

省时间,将干燥温度定为 40℃。同时,本实验对甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.5%磷酸溶液等多个流动相系统进行考察,发现相对于文献[5],参茸珍宝片选择甲醇-水(38:62)的流动相,理论板数高,峰形好,保留时间适中,主峰与杂质峰完全分离。本实验所建立的检测方法可操作性强,结果准确可靠、重复性好,可作为参茸珍宝片质量控制方法。

REFERENCES

[1] The Traditional Chinese Medicine Criterion of Ministry of

Health Volumn 15(卫生部药品标准《中药成方制剂》第 15 册) [S]. 1998: 118.

[2] GONG Y Z, PEI J Q. Study on quality standard of Shenrongzhenbao tablets [J]. Hebei J Tradit Chin Med(河北中医), 2010, 32(10): 1547-1550.

[3] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 43.

[4] HUANG X P, WANG W C. Chemical constituents of *Ligustrum lucidum* fruits: research advances [J]. J Int Pharm Res(国际药学研究杂志), 2011, 38(1): 47-51.

[5] ZHU J, GU J Q. Determination of specnuezhenide in Qiyeling granules by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2012, 15(9): 1272-1274.

收稿日期: 2014-01-14

UPLC-MS/MS 测定抗风湿中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛

励炯, 朱健, 沈国芳, 裘一婧(杭州市食品药品检验研究院, 杭州 310017)

摘要: 目的 建立抗风湿中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛 3 种化学成分的 UPLC-MS/MS 检测方法。方法 以 BEH-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 串联四级杆质谱仪检测, MRM 模式进行定性定量分析, 样品以甲醇为溶剂超声提取, 检测添加在中成药中的布洛芬、双氯芬酸钠、吲哚美辛 3 种化学成分。结果 3 种抗风湿性化学成分质谱检测的线性范围宽, 相关性好, $r^2 \geq 0.9967$; 重复性 RSD 为 1.7%~4.7%; 方法回收率为 95.1%~104.2%; 定量限为 4.0~11 μg·mL⁻¹; 日间精密度的 RSD($n=9$) 为 1.7%~4.1%。结论 本方法专属性强, 操作简单, 快捷, 可作为中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛 3 种抗风湿性化学成分的有效检测方法。

关键词: 超高效液相色谱; 质谱; 中成药; 抗风湿; 非法添加

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1234-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.018

Detection of Ibuprofen, Didofenac Sodium and Indometacin Illegally Added in Traditional Chinese Medicine Preparation by UPLC-MS/MS

LI Jiong, ZHU Jian, SHEN Guofang, QIU Yijing(Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a UPLC-MS/MS method to determine ibuprofen, didofenac sodium and indometacin illegally added in traditional Chinese medicine preparation. **METHODS** The analysis was performed by a UPLC-MS/MS system of Waters ACQUITY UPLC/Quattro Premier, with BEH-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) column. Multiple-reaction monitoring(MRM) was performed to identify and quantify ibuprofen, didofenac sodium and indometacin, which were extracted with methanol by ultrasonic. **RESULTS** Three linear calibration curves were obtained with $r^2 \geq 0.9967$. The precision of the method were showed by RSD ($n=6$) ranged from 1.7% to 4.7%. The recoveries were determinated at three concentrations and ranged from 95.1% to 104.2%. The ranges of LOQ were from 4.0 μg·mL⁻¹ to 11 μg·mL⁻¹ and the RSDs ($n=9$) of inter-day precision were from 1.7% to 4.1%. **CONCLUSION** The method is specific, simple and fast to detect ibuprofen, didofenac sodium and indometacin illegally added in traditional Chinese medicine preparation.

KEY WORDS: UPLC; MS; Chinese medicine preparation; anti-inflammatory; illegally added

风湿性及类风湿关节炎为我国常见的临床疾病,患者需长期服用抗风湿性药物才能控制病情。一些具有抗风湿性的西药疗效显著,但长期服用不良反应较大,如导致消化道溃疡、肝肾毒性和血液系统等问题^[1-2]。中药制剂因不良反应小、疗效独特等特点越来越受患者的青睐,但其效果相对西药比较缓慢,不法分子为牟取利益将具有抗风湿性的西药成分加到中药制剂中,长期服用后会对机体造成较大的危害。已有较多报道中成药中非法添加抗风湿性化学成分的测定^[2-7]。液相色谱-串联质谱法既有完善的定性分析能力,又有准确的定量分析功能,是这类非法添加化学药物检测有效方法之一^[3-5]。笔者采用超高效液相色谱-串联四极杆质谱法检测抗风湿中成药中的布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛3种抗风湿性化学成分。

1 材料与方法

1.1 仪器

美国 Waters 公司超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用仪,配 ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪、Quattro Premier 串联四级杆质谱仪、电喷雾离子化源(ESI)、Masslynx 4.1 数据处理系统。

1.2 样品与试剂

实验共测定 7 批抗风湿性中成药,均为杭州市食品药品监督管理局抽样所得。

布洛芬对照品(批号:100179-201105,含量:100%)、双氯芬酸钠对照品(批号:100334-200302,含量:100%)与吲哚美辛对照品(批号:100258-200904,含量:100%)均购自中国食品药品检定研究院。甲醇为分析纯,乙腈为色谱纯。

1.3 UPLC 色谱条件

色谱柱:BEH-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相:0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~4 min, 80% A; 4~4.5 min, 40% A; 4.5~5 min, 80% A;柱温:40℃;流速:0.3 mL·min⁻¹,进样量 2 μL。

1.4 质谱条件

毛细管电压:3.0 kV;脱溶剂气(N₂)流量:550 L·h⁻¹;锥孔反吹气流量:50 L·h⁻¹;离子源温度:120℃;脱溶剂气温度:300℃;采用多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM)模式检

测;离子模式:布洛芬和双氯芬酸钠采用 ES⁻模式,吲哚美辛采用 ES⁺模式。3 种抗风湿性化学成分的其他质谱分析参数见表 1。

表 1 3 种抗风湿性化学成分的质谱分析参数

Tab. 1 MS parameters for 3 antirheumatic drugs

组分	离子模式	监测离子对/ <i>m/z</i>	锥孔电压/ V	碰撞能量/ eV
布洛芬	ES ⁻	205.3>161.3*	25	10
双氯芬酸钠	ES ⁻	294.3>250.4*	25	15
		294.3>214.3		15
吲哚美辛	ES ⁺	358.7>139.2*	25	25
		358.7>111.0		20

注: *为定量离子对

Note: * was the ion pair for quantitation

1.5 对照品溶液的制备

分别精密称取 3 种抗风湿对照品约 25 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇配制成约 1 mg·mL⁻¹的对照品储备溶液。分别精密吸取 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加流动相稀释定容,作为对照品系列溶液。

1.6 供试品溶液的制备

取 20 粒样品内容物,混匀后,精密称取 1 g,置 25 mL 量瓶中,加甲醇约 15 mL,超声 30 min(100 W, 56 kHz),冷却,加流动相定容至刻度,用 0.2 μm 滤膜过滤。

2 结果

2.1 线性关系、检测限(limits of detection, LOD)和定量限(limits of quantification, LOQ)

取已制备的对照品系列溶液,分别进样 2 μL,以定量监测离子对的离子流中谱峰峰面积(*Y*)为纵坐标,对照品浓度(*X*, μg·mL⁻¹)为横坐标进行线性关系考察,结果见表 2。

取 1 号样品(检测结果为阴性)1 g,加入适当稀释的混合对照品溶液,按法制备供试品溶液,得信噪比为 3 和 10 时分别为 3 种抗风湿非法添加成分的 LOD 与 LOQ,结果见表 2。

2.2 重复性

取 2 号样品(含布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛),按“1.6”项下方法重复制备 6 份,测定这 6 种成分的含量,结果见表 2。

表 2 3 种抗风湿非法添加成分的线性关系、检测限、定量限和重复性

Tab. 2 Linear regression results, LOD, LOQ and reproducibility of 3 antirheumatic drugs

组分	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	线性方程	相关性 r^2	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	重复性 RSD($n=6$)/%
布洛芬	16.55~165.5	$Y=70.235X-1\ 247.02$	0.996 7	7.3	11	3.6
双氯芬酸钠	12.14~121.4	$Y=83.344X-86.094$	0.998 0	6.9	9.5	4.7
吲哚美辛	14.93~149.3	$Y=201.48X+34.492$	0.999 1	2.7	4.0	1.7

2.3 方法回收率

取 1 号样品(阴性), 每份称取样品 1 g, 分别加入适量混合对照品溶液, 使供试品溶液加样浓度分别为低、中、高 3 种约 10, 30, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 平行 3 份, 按“1.6”项下方法制备供试品溶液, 检测含量, 计算回收率, 结果见表 3。

2.4 日间精密度

以 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 混合对照品溶液 3 d 重复进样(每天重复进样 3 次)定量结果的 RSD 作为日间精密度, 考察方法的稳定性。结果见表 3。

表 3 回收率与日间精密度

Tab. 3 The recoveries and inter-day precision

组分	添加浓度 水平/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	平均回 收率/%	回收率 RSD($n=3$)/%	日间精密度 RSD($n=9$)/%
布洛芬	16.55	95.7	5.1	3.7
	33.10	97.2	4.4	
	49.65	97.8	3.9	
双氯芬酸钠	12.14	95.1	4.7	4.1
	24.28	96.3	5.9	
	48.56	95.4	4.2	
吲哚美辛	14.93	104.2	4.0	1.7
	29.86	97.1	3.2	
	44.79	97.9	1.9	

2.4 样品定性检测

本方法采用 MRM 模式检测, 如表 1 所示质谱分析方法, 每一成分都有多个(布洛芬有 1 个, 其余成分 2 个)检测通道, 每一通道对应一个监测离子对。样品检测时, 若某一成分对应的多个通道中均出现与对照品保留时间一致的谱峰, 并且这几个子离子的相对丰度与对照品一致, 则可判定样品中检出该成分。定性结果见表 4, 表中各成分的丰度数据均符合欧盟 2002/657/EC 法规关于定性判断时相对离子丰度的允许偏差范围, 可判断这些子离子的相对丰度一致。按上述法规的分值法(质谱分析方法鉴定点数)计算, 上述定性过程已达到 4 分, >3 分的要求, 可判断样品 2、4、6、7 中均检出布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛 3 种抗风湿性化学成分。

表 4 3 种抗风湿性成分定性分析

Tab. 4 Qualitative analysis of 3 antirheumatic drugs

组分	监测离子对/ m/z	对照品各子 离子丰度/%	样品中各成分离子丰度/%			
			2 号	4 号	6 号	7 号
布洛芬	205.3>161.3*	97.3	98.2	97.9	97.2	98.0
双氯芬酸钠	294.3>250.4*	83.7	83.1	84.5	83.0	84.9
	294.3>214.3	17.2	17.5	16.7	17.8	16.9
吲哚美辛	358.7>139.2*	91.1	90.7	91.9	90.5	91.3
	358.7>111.0	9.0	9.3	8.9	9.3	9.0

注: *为定量离子对。

Note: * was the ion pair for quantitation.

2.6 样品定量检测

根据定量监测离子对的离子流图中谱峰峰面积外标法计算样品中 3 种抗风湿性化学成分的含量。定量结果见表 5。

表 5 样品中 3 种抗风湿性化学成分的分析结果

Tab. 5 Detection results of 3 antirheumatic drugs in samples

序号	样品名称	批号	布洛芬	双氯芬酸钠	吲哚美辛
1	风湿定胶囊	121102	未检出	未检出	未检出
2	风湿骨痛宁胶囊	20130606	52.4	17.9	13.7
3	风湿骨康片	20130101	未检出	未检出	未检出
4	复方关节炎胶囊	20120918	35.7	24.8	16.8
5	风湿二十五味丸	130301	未检出	未检出	未检出
6	甲茸壮骨通痹胶囊	20050526	75.2	13.7	11.8
7	甲竭胶囊	130310	37.2	14.3	12.6

2.7 专属性试验

为防止检测结果的假阳性, 对可疑性阳性样品进一步进行质谱专属性确认, 供试品中在与布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛对照品保留时间一致的样品进行质谱分析, 结果供试品中一级质谱分子离子峰及二级质谱主要碎片离子都与对照品的一级质谱离子峰及二级质谱主要碎片离子相一致, 即布洛芬(205.3, 161.3)、双氯芬酸钠(294.3, 250.4, 214.3)、吲哚美辛(358.7, 139.2, 111.0)。对照品质谱图见图 1。

- medicine preparation [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(2): 261-266.
- [4] LAI G F, CHENG B, LU J. Determination of chemical components illegally mixed in antirheumatic traditional Chinese medicine by LC-MS [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2010, 13(4): 847-848.
- [5] SHEN G F, ZHU J, QIU Y J. UPLC-MS/MS method for determination of sibutramine and its desmethyl derivatives added in slimming foods [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2011, 46(20): 1609-1611.
- [6] ZHU B, ZHAO Z G, WANG Z W, et al. Analysis of 15 sedatives and soporifics illegally added into functional foods and traditional Chinese medicine preparations by LC-MS/MS [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(4): 745-751.
- [7] LI D, WEN H M, CUI F C, et al. LC-MS/MS screening for 36 chemical components in health food and Chinese traditional patent medicine [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(8): 1527-1532.
- [8] WANG W, LIU Y S, QIAO S, et al. Simultaneous determination of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(11): 1215-1220.
- [9] ZHU R H, LI H D, YANG J, et al. Pharmacokinetics of benazepril and benazeprilat in Chinese healthy volunteers based on UPLC-MS/MS [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2012, 32(18): 1437-1442.

收稿日期: 2013-01-24

GC 测定安立生坦原料药中 6 种有机溶剂残留

张玲¹, 杨华良¹, 王家明²(1.天津市中心妇产科医院药剂科, 天津 300100; 2.工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 目的 建立测定安立生坦原料药中可能残留的 6 种有机溶剂(甲醇、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、1,4-二氧六环、*N,N*-二甲基甲酰胺)含量的检测方法。方法 采用顶空气相色谱法, 色谱柱为 DB-624 毛细管柱(30.0 m×0.53 mm, 3.00 μm), 氢火焰离子化检测器(FID), 进样口温度 250 ℃, 检测器温度 300 ℃; 载气为高纯氮气, 恒压模式, 压力 2 psi; 柱温为升温程序, 50 ℃保持 10 min, 以 20 ℃·min⁻¹ 升温升至 200 ℃, 保持 4 min; 顶空瓶平衡温度 100 ℃, 平衡时间 30 min。结果 6 种残留溶剂色谱峰的理论板数均>10 000, 相邻峰的分度度均>2.0, 甲醇、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、1,4-二氧六环、*N,N*-二甲基甲酰胺的线性关系良好(*r* 分别为 0.999 6, 0.999 2, 0.999 5, 0.999 3, 0.999 3, 0.999 6); 精密密度与重复性 RSD 均<5.0%; 最低检出浓度分别为 0.36, 0.034, 0.51, 0.43, 0.45, 5.27 μg·mL⁻¹; 平均回收率均在 90%以上; 供试品溶液 24 h 内稳定。结论 该气相色谱法操作简便, 准确, 灵敏度高, 可用于检测安立生坦原料药中有机溶剂的残留量。

关键词: 安立生坦; 顶空进样法; 毛细管气相色谱法; 有机溶剂残留

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1238-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.019

Determination of the Six Residual Organic Solvents in Ambrisentan by GC

ZHANG Ling¹, YANG Hualiang¹, WANG Jiaming²(1.Department of Pharmacy, Tianjin Central Obstetrics and Gynecology Hospital, Tianjin 300100, China; 2.Key Laboratory of Industrial Microbial Fermentation of Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology Biological Engineering Institute, Tianjin 300457, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of the six residual organic solvents(methanol, ether, dichloromethane, ethyl acetate, 1,4-dioxane and *N,N*-dimethylformamide) in ambrisentan. **METHODS** Gas chromatography with headspace sampling was applied in the study. Agilent DB-624 silica capillary column(30.0 m×0.53 mm, 3.00 μm) was used. The inlet temperature was 250 ℃ and the FID detector temperature was 250 ℃. N₂ was carrier gas at a column pressure of 2 psi. The initial temperature was kept at 50 ℃ for 10 min, then the temperature was raised to 200 ℃ at the rate of 20 ℃·min⁻¹ and subsequently sustained for 4 min. FID detector temperature was 300 ℃. The vial temperature was 100 ℃, and the vial time was 30 min. **RESULTS** The linear correlation coefficients of this method for methanol, ether, dichloromethane, ethyl acetate, 1,4-dioxane and *N,N*-dimethylformamide were 0.999 6, 0.999 2, 0.999 5, 0.999 3, 0.999 3 and 0.999 6, respectively. The RSDs of precision and repeatability were all <5.0%. The limits of detection were 0.36, 0.034, 0.51, 0.43, 0.45 and 5.27 μg·mL⁻¹, respectively. The average recovery were >90%. The sample solution was stable in 24 h. **CONCLUSION** The analytical method