用不明显, 与低、中、高剂量组保护肺脏、升高骨髓 DNA 的实验结果不相一致, 其原因与低、中、高剂量组药效时间有关。由于本次实验采血均在末次给药后 24 h, 推测凉血活血颗粒药效时间已过, 血液中的 WBC 多已归巢, 今后需进一步观察凉血活血颗粒对储存池和边缘池^[5] 中 WBC 的动员能力。

凉血活血颗粒化裁于犀角地黄汤, 去掉过于苦寒的犀角或水牛角, 以生地黄为君药, 生地黄甘寒质润养阴, 苦寒泄热入营血, 为滋阴清热、凉血之要药; 牡丹皮苦辛寒, 能清热凉血, 活血化瘀; 川芎辛温, 为血中之气药, 具行气活血祛瘀之功效, 且能克服君药生地苦寒伤正之性; 连翘解毒散结, 轻清上浮, 透热转气, 尚可引诸药到达上焦。该方与急性放射病-肺损伤热毒血瘀病

机相符, 具有截断扭转^[6] 透热转运之特点。

综上, 高剂量对急性放射病-肺损伤具有较好的防治作用, 今后将继续研究凉血活血颗粒药量与药效的关系, 并探讨其作用机制。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 38; 115-116; 159; 160-161
 [2] 徐冰心, 郑思新, 岳茂兴. E803 药物对⁶⁰Coγ 射线照射小鼠造血系统的防护作用[J]. 解放军药学报, 2004, 20(6): 404-407
 [3] 韩阿如娜, 余祖胤, 刘晓兰, 等. 大剂量 rhG-CSF 早期单次给药对⁶⁰Coγ 射线照射小鼠的治疗作用[J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(7): 761-764
 [4] 刘智勤, 陈鹤汀, 李岩, 等. 肉苁蓉对化疗荷瘤小鼠造血和免疫功能的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(11): 759
 [5] 宋善俊, 陈燕. 威廉姆斯血液学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 786; 914
 [6] 杜松, 曹洪欣. “截断扭转”疗法对温病理论的继承与发展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(5): 340-341

(收稿日期: 2011-07-08; 修回日期: 2011-09-06)

(本文编辑 金杨红)