

## GC-TOF-MS 技术快速鉴定抗风湿痛胶囊中添加的西药成分

吴胜明, 董 标, 王 娜, 李 昱, 梁月琴, 董方霆, 张学敏

(国家生物医学分析中心, 北京 100850)

**摘要:**应用高分辨 GC-TOF-MS 对抗风湿痛胶囊中的未知西药成分进行快速鉴定。使用不同极性的有机溶剂进行提取, 将提取物分别离心, 取上清液进行气质联用分析, 并借助 Nist 2002 数据库进行鉴定, 用精确分子质量和元素分析进行确证。分析发现, 此抗风湿痛胶囊中添加了甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲恶唑、安定、可待因、茶碱等 5 种西药。用液质联用仪对甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲恶唑进行了定量分析。该方法可用于未知混合物的分析, 同样适用于中药制剂中其他西药成分的快速检出。

**关键词:**GC-TOF-MS; 快速鉴定; 抗风湿胶囊; 西药成分

**中图分类号:**O657.63   **文献标识码:**A   **文章编号:**1004-2997(2007)04-214-05

## Rapid Determination of the Unknown Chemical Medicine by Gas Chromatography Time of Flight Mass Spectrometry

WU Sheng-ming, DONG Biao, WANG Na, LI Yu, LIANG Yue-qin,  
DONG Fang-ting, ZHANG Xue-min

(National Center of Biomedical Analysis, Beijing 100850, China)

**Abstract:** The unknown chemical medicine in antirheumatism capsules was determined rapidly by gas chromatography-time of flight mass spectrometry (GC-TOF-MS). Extraction of the capsules with different polar organic solvent was analyzed by GC-TOF-MS. The obtained pseudomolecular ions, fragment ions and accurate mass were used to identify the adulterated chemical medicine by the database Nist 2002. The result indicates that five drugs (theophylline, codeine, diazepam, trimethoprim, sulfamethoxazole) are illegally adulterated in the antirheumatism capsules. This method is rapidly and sensitively, which can be used to analyze the unknown mixture and the adulterated chemical medicine in hygienical foods.

**Key words:** GC-TOF-MS; rapid determination; antirheumatism capsules; chemical medicine

当前, 一些制假者利用中成药所含成分复杂、质量标准不完善的缺点, 在中成药生产过程中非法添加化学药品<sup>[1-2]</sup>, 给人们的身体健康造

成了严重危害。为了有效地打击造假行为, 准确、快速鉴定中药中外加的西药成分已成为当务之急。以前常用鉴别中药的方法主要有显色法、

薄层色谱法(TLC),它们都具有一定的局限性,如操作繁琐、可靠性程度不高、经常会有假阳性结果等<sup>[3-4]</sup>。随着科技的发展,气相色谱-质谱联用法已成为分析未知混合物的有效手段之一。本工作采用高分辨、高灵敏度的气质联用仪(GC-TOF-MS)对抗风湿胶囊进行定性分析,以发现非法添加的西药成分,并对其中成分进行定量分析。

## 1 实验部分

### 1.1 主要的仪器与试剂

HP6890GC-TOF-MS 气相色谱仪:美国 Waters 公司产品;Zabspec 高分辨磁质谱仪:美国 Waters 公司产品;Quattromicro LC-ESI-MS 三级四极杆质谱仪, Waters Alliance HPLC;氯仿、乙醚:国产分析纯;甲醇:色谱纯, MERCK 公司产品。

### 1.2 实验条件

**1.2.1 气相色谱-质谱分析条件** 色谱柱:DB-5 (30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:初始温度 50 ℃,以 10 ℃·min<sup>-1</sup>升至 160 ℃,再以 8 ℃·min<sup>-1</sup>升至 280 ℃;恒流进样;进样量 1 μL;进样口温度 260 ℃;载气(He)流速 1 mL·min<sup>-1</sup>;外标法校正仪器;源温 180 ℃;电离电压 70 eV;质量扫描范围  $m/z$  20~800。

**1.2.2 高分辨磁质谱仪分析条件** EI 源;源温 200 ℃;电子能量 70 eV;加速电压 8 kV;光电倍增管电压 650 V;固体直接进样;质量扫描范围  $m/z$  50~1 000;仪器误差小于 0.5 u。

**1.2.3 液相色谱-质谱分析条件** Waters Xtterra(2.1×150 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相:V(0.1% 甲酸水溶液):V(甲醇)=20:80, pH 3.5, 流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>;正离子方式,锥电压

33 V,碰撞电压 29 V;定量采用多离子监测技术(MRM);定量监测离子:291.0 > 123.0 和 252.0 > 156.0。

### 1.3 抗风湿痛胶囊的提取、分离

(1)精密称取 3 份抗风湿胶囊,每份约 20 mg,分别置于 5 mL 刻度离心管中。按照极性由小到大的顺序,分别用不同溶剂进行超声提取、离心取上清液。

(2)将抗风湿胶囊内容物研成粉末,并取该粉末适量,直接进样分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 抗风湿痛胶囊中外加西药的成分分析

**2.1.1 两种不同离子源的结果比较** 将胶囊粉末直接进样,获得电子轰击(EI)质谱图,示于图 1。在酸性条件下,甲醇提取液进样,获得快原子轰击(FAB)质谱图,示于图 2。比较两者主要的分子离子峰基本吻合。

**2.1.2 提取液的分析结果** 通过 GC-TOF-MS 对不同溶剂提取物进行分析,结果表明:在进样口温度 290 ℃,酸性条件下,甲醇提取液经 GC 分离得到满意结果;甲醇提取液 GC 分析总离子流结果示于图 3a,图 3b~3f 分别对应不同保留时间的质谱图。对这 5 个图谱进行 Nist 谱库检索,得到的结果列于表 1。谱库检索表明,该制剂中含有甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲恶唑、安定、可待因、茶碱等 5 种西药成分。

为了进一步确证抗风湿胶囊中含有以上 5 种成分,将其进行高分辨的精确质量和元素组成分析,得到的结果列于表 2。通过精确质量分析,它们的误差均在 10<sup>-5</sup> 以下,这进一步证实了谱库检索结果的可靠性。

表 1 抗风湿胶囊未知西药成分的分析结果

Table 1 Analysis results of unknown chemical medicine in the antirheumatism capsules

化合物 Compound	保留时间 $t_R$ /min	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Relative formular mass	相似度 Similarity/%
茶碱 Theophylline	7.82	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	180	907
可待因 Codeine	9.49	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	299	928
地西洋 Diazepam	9.69	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> OCl	284	921
甲氧苄啶 Trimethoprim	10.43	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	290	915
磺胺甲噁唑 Sulfamethoxazole	11.21	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253	858

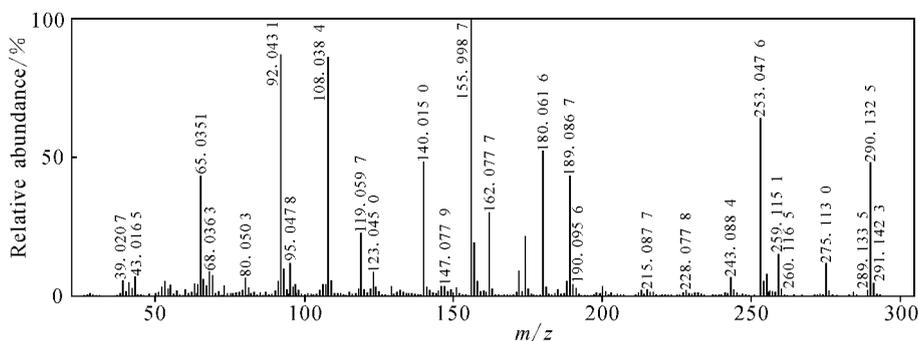


图 1 粉末总离子流质谱图

Fig. 1 Full scan EI mass spectrum of the powder

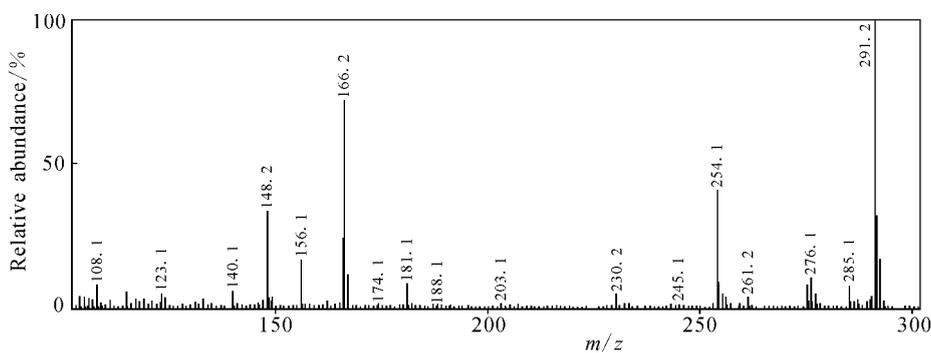


图 2 甲醇提取液快原子轰击质谱图

Fig. 2 Full scan FAB mass spectrum of extract of methanol

表 2 精确质量和元素组成分析结果

Table 2 Analysis results of accurate mass and components

化合物 Compound	分子式 Molecular formula	计算质量 Calculated mass	实测质量 Measurement mass	误差 10 <sup>-6</sup>
茶碱 Theophylline	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	180.064 7	180.063 9	-4.6
可待因 Codeine	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	299.152 1	299.151 9	-0.8
地西洋 Diazepam	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> OCl	284.071 6	284.071 5	-0.5
甲氧苄啶 Trimethoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	290.137 9	290.137 2	-2.4
磺胺甲噁唑 Sulfamethoxazole	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253.052 1	253.053 6	-5.9

2.1.3 定量分析 将提取的样品稀释后,利用 LC-MS/MS 进行定量分析,测得该胶囊内容物中含有 103 mg · g<sup>-1</sup> 甲氧苄啶, 26 mg · g<sup>-1</sup> 磺胺甲恶唑。

## 2.2 讨论

(1) 在纯中药制剂中非法添加西药成分, 鼓吹其疗效, 已经是很多不法厂商常用的方法。在治疗男性功能障碍的“纯中药”制剂中加入“伟哥”的成分——西地那非; 在减肥药中加入能导致人出现“甲亢”症状的甲状腺激素等现象已经屡见不鲜, 这给不明真相的无辜患者带来药物副

作用的危险, 长期服用会引起药物的蓄积中毒<sup>[1,5-6]</sup>。本工作所分析的抗风湿胶囊不止添加了一种西药, 而且每种西药的类型和作用(抗菌、麻醉、镇静)各不相同, 副作用大, 难免给患者身心带来极大的危害。因此, 建立 GC-TOF-MS 快速鉴别纯中药制剂中非法添加的西药成分, 对确保用药安全、维护人民群众的身体健康具有重要意义<sup>[7-8]</sup>。

(2) 本实验通过对不同溶剂的提取物进行 GC-TOF-MS 和 FAB 谱图的对比, 发现在酸性条件下, 甲醇提取物在 FAB 中能够得到理想的

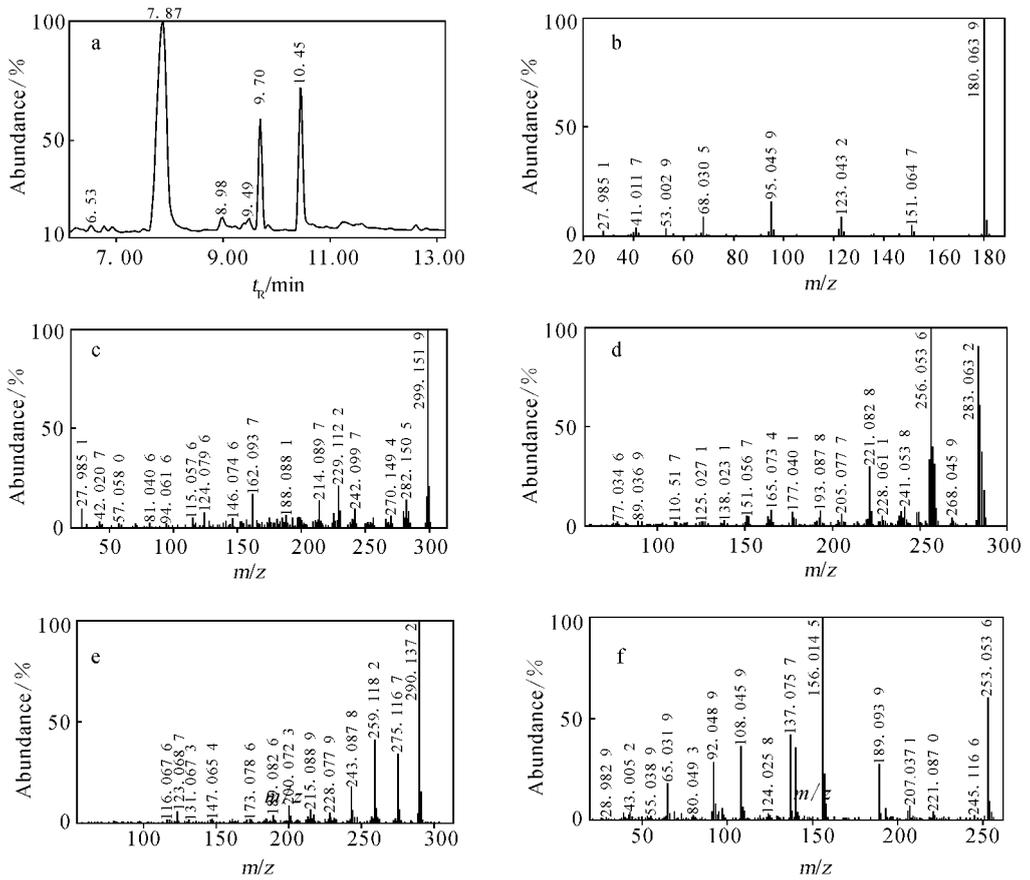


图 3 经甲醇提取的抗风湿胶囊气相色谱图和质谱图

a—甲醇提取物的气相色谱图；b—保留时间为 7.85 min 对应的质谱图；c—保留时间为 9.49 min 对应的质谱图；  
d—保留时间为 9.70 min 对应的质谱图；e—保留时间为 10.45 min 对应的质谱图；f—保留时间为 11.24 min 对应的质谱图

Fig. 3 TIC and mass spectrometry of extracts of antirheumatism capsules

a—TIC of extracts ion with methanol; b—mass spectrometry of  $t_R$  7.85 min; c—mass spectrometry of  $t_R$  9.49 min;  
d—mass spectrometry of  $t_R$  9.70 min; e—mass spectrometry of  $t_R$  10.45 min; f—mass spectrometry of  $t_R$  11.24 min

结果。但同样的提取物在进行 GC-TOF-MS 分析时,与 FAB 有很大的差异。这可能有 3 个原因:其一,升温程序不对,导致提取物得不到有效地分离。通过改变升温程序和单离子提取,也得不到相应离子峰,这说明与升温程序关系不大;其二,进样口的温度不够高,达不到被检化合物的汽化温度。通过进样口温度的改变,发现在保留时间 10.45、11.24 min 时多出两个不同的峰,通过质谱分析以及谱库检索,查出保留时间 10.45 min 的峰对应物质为甲氧苄啶,保留时间 11.24 min 的峰对应物质为磺胺甲噁唑;其三,在进行不同溶剂提取时,酸碱的环境不合适也会影响提取效率。通过以上分析,建立了一整套非传统中药制剂的分析方法,并可利用 GC-TOF-MS 快速、灵敏地进行分离、鉴定。

#### 参考文献:

- [1] 宋占军,董方霆,魏开华,等.应用 FTIR 分析技术快速鉴定中药伟哥中的西地那非[J].解放军药理学学报,2003,19(5):357-359.
- [2] 郭继芬,陈笑艳,钟大放.6 种口服降糖药的液相色谱-质谱分析[J].分析测试学报,2000,19(6):5-8.
- [3] CHENG H L, TSENG M C, TSAI P L, et al. Analysis of synthetic chemical drugs in adulterated Chinese medicines by capillary electrophoresis/electrospray ionization mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2001, 15(16): 1473-1480.
- [4] HUANG W F, WEN K C, HSHAO M L. Adulteration by synthetic therapeutic substances of traditional Chinese medicines in Taiwan[J]. J Clin Pharmacol, 1997, 37(4): 344-350.

- [5] 吴立文, 王莎丽. 关于中药制剂内添加抗癫痫西药的调查报告[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2000, 7(1): 29-30.
- [6] 李绍鸿. 香港精神药物滥用的新趋势、面对挑战的新行动及新策略[J]. 中国药物依赖性杂志, 2001, 10(1): 18-20.
- [7] SNYMAN T, STEWART M J, GROVE A, et al. Adulteration of South African traditional herbal remedies[J]. Ther Drug Monit, 2005, 27(1): 86-89.
- [8] SCHWARZHOFF R, CODY J T. The effects of adulterating agents on FPIA analysis of urine for drugs of abuse[J]. J Anal Toxicol, 1993, 17(1): 14-17.

## 2008 年《色谱》征订启事

《色谱》是中国化学会主办、中科院大连化学物理研究所和国家色谱研究分析中心承办、科学出版社出版、国内外公开发行的专业性学术期刊,于 1984 年创刊。主要报道国内外色谱学科及其相关研究领域的前沿课题和最新科研进展,介绍中国色谱学科的新理论、新方法、新技术及其相关技术,介绍色谱及其相关理论和技术在各领域的应用情况以及色谱仪器与部件的研制开发进展。适于从事色谱理论研究及分析工作的化学分析工作者、大专院校相关专业的师生、色谱仪器开发单位的有关人员阅读。本刊常设栏目有研究论文、研究快报、专论与综述、技术与应用、学术会议及展会信息等,并不定期刊登有关色谱领域热点及重点的专题论文;另有与色谱相关的书讯、色谱仪器及相关产品广告等内容。

《色谱》是我国自然科学核心期刊,已被美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘》(CSA)、美国《医学索引》(Medline)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、英国《分析文摘》(AA)、波兰《哥白尼索引》及《中国核心期刊要目总览》、《中国科学引文数据库》、《中国科技期刊精品数据库》、《中国学术期刊文摘》、《中国科技论文统计与分析》、《中国期刊全文数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中文科技期刊数据库》、《万方数据—数字化期刊群》、《中国生物学文摘》、《中国生物学文献数据库》等国内外数据库及检索系统收录。

《色谱》为双月刊,大 16 开本,单月 30 日出版。单价 15 元,全年 90 元。国际标准刊号 ISSN 1000-8713,国内邮发代号 8-43,订户也可直接与《色谱》编辑部联系订购。

《色谱》的英文网络版期刊(国际标准刊号 ISSN 1872-2059)由 Elsevier 出版社负责相关订阅事宜。详情请登陆 <http://www.elsevier.com/locate/cjchrm>。

另外,《色谱》编辑部尚有少量自创刊以来至 2004 年共计 22 卷全文检索光盘(DVD 1 张)。在该光盘中可以通过关键词(以论文中出现的任意词作为关键词)、作者、作者单位、文章题目、卷号、期号等项目方便快捷地检索并阅读、下载 1984 年到 2004 年《色谱》发表的全部论文。需要者请直接与《色谱》编辑部联系。该光盘现优惠价为 100 元。

邮局汇款邮购:

地 址 大连市中山路 457 号大连化物所院内

邮 编 116023

收款人《色谱》编辑部

银行汇款邮购:

户 名 中国科学院大连化学物理研究所

开户行 中国工商银行大连青泥洼桥支行

账 号 3400200309014415739

《色谱》编辑部联系方式:

电 话(0411)84379021

E-mail [sepu@dicp.ac.cn](mailto:sepu@dicp.ac.cn)

传 真(0411)84379600

网 址 [www.chrom-China.com](http://www.chrom-China.com)