

HPLC同时检测保健品及中成药中非法添加 9种抗高血压化学药物的研究

刘吉金,杨敏,李军,王铁杰(深圳市药品检验所,广东 深圳 518029)

摘要:目的 建立一种 RP-HPLC-DAD条件可同时对降压保健品及中成药中非法添加的 9种化学合成降压药(阿替洛尔、氢氯噻嗪、盐酸可乐定、卡托普利、酒石酸美托洛尔、盐酸普萘洛尔、盐酸地尔硫卓、利血平、苯磺酸氨氯地平)进行检查的方法。方法 采用 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱, 甲醇为流动相 A, 0.03 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调 pH 值至 3.0) 为流动相 B, 进行梯度洗脱; 流速: 0.7 mL·min⁻¹; 柱温: 35 ℃; 二极管阵列检测器, 检测波长为 215 nm, 并同时采集 200~400 nm 的光谱图。结果 在本色谱条件下, 9种降压药有很好的分离度, 最小检出量阿替洛尔、盐酸可乐定、卡托普利、苯磺酸氨氯地平、酒石酸美托洛尔为 25 ng, 氢氯噻嗪、盐酸地尔硫卓为 10 ng, 盐酸普萘洛尔、利血平为 5 ng。结论 本法简便准确, 可作为降压保健品及中成药中非法添加化学成分的快速筛查方法。

关键词: 保健品; 中成药; 非法添加; 抗高血压药物; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R927.12; R972.4 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)08-0717-03

Study on the Method for Separation and Identification of 9 Antihypertensives by HPLC

LIU Ji-jin, YANG Min, LI Jun, WANG Tie-jie (Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a RP-HPLC for the simultaneous separation and identification of 9 antihypertensives (Atenolol, Hydrochlorothiazide, Clonidine Hydrochloride, Captopril, Metoprolol Tartrate, Propranolol Hydrochloride, Diltiazem Hydrochloride, Reserpine, Amlodipine Besylate) which were illegally added into the the products of health care and Chinese traditional patent medicines. **METHODS** The chromatography system consisted of C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) column and mobile phase consisted of methanol - 0.03 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate (using phosphoric acid to adjust pH to 3.0) with linear gradient elution. The flow rate was 0.7 mL·min⁻¹. The column temperature was 35 ℃ and the detection wavelength was set at 226 nm and simultaneously collected the spectrum at wavelength of 200-400 nm. **RESULTS** On the condition of the selected chromatogram, there was a good resolution among 9 antihypertensives, and the minimum detection quantity of Atenolol, Clonidine Hydrochloride, Captopril, Amlodipine Besylate, Metoprolol Tartrate were 25 ng, and Hydrochlorothiazide, Diltiazem Hydrochloride were 10 ng, Propranolol Hydrochloride, Reserpine were 5 ng. **CONCLUSION** This method is simple, accurate and can be employed in the examination of chemical medicine in the products of health care and Chinese traditional patent medicine for Antihypertensives.

KEY WORDS: The products of health care; Chinese traditional patent medicine; illegally add; Antihypertensives; HPLC

目前中药制剂及保健品中非法添加化学合成降压药的现象时有发生,对人民健康造成危害。降压类药品西药降压疗效迅速,但长期应用有些副作用,患者希望服用副作用小的中成药,造假者为迎合患者的这一需求,在一些降压中成药中擅自添加氢氯噻嗪等降压西药。患者误认为中成药属天然中药,不知其中添加了西药,如再和西药降压药同服,往往使血压骤然下降或发生较大波动,还易加重肾损害,诱发中风,甚至发生生命危险。本实验以阿替洛尔、氢氯噻嗪、盐酸可乐定、卡托普利、酒石酸美托洛尔、盐酸普萘洛尔、盐酸地尔硫卓、利血平、苯磺酸氨氯地平作为筛查目标。降压化学药的高效液相色谱测定已有报道^[1-2],但一次性确定所鉴别的中成药及保健品中是否非法添加了 9 种化学药品的检

测方法未见报道,为打击非法添加化学药品的行为,笔者建立了中成药及保健品中非法添加阿替洛尔、氢氯噻嗪、盐酸可乐定、卡托普利、酒石酸美托洛尔、盐酸普萘洛尔、盐酸地尔硫卓、利血平、苯磺酸氨氯地平的 RP-HPLC-DAD 检测方法。

1 仪器试剂

戴安 P680A 高效液相色谱仪(德国 DIONEX 公司, P680 泵, ASI-100 自动进样器, TTC-100 柱温箱, PDA-100 二极管阵列检测器)。

氢氯噻嗪(批号: 10309-0001)、盐酸可乐定(批号: 10071-9905)、卡托普利(批号: 10318-0001)、阿替洛尔(批号: 117-9302)、吲达帕胺(批号: 0257-9501)、苯磺酸氨氯地平(批号:

100374-200301)、酒石酸美托洛尔(批号:10084-0101)、盐酸普奈洛尔(批号:100783-200401)、盐酸地尔硫卓(批号:10161-0102)对照品:均购自中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂为分析纯。降压保健品及药品:实验样品为市场购买。

2 色谱条件与系统适用性试验

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇为流动相 A, 0.03 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(用磷酸调 pH 值至 3.0)为流动相 B,按表 1 进行梯度洗脱;流速:0.7 mL·min⁻¹;柱温:35℃;二极管阵列检测器,检测波长为 215 nm 及 200~400 nm 扫描。理论板数按盐酸普奈洛尔峰计算为 4 000。此色谱条件下,9 种对照品分离良好,色谱图见图 1,2;光谱图见图 3。

表 1 线性梯度运用时间表

时间 /min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~5	28	72
5~20	28→80	72→20
20~30	80	20
30~33	80→28	20→72
33~45	28	72

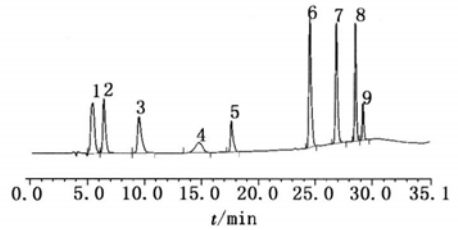


图 1 9 种化学降压对照品混合溶液 HPLC 图

1-阿替洛尔;2-氢氯噻嗪;3-盐酸可乐定;4-卡托普利;5-酒石酸美托洛尔;6-盐酸普奈洛尔;7-盐酸地尔硫卓;8-利血平;9-苯磺酸氨氯地平

Fig 1 Chromatogram of standards

1 - Atenolol; 2 - Hydrochlorothiazine; 3 - Clonidine Hydrochloride; 4 - Captopril; 5 - Metoprolol Tartrate; 6 - Propranolol Hydrochloride; 7 - Diltiazem Hydrochloride; 8 - Reserpine; 9 - Amlodipine Besylate

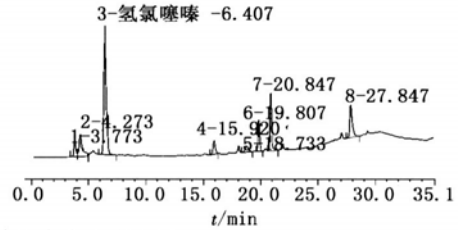


图 2 样品溶液 HPLC 图

Fig 2 Chromatogram of sample

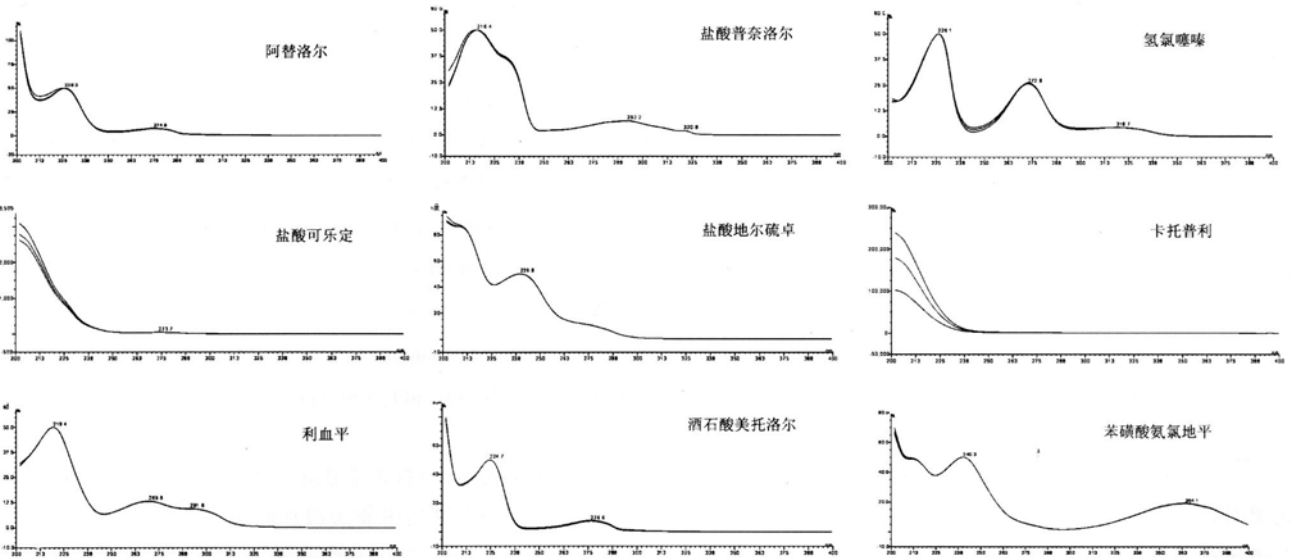


图 3 紫外光谱图

Fig 3 Spectrum of 9 chemical medicine for Antihypertensives

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备

分别精密称取阿替洛尔、氢氯噻嗪、盐酸可乐定、卡托普利、酒石酸美托洛尔、盐酸普奈洛尔、盐酸地尔硫卓、利血平、苯磺酸氨氯地平对照品 10 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇-乙腈(1:1)超声溶解并稀释至刻度,摇匀,制得对照品储备液。分别精密量取氢氯噻嗪、利血平、盐酸可乐定、苯磺酸氨氯地平、盐酸普奈洛尔储备液 1 mL,卡托普利、阿替洛尔、酒石酸美托洛尔、盐酸地尔硫卓 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇-乙

腈(1:1)稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 各含氢氯噻嗪、利血平、盐酸可乐定、苯磺酸氨氯地平、盐酸普奈洛尔 0.1 mg,卡托普利、阿替洛尔、酒石酸美托洛尔、盐酸地尔硫卓 0.2 mg 的混合溶液,即得。

3.2 供试品溶液的制备

取供试样品 1 次服用量(片剂研细,胶囊取内容物),置 50 mL 量瓶中,加甲醇-乙腈(1:1)适量,超声处理 5 min,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,滤液用 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

3.3 测定法

分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,同时记录二极管阵列紫外光谱。供试品高效液相色谱图中,在阿替洛尔、氢氯噻嗪、盐酸可乐定、卡托普利、酒石酸美托洛尔、盐酸普奈洛尔、盐酸地尔硫卓、利血平、苯磺酸氨氯地平对照品对照品相同保留时间处,不得检出与上述对照品保留时间及紫外光谱一致的色谱峰。

3.4 检测限

取“3.1”项下对照品溶液,逐级稀释,以信噪比为 3 时的浓度为检测限,结果阿替洛尔、盐酸可乐定、卡托普利、苯磺酸氨氯地平、酒石酸美托洛尔为 25 ng,氢氯噻嗪、盐酸地尔硫卓为 10 ng,盐酸普奈洛尔、利血平为 5 ng,符合测定要求。

3.5 稳定性

取混合对照品溶液,按含量测定方法,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定,结果色谱峰未见异常。结果表明混合对照品溶液 10 h 内测定基本稳定,考虑样品不可能同时添加上述 9 种化学药物,故未进行样品溶液的稳定性试验。

4 讨论

4.1 检测波长的确定及紫外光谱比较

取混合对照品溶液,进样,按上述色谱条件测定,同时记录二极管阵列紫外光谱,盐酸可乐定、卡托普利末端吸收较强,阿替洛尔、酒石酸美托洛尔、盐酸普奈洛尔、利血平 4 成

分在 220 nm 处都有较强吸收,盐酸地尔硫卓、苯磺酸氨氯地平 2 种成分在 240 nm 波长处有最大吸收,为兼顾 8 种成分同时测定,选择 215 nm 为检测波长,并同时采集 200 ~ 400 nm 的光谱图,比较供试品中相应色谱峰与对照品峰的紫外光谱。

4.2 利血平应避光操作,因其在光和热影响下,在 C-3 位上都将发生差向异构化现象,生成了 3-异利血平,在酸及碱性条件下,两个酯键水解,生成利血平酸。鉴于上述情况,对照品溶液应置于棕色量瓶中,避光保存,最好临用新配,硝苯地平、利血平溶液不适于长期保存,供试品溶液也应临用新配。

4.3 本法用普通 C_{18} 柱即可分离鉴定 9 种抗高血压化学成分,方法快速且灵敏,可作为降压保健品及中成药中非法添加化学成分的快速筛查方法。

参考文献

- [1] LI B, HU D F, LIU F. HPLC determination of atenolol and nifedipine in compound atenolol tablets. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2004, 15(5): 485.
- [2] CHE B Q. Determination of five compound hypotensive tablet by HPLC [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica* (药学报), 2004, 39(8): 618-620.

收稿日期: 2007-08-29