

吡罗昔康与美洛昔康的快速检测

刘惠民¹, 王仕平^{2*}, 刘卿¹(1.江西省宜春市人民医院药剂科, 江西 宜春 336000; 2.宜春市食品药品检验所, 江西 宜春 336000)

摘要: 目的 建立抗风湿类中成药中非法添加化学成分吡罗昔康与美洛昔康的快速检测方法。方法 采用化学鉴别方法进行快速筛查, 并用薄层色谱法进行进一步确认验证。结果 化学鉴别与薄层色谱法能快速准确的检测出抗风湿类中成药中非法添加化学成分吡罗昔康与美洛昔康。结论 本方法简便、快速、准确、专属性强, 可用于抗风湿类中成药中非法添加的吡罗昔康与美洛昔康的快速检测, 并且还能够在基层及国家配备的快检车上应用。

关键词: 吡罗昔康; 美洛昔康; 化学鉴别; 薄层色谱法

中图分类号: R927 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2010)11-1130-04

Rapid Detection of Piroxicam and Meloxicam

LIU Huimin¹, WANG Shiping^{2*}, LIU Qing¹(1. People's Hospital of Yichun, Yichun 336000, China; 2. Yichun Institute for Drug Control, Yichun 336000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish rapid detection method of piroxicam and meloxicam illegally added into anti-rheumatic traditional Chinese medicine. **METHODS** Identification by chemical methods to rapid screen, and to further verify by the thin-layer chromatography. **RESULTS** The chemical identification and thin-layer chromatography can rapid detect the anti-rheumatic traditional Chinese medicine illegally added ingredients piroxicam and meloxicam. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and specific. It can be used in the rapid detection of piroxicam and meloxicam illegally mixed into anti-rheumatic traditional Chinese medicine, and it also can be equipped at the national application of the faster cars seized.

KEY WORDS: piroxicam; meloxicam; chemical methods; TLC

吡罗昔康与美洛昔康均为苯并噻嗪类非甾体抗炎药, 两者均能抑制前列腺素的合成, 因而具有消炎镇痛的作用。但使用吡罗昔康与美洛昔康可能产生恶心、胃痛或胃肠道出血等胃肠不良反应, 甚至会引起肝功能异常等严重不良反应^[1]。然而, 一些不法企业为谋求暴利, 擅自在中成药中添加吡罗昔康或美洛昔康, 给患者带来极大的安全隐患。为打击此类不法分子, 确保临床用药安全。笔者查阅文献[2-3], 发现报道的非法添加成分的检测方法多为 HPLC 而少有化学鉴别方法, 不便于基层快速检查。于是, 笔者通过试验建立了抗风湿类中成药中非法添加化学成分吡罗昔康与美洛昔康的快速检测方法。

1 仪器与试剂

BP211D Sartorius 电子天平(十万分之一, 德国赛多利斯公司); FA1004 电子天平(万分之一, 上海天平仪器公司); SK250LHC 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); 929 型薄层铺板仪(重庆市中药研究所); CAMAG 紫外观测箱(254

nm/365 nm)(瑞士卡玛公司); 硅胶 GF254(青岛海洋化工厂); 其他试剂均为分析纯。

吡罗昔康对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100177-199802, 供含量测定用); 美洛昔康对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100679-200401, 供含量测定用); 其他对照品(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用); 抗风湿类药品(市场抽验): 天麻胶囊 9 批, 风湿定胶囊 4 批, 风痛安胶囊 3 批, 风湿关节炎片 3 批, 小活络丸 3 批, 舒筋活血片 2 批; 阴性对照品 6 批(天麻胶囊, 吉林益民堂制药有限公司, 批号: 20071022; 风湿定胶囊, 深圳金活药业有限公司, 批号: 20071101; 风痛安胶囊, 山东凤凰制药股份有限公司, 批号: 0701219; 风湿关节炎片, 四川省三星堆制药有限公司, 批号: 060601; 舒筋活血片, 山西好医生华禹制药有限公司, 批号: 20070210; 小活络丸, 山东健民药业有限公司, 批号: 070704)均按标准检验符合规定。

作者简介: 刘惠民, 男, 主任药师 Tel: 13907059706 E-mail: liuhuiming100@163.com *通信作者: 王仕平, 男, 药师 Tel: 13576162772 E-mail: wangshiping6@163.com

2 化学鉴别

2.1 溶液的制备

取供试品一次服用量(固体制剂研细,丸剂可加少量的硅藻土研细,液体制剂先蒸干),置具塞锥形瓶中,加氯仿 10 mL,振摇 5 min,滤过,取滤液 8 mL 水浴浓缩至约 1 mL,作为供试品溶液。取吡罗昔康对照品适量,加氯仿制成 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为吡罗昔康对照品溶液;另取美洛昔康对照品适量,加氯仿制成 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为美洛昔康对照品溶液。取阴性对照品一次服用量,置具塞锥形瓶中,加氯仿 10 mL,振摇 5 min,滤过,取滤液 8 mL 水浴浓缩至约 1 mL,作为阴性对照溶液。取阴性对照溶液 2 份,分别置不同的具塞锥形瓶中,一份加入吡罗昔康,另一份加入美洛昔康,制成每 1 mL 分别含吡罗昔康、美洛

昔康各 1 mg 的溶液,分别作为吡罗昔康与美洛昔康的阳性对照溶液。

2.2 实验结果

取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液及阳性对照液各 2 mL,分别置试管中,加 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸甲醇溶液 1 mL,振摇,再滴加三氯化铁试液 1~2 滴,振摇,供试品溶液、阴性对照液显黄色,吡罗昔康对照品溶液、吡罗昔康阳性对照溶液显红色,美洛昔康对照品溶液、美洛昔康阳性对照溶液显墨绿色至深棕红色(浓度不同颜色不一);再加水 1 mL,振摇,供试品溶液、阴性对照液上层显黄色,下层无色或黄棕色。吡罗昔康对照品溶液、吡罗昔康阳性对照液上层与下层均显红色,美洛昔康对照品溶液、美洛昔康阳性对照液上层显墨绿色,下层显红色。见图 1。

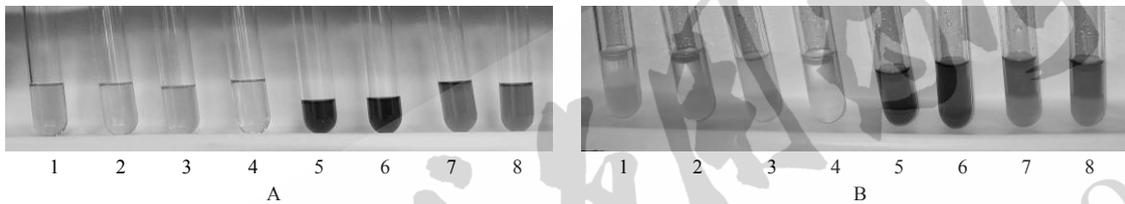


图 1 吡罗昔康与美洛昔康化学鉴别

A-加水前; B-加水后; 1-风湿定胶囊; 2-天麻胶囊; 3-风湿关节炎片; 4-阴性(天麻胶囊); 5-美洛昔康阳性; 6-美洛昔康对照品; 7-吡罗昔康阳性; 8-吡罗昔康对照品

Fig 1 Piroxicam and meloxicam chemical identification

A-before adding water; B-after adding water; 1-Fengshiding capsule; 2-Tianma capsule; 3-Fengshiguanjiejian tablets; 4-negative control (Tianma capsule); 5-positive control (meloxicam); 6-control of meloxicam; 7-positive control (piroxicam); 8-control of piroxicam

2.3 专属性试验(其他非甾体类抗炎药的干扰试验)

取双氯芬酸钠、尼美舒利、吡罗昔康、美洛昔康、吲哚美辛、萘普生、保泰松、布洛芬、芬布芬对照品适量,分别加丙酮-乙醇(9:1)混合液制成分别含各对照品 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。按“2.2”项下方法试验,结果吡罗昔康

显红色,美洛昔康显墨绿色至深棕红色^[4],其他成分显黄色;加水振摇后,吡罗昔康上层与下层均显红色,美洛昔康上层显墨绿色,下层显红色。氨基比林上层显蓝紫色,下层无色,其他成分上层呈淡黄色或淡黄绿色,下层显黄色或无色,见图 2。表明本试验选定的方法专属性强。

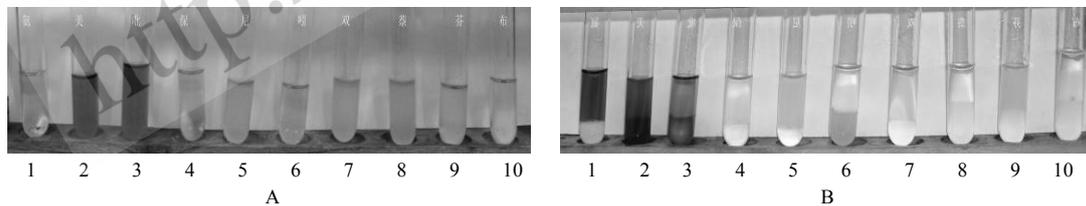


图 2 吡罗昔康与美洛昔康专属试验

A-加水前; B-加水后; 1-氨基比林; 2-美洛昔康; 3-吡罗昔康; 4-10-其它对照品

Fig 2 Piroxicam and meloxicam specific test

A-before adding water; B-after adding water; 1-aminopyrine; 2-meloxicam; 3-piroxicam; 4-10-other standard

3 TLC

3.1 溶液的制备

取供试品一次服用量(固体制剂研细,丸剂可

加少量的硅藻土研细,液体制剂先蒸干),置具塞锥形瓶中,加丙酮-乙醇(9:1)混合液 10 mL,振摇 5 min,滤过,取滤液 8 mL 浓缩至约 1 mL,作为

供试品溶液。另精密称取吡罗昔康、美洛昔康对照品适量，加丙酮-乙醇(9:1)混合液制成每 1 mL 含吡罗昔康 1 mg、美洛昔康 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。取阴性对照品一次服用量，置具塞锥形瓶中，加丙酮-乙醇(9:1)混合液 10 mL，振摇 5 min，滤过，取滤液 8 mL 浓缩至约 1 mL，作为阴性对照溶液。取阴性对照溶液加吡罗昔康与美洛昔康适量，制成每 1 mL 含吡罗昔康与美洛昔康各 1 mg 的混合溶液，作为阳性对照溶液。

3.2 方法与结果

取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液及阳性对照液各 2 μ L，分别点于同一已含 4.68% 的磷酸二氢钠的 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF254 薄层板上，以正己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(15:5:1)为展开剂，展开后取出晾干，在紫外光灯(254 nm 及 365 nm)下检视^[4]。阳性对照溶液检出吡罗昔康与美洛昔康，供试品溶液、阴性对照液均未检出吡罗昔康与美洛昔康，见图 3。

3.3 专属性试验(其它非甾体类抗炎药的干扰试验)

取双氯芬酸钠、尼美舒利、吡罗昔康、美洛昔康、吲哚美辛、萘普生、保泰松、布洛芬、芬

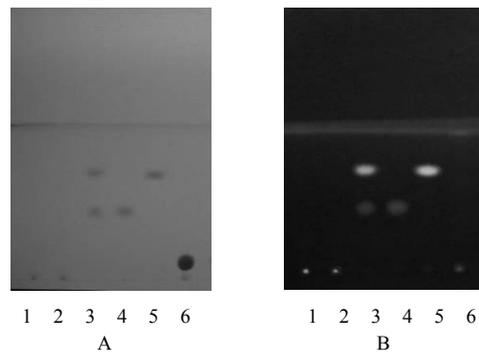


图 3 薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; 1-天麻胶囊; 2-阴性(天麻胶囊); 3-阳性(美洛昔康和吡罗昔康); 4-吡罗昔康; 5-美洛昔康; 6-舒筋活血片

Fig 3 TLC chromatograms

A-254 nm; B-365 nm; 1-Tianma capsule; 2-negative control (Tianma capsule); 3-positive control (mexiloxim and piroxicam); 4-piroxicam; 5-mexiloxim; 6-Shujinhuoxie tablets

布芬对照品适量，分别加丙酮-乙醇(9:1)混合液制成分别含各对照品 1 mg·mL⁻¹ 的溶液，作为对照品溶液。另取按上述对照品取样量配制成混合对照溶液。按“3.2”项下方法试验，结果在 254 nm 下萘普生与美洛昔康的 Rf 值相近，相互有干扰，而在 365 nm 下萘普生不显色而消除干扰，见图 4。表明本试验选定的方法专属性强。

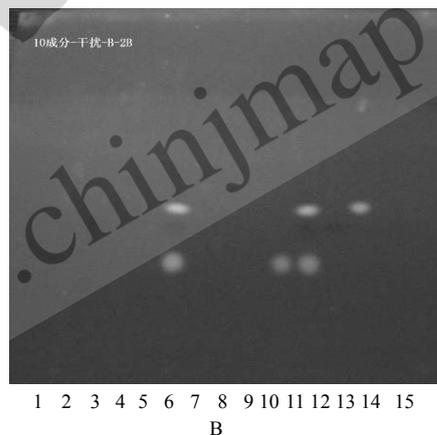
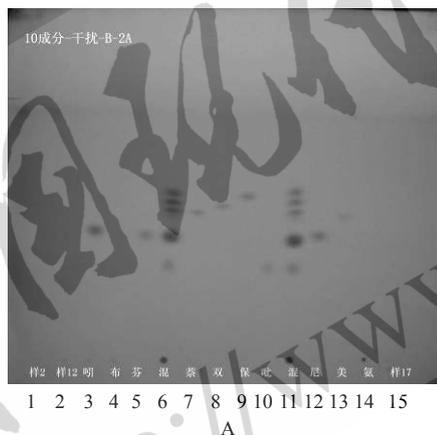


图 4 吡罗昔康与美洛昔康薄层色谱专属性实验

A-254 nm; B-365 nm; 1-天麻胶囊; 2-风湿定胶囊; 3-吲哚美辛; 4-布洛芬; 5-芬布芬; 6-混合对照; 7-萘普生; 8-双氯芬酸钠; 9-保泰松; 10-吡罗昔康; 11-混合对照; 12-尼美舒利; 13-美洛昔康; 14-氨基比林; 15-小活络丸

Fig 4 TLC for piroxicam and mexiloxim specific test

A-254 nm; B-365 nm; 1-Tianma capsule; 2-Fengshiding capsule; 3-indomethacin; 4-ibuprofen; 5-fenbufen; 6-mixed standards; 7-naproxen; 8-diclofenac sodium; 9-phenylbutazone; 10-piroxicam; 11-mixed standards; 12-nimesulide; 13-mexiloxim; 14-aminopyrine; 15-Xiaohuoluo Wan

3.4 灵敏度试验

精密称取吡罗昔康与美洛昔康对照品，配制一系列不同浓度的对照品溶液，按上述方法实验，吡罗昔康与美洛昔康的检出灵敏度分别为 0.30 μ g 和 0.25 μ g。

4 讨论

本实验中化学反应同样适用于氨基比林的检

测。反应原理可能为噻嗪环上的羟基具有与酚羟基的类似的性质，与三氯化铁反应显色。故样品中若含有类似酚羟基的物质或样品溶液本身颜色太深干扰试验，应进行适当的提取分离后再用此法鉴别。

不同文献中描述美洛昔康的反应颜色不同。笔者在实验中发现其反应结果所显颜色与其浓度

相关, 不同浓度显不同颜色。本试验参照文献, 并根据吡罗昔康与美洛昔康的每次服用量(均为 10 mg 左右)设定实验对照品浓度为服用量的十分之一, 即 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。当添加的量越大, 其浓度越大, 杂质浓度就越低, 反应越明显。如检出可疑添加成分, 可采用 TLC 或 HPLC 或 HPLC-MS 进一步验证。

经过随机盲样试验, 自制阳性对照 15 批(天麻胶囊 6 批, 风湿定胶囊 3 批, 风痛安胶囊 3 批, 风湿关节炎片 1 批, 小活络丸 1 批, 舒筋活血片 1 批)也全部检出, 而其相对应的样品却未检出。说明本方法结果准确, 快速。

本试验参考文献摸索了正己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(15:5:1)、乙醚-石油醚(60~90 °C)-甲酸(70:30:1)、三氯甲烷-乙醚-甲醇-氨水(10:3:1:0.05)、三氯甲烷-甲醇-丙酮-氨水(9:3:1:0.1)、醋酸乙酯-甲醇-氨水(15:3:2)展开系统, 并同时采

用了硅胶 GF254 薄层板及硅胶 GF254(含 4.68% NaH_2PO_4)^[5]薄层板试验, 结果表明采用正己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(15:5:1)为展开剂, 硅胶 GF254(含 4.68% NaH_2PO_4)薄层板的展开效果最佳, 斑点圆润、集中。

REFERENCES

- [1] ZHENG F. Medicinal Chemistry(药物化学) [M]. Vol 4. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001: 249-251.
- [2] ZHAO Y, FU Y M, LI B J, et al. Determination of piroxicam adding illegally in Guci Xiaotong capsules by HPLC [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2009, 23(2): 159-161.
- [3] HUANG Y, WANG Z Y, LI D. A study of identification for meloxicam mixed in Shentong tablets by LC/MS/MS method [J]. Chin J Med Res(中华医学研究杂志), 2008, 8(6): 500-503.
- [4] NICPB. Handbook of rapid detection Chemical medicine Vol II(化学药品快检工作手册)[S]. 2005: 258-260.
- [5] XIONG Y. Determination of indometacin and piroxicam in Longdanfengshi capsules by TLCS [J]. Cap Med(首都医药), 1999, 6(12): 27.

收稿日期: 2010-01-25