

HPLC 快速筛查抗风湿类中成药及保健品中非法添加的 10 种化学药

廖瑜(东莞市食品药品检验所, 广东 东莞 523109)

摘要: 目的 建立中成药、保健食品中非法添加的 10 种抗风湿类化学成分的快速测定方法。方法 采用高效液相色谱法进行初步筛查。色谱柱: Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液, 梯度洗脱; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 240 nm。结果 10 种化学药得到了完全分离, 检出限<2 ng。结论 本方法操作简单、快速, 灵敏度高, 能满足快速筛查抗风湿类中成药及保健品中非法添加化学药的需要。

关键词: 中成药; 保健品; 高效液相色谱法; 快速筛查

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)07-0868-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.07.026

作者简介: 廖瑜, 女, 主管药师 Tel: (0769)22687690 E-mail: liaoyu0709@foxmail.com

Screening for 10 Anti-rheumatism Chemical Components in Health Food and Chinese Traditional Medicine by HPLC

LIAO Yu(Dongguan Institute For Food and Drug Control, Dongguan 523109, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for rapid detection of 10 anti-rheumatism chemical components adding illegally in health food and traditional Chinese medicine. **METHODS** Using HPLC to conduct the preliminary screening. The Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.02 mol·L⁻¹ ammonium acetate with linear gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 240 nm. **RESULTS** These ten components were separated completely, and the LODs were <2 ng. **CONCLUSION** The method is simple, sensitive and quickly to detect chemical components in health food and Chinese Traditional Medicine.

KEY WORDS: traditional Chinese medicines; health food; HPLC; rapid detection

近年来,中成药及保健品中非法添加化学药的行为时有发生。其中,抗风湿类中成药中常见的添加成分有解热镇痛抗炎类药如:对乙酰氨基、双氯芬酸钠、吲哚美辛等;糖皮质激素类药如:地塞米松、醋酸泼尼松、氢化可的松等^[1-4]。国家食品药品监督管理局也越来越重视对非法添加的检测并出台了部分检测方法,其中液相色谱检测方法分为3个色谱体系,操作较繁琐。本实验建立了同时检测10种抗风湿类化学药的液相色谱方法,供各实验室在检查时使用,可以提高效率,更好地打击非法添加的行为。

1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津); BP211D 电子天平(德国 Sartorius)。对照品:地塞米松(批号:100129-200804),双氯芬酸钠(批号:100334-200302),吲哚美辛(批号:100258-200904),醋酸泼尼松(批号:100012-200706),氢化可的松(批号:100152-200206),氨基比林(批号:100503-200301),对乙酰氨基酚(批号:100018-200408),萘普生(批号:100198-200403),吡罗昔康(批号:100177-199802),甲氧苄啶(批号:100031-200304),均由中国药品生物制品检定所提供;样品为市场销售或网络销售的药品及保健品;乙腈为色谱纯;甲醇及醋酸铵为分析纯;Millipore 超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液, 梯度条件: 0~30 min, 乙腈 20%→60%; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 240 nm。柱温: 35 ℃; 进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取对照品各约 10 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇超声使溶解, 放冷, 用甲醇定容至刻度, 作为对照品储备液。临用前各取 1 mL 制成对照品混合溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 称取一次口服用量的供试品, 研细, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 20 mL, 超声处理 15 min, 放冷, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 既得。

2.3 专属性试验

取对照品混合溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 各峰之间的分离度均>3.0, 分离效果良好。见图 1。

2.4 标准曲线与线性范围

精密称取对照品各约 10 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度制成对照品储备液。分别精密取适量置同一量瓶中, 配制成浓度为 1, 5, 10, 20, 50, 70, 100 μg·mL⁻¹ 的系列对照品混合溶液, 进样 10 μL, 以峰面积 *Y* 为纵坐标, 浓度 *X*(μg·mL⁻¹) 为横坐标, 绘制标准曲线, 各化学药物的回归方程(*n*=7)见表 1。

2.5 仪器精密度试验

精密取对照品混合溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 以峰面积计算, 吡罗昔康的 RSD 为 2.9%, 其余化学成分的 RSD 为 0.4%~0.7%。

2.6 稳定性试验

精密取对照品混合溶液 10 μL, 每隔一段时间(0, 2, 4, 8, 12, 24 h)进样测定, 以峰面积计, 结果除吡罗昔康外的各化学药物 RSD 为 1.0%~1.4%, 稳定性良好。吡罗昔康峰面积在 2 h 时降为 0 h 时的 95%, 12 h 时降为 0 h 时的 80%, 24 h 时降为 0 h 时的 79%, 因此为取得最准确结果, 溶液配制好以后应尽快测定。

2.7 回收率试验

各精密取“2.4”项下对照品储备液 5 mL, 置

同一 250 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 20 mL 共 6 份置装有 1.0 g 阴性供试品(活血止痛胶囊)粉末的具塞锥形瓶中, 密塞超声 15 min, 放冷, 过滤, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 10 种化学成分的平均回收率为 96.9%~101.0%, RSD 为 0.5%~1.5%。结果见表 1。

2.8 最低检出限

取对照品混合溶液, 稀释不同比例后测定, 当信噪比为 3 时, 检出限对乙酰氨基酚、萘普生为

0.2 ng, 吡罗昔康、双氯芬酸钠为 1.2 ng, 其余 0.5 ng。

2.9 样品测定

取自购的抗风湿类药品或保健品 9 批, 按上述方法测定, 结果有 1 批风湿筋骨康胶囊在与双氯芬酸钠对照品保留时间一致的位置上有色谱峰, 提取各峰的二极管阵列紫外光谱图与各对照品比较, 图谱基本一致, 因此判断其疑似非法添加双氯芬酸盐。样品色谱图见图 1, 样品检测结果见表 2 和图 2。

表 1 10 种化学药物的保留时间、标准曲线、线性范围与回收率结果

Tab. 1 Results of retention time, standard curve, linear range and recovery of ten chemical components

化合物名称	保留时间/min	标准曲线	<i>r</i>	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	平均回收率/%	RSD%(<i>n</i> =6)
对乙酰氨基酚	4.50	$Y=41\ 363X-9\ 916.9$	0.999 90	1.000~100.0	99.65	0.7
甲氧苄啶	11.07	$Y=29\ 851X-4\ 952$	0.999 94	1.003~100.3	97.4	0.5
吡罗昔康	12.02	$Y=17\ 515X-5\ 385$	0.999 91	0.911~91.1	99.4	1.5
氨基比林	13.46	$Y=56\ 439X-14\ 843$	0.999 89	1.01~100.1	99.6	0.8
萘普生	14.92	$Y=23\ 078X-7\ 526.4$	0.999 94	0.945~94.5	96.9	0.9
氢化可的松	18.54	$Y=24\ 037X-4\ 570.1$	0.999 94	0.994~99.4	101.0	0.7
双氯芬酸钠	19.80	$Y=12\ 098X-1213.9$	0.999 95	0.975~97.5	100.6	1.1
吲哚美辛	20.63	$Y=29\ 490X-16\ 636$	0.999 88	0.932~93.2	100.6	0.9
地塞米松	22.24	$Y=22\ 087X-6\ 059$	0.999 93	1.011~101.1	98.5	0.9
醋酸泼尼松	26.78	$Y=20\ 441X-4\ 279.2$	0.999 95	1.004~100.4	98.9	0.8

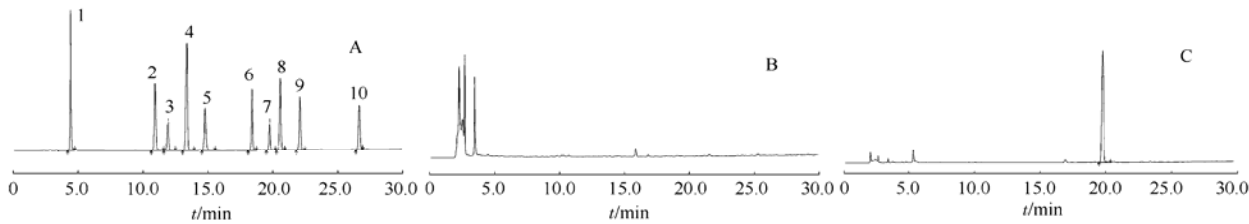


图 1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-阴性样品(活血止痛胶囊); C-阳性样品(风湿筋骨康胶囊); 1-对乙酰氨基酚; 2-甲氧苄啶; 3-吡罗昔康; 4-萘普生; 5-氨基比林; 6-氢化可的松; 7-双氯芬酸钠; 8-吲哚美辛; 9-地塞米松; 10-醋酸泼尼松

Fig. 1 HPLC chromatogram

A-control solution; B-negative sample(Huoxue Zhitong capsule); C-positive sample(Fengshi Jinggukang capsule); 1-acetaminophen; 2-trimethoprim; 3-piroxicam; 4-naproxen; 5-aminopyrine; 6-hydrocortisone; 7-diclofenac sodium; 8-indometacin; 9-dexamethasone; 10-prednisone acetate

表 2 样品测定结果

Tab. 2 Results of sample determination

样品名称	批号	非法添加	添加量/ $\text{mg}\cdot\text{粒}^{-1}$
活血止痛胶囊	100313	-	-
风湿定胶囊	091011	-	-
天麻胶囊	20090901	-	-
全天麻胶囊	20100403	-	-
风湿关节炎片	20100401	-	-
野木瓜片	20090802	-	-
舒筋活血丸	101204	-	-
骨筋丸胶囊	20091021	-	-
风湿筋骨康胶囊	20110325	双氯芬酸盐	2.54 mg (以双氯芬酸钠计)

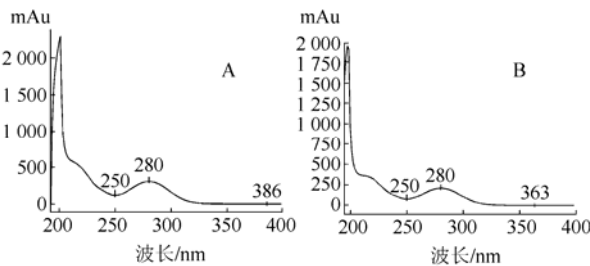


图 2 双氯芬酸钠对照品(A)和风湿筋骨康(B)的紫外光谱图

Fig. 2 UV chromatogram of diclofenac sodium(A) and Fengshi Jinggukang capsule(B)

3 讨论

国家食品药品监督管理局发布的补充检验方

法中, 10 种化学药物均用甲醇提取, 本实验继续沿用甲醇作为提取溶剂。实验表明, 甲醇的溶解性可以同时满足 10 种化学药物定性筛查的需要。

在稳定性实验中, 吡罗昔康虽然有峰面积减少的现象, 但 24 h 后仍保留约 80 %, 吡罗昔康的常用剂量为 10 mg, 而本法的检出限为 1.2 ng, 检出率不受影响。

为了兼顾 10 种化学药物同时测定, 选择了 240 nm 作为测定波长, 该波长下各个成分检出限均 < 2 ng, 可以满足快速筛查的要求。

考察了甲醇-水、乙腈-水等不同色谱体系, 并试验了各种不同的梯度洗脱方法, 最终确定了用乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液进行梯度洗脱的色谱条件, 该色谱条件下, 10 种化学成分在 30 min

内均得到了很好的分离。

REFERENCES

- [1] XU Q, MIAO G, GU B R. Rapid screening of HPLC anti-diabetic traditional Chinese medicines and health products with illegally added Chemicals [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2010, 4(9): 1-2.
- [2] LUO J W, YAN L Q, LI Y H, et al. Determination of minoxidil illegally adulterated in cosmetics by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(6): 655-657.
- [3] CUI F C, GUO C, LI D. Screening for 21 sedative-hypnotic chemical components in health food and Chinese traditional patent medicine by LC-MS/MS [J]. China Mod Med(中国当代医药), 2009, 16(25): 8-10.
- [4] ZHANG H, HUANG Z T, ZHU Y P, et al. Preparation of anti-rheumatic medicine illegally added chemical detection method [J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2010, 6(6): 31-32.

收稿日期: 2013-09-25