

离子阱液质联用技术用于检测中药制剂中非法掺入的 吲哚美辛和醋酸泼尼松

曹 玲¹, 吴迪宏², 王 玉¹

(1. 江苏省药品检验所, 江苏 南京 210008; 2. 南通市药品检验所, 江苏 南通 226006)

Identification of Indometacin and Prednisone Acetate in Tianma Capsules by HPLC-Trap-MS

CAO Ling¹, WU Di-hong², WANG Yu¹

(1. Jiangsu Institute for Drug Control, Nanjing 210008, China;

2. Jiangsu Institute for Drug Control, Nantong 226006, China)

Abstract: A method was described to identify indometacin and prednisone acetate in Tianma capsules by HPLC-Trap-MS. The ESI(+) mode was used in MS. The indometacin standard substance, prednisone acetate standard substance and Tianma capsules were analyzed according to the information of retention time, relative molecule mass and fragment ions. From five analyzed samples, three were found indometacin and prednisone acetate simultaneity, one was found indometacin only, and one was found neither indometacin nor prednisone acetate. The method is specific, sensitive, convenient and it can be used efficiently for control and surveillance of illegal adding of chemical substance indometacin and prednisone acetate in the traditional chinese medicine.

Keywords: Tianma capsule; additives; HPLC-MS

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1004-2997 (2007) 增刊-103-04

天麻胶囊是由天麻、羌活、独活、牛膝等组成的中药复方制剂, 具有祛风除湿、舒筋通络、活血止痛等功效, 主要用于治疗肢体拘挛、手足麻木、腰腿酸痛等症^[1]。吲哚美辛又名消炎痛, 为吲哚类非甾体抗炎药, 其解热、缓解炎性疼痛作用明显, 且价格低廉, 目前广泛用于治疗类风湿性关节炎, 但一般不适合作为解热镇痛的长期用药, 作为非处方药仅限外用。醋酸泼尼松是临床上应用较为广泛的肾上腺皮质激素类药, 具有抗炎、抗过敏、抗风湿、免疫抑制作用, 主要用于过敏性与自身免疫性炎症性疾病。天麻胶囊中加入吲哚美辛和醋酸泼尼松后可明显增强疗效, 但长期服用有严重的副作用。吲哚美辛可引起胃肠道反应和中枢神经系统的反应, 可引起肝功能损害, 粒细胞减少和过敏反应, 严重者可发生呼吸急促、呼吸困难、哮喘胸闷、肺水肿、脉管炎和休克症状, 尤其口服副作用发生率较高。长期较大量服用醋酸泼尼松易引起糖尿病、消化道溃疡、骨质丢失等副作用^[2-3], 因此检测天麻胶囊中是否非法加入吲哚美辛和醋酸泼尼松对于临床用药具有一定的实际意义。因天麻胶囊是一种中药复方制剂, 本工作采用先进的离子阱液质联用技术, 利用相对分子质量和碎片信息, 快速、简便的检测其中掺入的吲哚美辛和醋酸泼尼松成分。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

Agilent 1100 Series LC/MSD Trap 高效液相色谱质谱联用仪: 美国 Agilent 公司产品, 含在线脱

气机、双高压梯度泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器；离子阱质谱配有电喷雾离子（ESI）源。

1.2 主要材料和试剂

测试用天麻胶囊由南通市药品检验所提供(批号：050103、050404、041118、041113、050401)；吲哚美辛对照品（批号 100258-200403）、醋酸泼尼松对照品（批号 10012-0105）均购自中国药品生物制品检定所；甲醇、乙腈：色谱纯，Tedia 公司产品；水为超纯水；其余试剂均为分析纯。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱与质谱条件 色谱柱：Phenomenex Luna(2) C₁₈ (250×4.6 mm, 5μm)，流动相：V(0.1 mol·L⁻¹冰醋酸溶液): V(乙腈)=40: 60；流速：1.0 mL·min⁻¹；柱温：30 ℃；进样量 20 μL。色谱柱流出物依次经紫外二极管阵列和质谱串联检测，紫外检测波长分别为 240 nm（醋酸泼尼松）和 228 nm（吲哚美辛）。质谱参数：ESI 离子源，正离子方式检测，质量扫描范围 m/z 200~550，雾化气压力 275.6 kPa，干燥气（N₂）流速 8.0 L·min⁻¹，干燥气温度 350 ℃，喷雾电压 4 kV，裂解电压 2.0 V，分流比 5: 1。

1.3.2 对照品溶液和样品的制备 分别取醋酸泼尼松和吲哚美辛对照品适量，加甲醇溶解并制成每 1 mL 中分别含 1 μg 和 10 μg 的溶液作为对照品溶液。

取天麻胶囊 10 粒内容物，混匀，精密称取相当于 1 粒量的内容物，置 100 mL 量瓶中，加甲醇适量，超声处理 30 min，放冷，滤过，取续滤液作为供试品溶液。

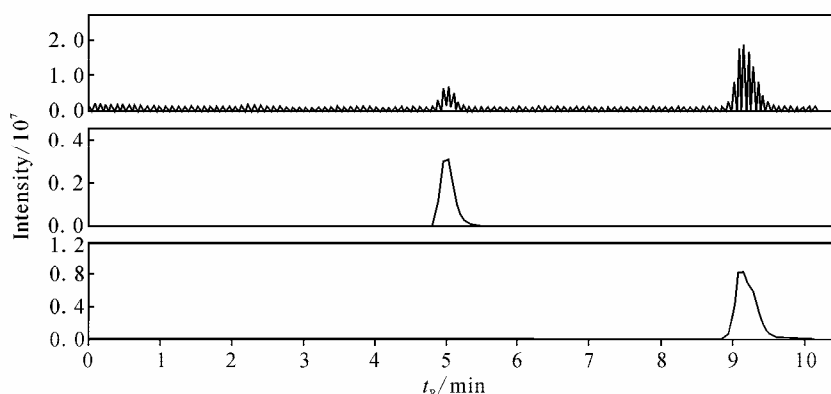


图1 对照品 TIC 和 EIC 图

1: 醋酸泼尼松; 2: 吲哚美辛

2 结果和讨论

2.1 对照品的 LC/MS 分析

取对照品溶液 10 μL 注入 HPLC-ESI-MS 系统，记录总离子流图（TIC）示于图 1。TIC 图中，醋酸泼尼松的保留时间为 5.0 min，吲哚美辛的保留时间为 9.1 min。根据各自的分子量分别对图谱进行提取离子，结果在各自的提取离子流图（EIC）中，二者保留时间均与 TIC 中一致。分别记录醋酸泼尼松和吲哚美辛的一级和二级质谱图（示于图 2、3）。

2.2 天麻胶囊供试品的 LC/MS 分析

分别取不同批号的天麻胶囊供试品溶液 10 μL 注入 HPLC-ESI-MS 系统，记录总离子流图(TIC)，并提取 m/z 400、357 的离子，结果在各自的提取离子图(EIC)中，050103 批样品在保留时间 5.0 min 和 9.1 min 附近均未检出色谱峰，050404 批样品仅出现保留时间为 9.1 min 的色谱峰，041113、041118、050401 批样品均出现保留时间分别为 5.0 min 和 9.1 min 的色谱峰，其各自的一级质谱和二级质谱分别示于图 5、6。

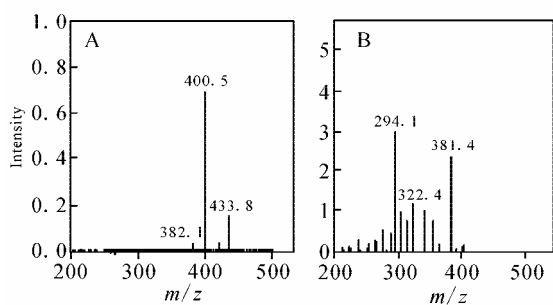


图 2 醋酸泼尼松对照品的一级(A)和二级(B)质谱图

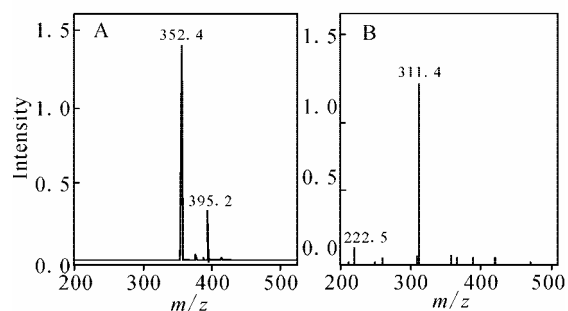


图 3 吲哚美辛对照品的一级(A)和二级(B)质谱图

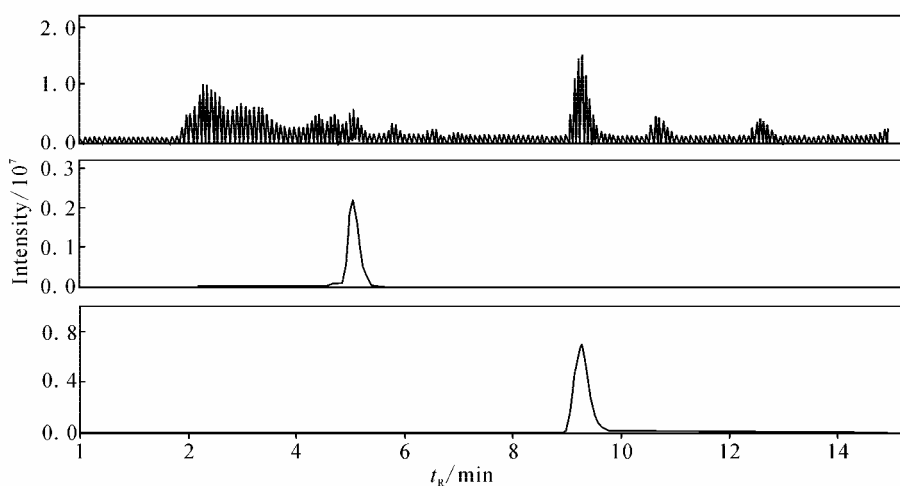
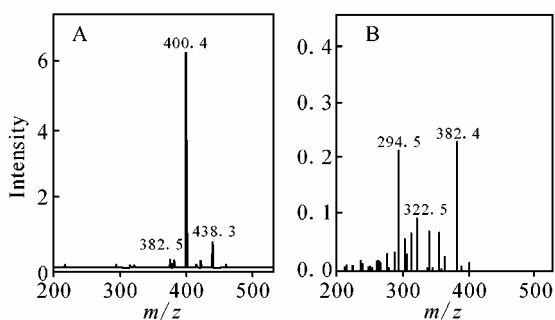
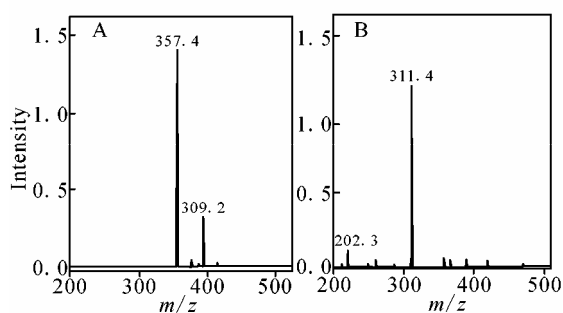


图 4 天麻胶囊供试品 (041115) 的 TIC 和 EIC 图

1: 醋酸泼尼松; 2: 吲哚美辛

图 5 供试品溶液中保留时间为 5.0min
色谱峰的一级(A)和二级(B)质谱图图 6 供试品溶液中保留时间为 9.2min
色谱峰的一级(A)和二级(B)质谱图

2.3 质谱数据

由各样本一级和二级质谱图和质谱数据可见, 供试品溶液中保留时间 5.0 min 和 9.2 min 处色谱峰的一级和二级质谱图与醋酸泼尼松和吲哚美辛对照品的一级和二级质谱图完全一致, 可以判断 050103 批样品未添加醋酸泼尼松和吲哚美辛, 050404 批样品仅非法添加了吲哚美辛, 而 041113、041118、050401 批样品均同时非法添加了醋酸泼尼松和吲哚美辛。

2.4 质谱数据解析

在上述质谱系统中, 醋酸泼尼松和吡哌美辛的质谱数据解析示于表 1。

表 1 醋酸泼尼松和吡哌美辛 MS 和 MS² 数据

醋酸泼尼松		吡哌美辛	
<i>m/z</i>	归属	<i>m/z</i>	归属
438.3	$[M-H+K]^+$	395.2	$[M-H+K]^+$
400.5	$[M]^+$	357.4	$[M]^+$
382.5	$[M-H_2O]^+$	311.4	$[M-H-COOH]^+$
322.5	$[M-CH_3COOH-H_2O]^+$	219.6	$[M+H-Cl-C_6H_4CO]^+$
294.6	$[M-CH_3COOH-CO-H_2O]^+$		

3 结论

离子阱液质联用仪以其独特的多级质谱功能被广泛地用于化合物的结构剖析、药物代谢以及多肽和蛋白质分析等, 近几年来在中成药非法添加的检测中也发挥了巨大作用^[4], 它既具有液相色谱柱对复杂化合物的分离能力, 又体现了质谱的选择性和准确定性能力。本工作采用离子阱液质联用技术对复杂的中成药中非法添加的吡哌美辛和醋酸泼尼松进行监测, 结果有 3 批样品同时非法添加了醋酸泼尼松和吡哌美辛, 经进一步测定, 醋酸泼尼松每粒的加入量约为 0.3 mg, 吡哌美辛每粒加入量为 2.5~3.0 mg, 按每日 16 粒计算, 平均每日最大摄入量可达到醋酸泼尼松约 4.8 mg、吡哌美辛约 48 mg, 几乎达到了各自的治疗剂量。本方法简便、快速、准确, 可用作鉴别中药制剂中非法掺入的吡哌美辛和醋酸泼尼松。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂第三册[M]. WS3-B-0500-91, 1991: 32.
- [2] 寿涛, 李芹. 吡哌美辛使用情况调查及严重副作用分析[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(2): 109-110.
- [3] 朱静, 周彬. 糖皮质激素诱发的骨质疏松症[J]. 实用医院临床杂志, 2001, 11(4): 50-52.
- [4] 黄华花, 黄有霖, 郭素华. 中成药中非法添加化学药的检测方法[J]. 海峡药学, 2007, 19(2): 87-88.

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。

《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>。

《色谱》编辑部电话: 0411-84379021; 传真: 0411-84379600; E-mail: sepu@dicp.ac.cn; 网址: www.chrom-China.com。