

UHPLC-Q-TOF-MS 测定男性外用壮阳类喷剂中非法添加盐酸丁卡因

邹耀华, 刘宇文, 郑娟(杭州市食品药品检验研究院, 杭州 310015)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱法测定男性外用壮阳喷剂中非法添加盐酸丁卡因的检测方法。**方法** 样品采用 C₁₈ 色谱柱分离, 以 0.05% 甲酸水溶液和乙腈梯度洗脱, 采用飞行时间质谱(TOF)和选择离子监测(Target MS/MS)模式检测。**结果** 经对照品确认, 样品中检测出盐酸丁卡因。**结论** 本方法可以用于快速鉴定男性外用壮阳类喷剂中非法添加盐酸丁卡因的检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱法; 保健品; 非法添加; 盐酸丁卡因

中图分类号: R917 **文献标志码:** B **文章编号:** 1007-7693(2017)09-1282-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.09.014

引用本文: 邹耀华, 刘宇文, 郑娟. UHPLC-Q-ToF-MS 测定男性外用壮阳类喷剂中非法添加盐酸丁卡因[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(9): 1282-1285.

Determination of Tetracaine Hydrochloride Which Illegal Added in Male External Products by UHPLC-Q-TOF-MS

ZOU Yaohua, LIU Yuwen, ZHENG Juan(Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS) method for detection of tetracaine hydrochloride which illegal added in male external products. **METHODS** Samples were separated by C₁₈ chromatographic column, mobile phase was 0.05% formic acid solution-acetonitrile with gradient elution, TOF and Target MS/MS scanning mode was adopted. **RESULTS** Confirmed by standard, tetracaine hydrochloride were detected in samples. **CONCLUSION** The method can be used for rapid identification tetracaine hydrochloride illegally added in male external products.

KEY WORDS: UHPLC-Q-TOF-MS; health food; illegal added; tetracaine hydrochloride

目前市场上用于男性壮阳的保健品种类繁多, 有些壮阳类保健品既不属于国药准字药品, 也不属于国食健字号保健食品的“三无”产品, 这些产品按服用方式可分为内服和外用, 内服的保健品以非法添加西地那非类化学药物为主^[1-3], 而外用的未见报道, 成分也未知。盐酸丁卡因是局部麻醉药, 作用比普鲁卡因强, 毒性亦较大, 不良反应发生率较高, 可能影响肝功能和肾功能, 由于其能透过黏膜, 临床上主要用于黏膜麻醉^[4-5]。本实验首先采用高效液相色谱-二极管阵列检测器筛查国家食品药品监督管理局发布的关于补肾壮阳类中成药非法添加 PDE₅ 型抑制剂的 11 种化学药物(那红地那非、红地那非、伐他地那非、羟基豪莫西地那非、西地那非、豪莫西地那非、氨基他达拉非、他达拉非、硫代艾地那非、伪伐地那非、那莫西地那非), 发现了多批外用样品出现与上述红地那非对照保留时间相近、光谱又不一致的色

谱峰, 为确定这个未知化合物, 笔者采用串联四极杆飞行时间质谱法(Q-TOF-MS)鉴定, 经对照品确认, 该化合物为盐酸丁卡因, 在男性外用壮阳产品中是首次检出报道, 因此本实验可以为相关部门制订质量标准提供一些参考依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器及设备

LC-20A HPLC(带二极管阵列检测器)(日本岛津); 1290 UHPLC(带 6540 型 Q-TOF 检测器)(美国 Agilent); Agilent ZORBAX SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(用于 11 种壮阳成分的 HPLC 分离); Phenomenex C₁₈(2.1 mm×100 mm, 2.6 μm); USC-502 超声萃取仪(上海波龙电子设备有限公司); XS105 电子天平(瑞士 METTLER)。

1.2 试剂与样品

甲醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 10014118); 乙酸铵(分析纯, 阿拉丁试剂有

作者简介: 邹耀华, 男, 副主任技师 Tel: (0571)85463891 E-mail: zouyaohua@hz.cn

限公司, 批号: F1501037); 甲醇(色谱纯, 批号: 1830907617)、乙腈(色谱纯, 批号: JA039430)购自 MERK; 甲酸(色谱纯, 恩科化学, 批号: 73C1501LA); 水为超纯水机临时制备; 镁福喷剂(标识生产单位: 广州福字商贸发展有限公司出品, 委托潍坊红阳药业有限公司生产, 批号: 20130403, 标识主要成分: 细辛、蛇床子、韭菜子、丁香、川椒、乙醇); 999 神油(标识生产单位: 广东满意保健品有限公司, 批号: My2014.10, 标识主要成分: 醋酸氯己定); 神你油喷剂(标识生产单位: 江西神你药业有限公司, 批号: 20150604, 标识主要成分: 醋酸氯己定); 盐酸丁卡因对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100334-200302, 供鉴别用)。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备

取供试品 3 瓶内容物, 混匀, 精密吸取 0.1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 摇匀, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(进样 10 μ L)。

2.2 色谱图

高效液相色谱-二极管阵列检测器筛查的色谱图(色谱条件参考国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件, 编号: 2009030), 结果见图 1~2。

从图 1~2 可以看出, 3 批供试品色谱中均出现与红地那非对照品保留时间相近的色谱峰, 但其光谱图与红地那非对照品完全不一致, 为确定这个未知化合物, 笔者采用 Q-TOF-MS 对其进行鉴定。

2.3 未知化合物的鉴定

2.3.1 液相参数 色谱柱: Phenomenex C₁₈ (2.1 mm $\times$ 100 mm, 2.6 μ m); 流动相: 乙腈(A)-0.05%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱, 0~4.5 min, A: 30% $\rightarrow$ 70%, B: 70% $\rightarrow$ 30%, 平衡 2.5 min; 流速: 0.3 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

2.3.2 Q-TOF 条件 采用电喷雾正离子化方法检测; TOF-MS/MS 测定毛细管电压: 3 500 V; 辅助气流量: 10 L $\cdot$ min⁻¹; 喷雾气压力: 50 psi; 辅助气温度: 350 $^{\circ}$ C; 鞘气流量: 11 L $\cdot$ min⁻¹; 鞘气温度: 350 $^{\circ}$ C; 喷嘴电压: 500 V; 碎裂电压: 120 V。

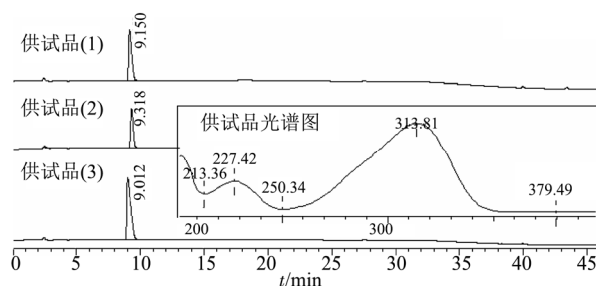


图 1 供试品中与红地那非保留时间接近色谱峰的光谱图
供试品(1)-镁福喷剂; 供试品(2)-999 神油; 供试品(3)-神你油喷剂。

Fig. 1 The chromatogram and spectra of samples
the sample (1)-Magnesium spray; the sample (2)-999 spirits oil; the sample (3)-God you oil spray.

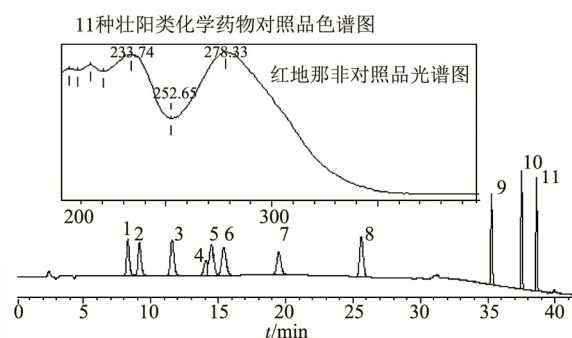


图 2 11 种西地那非类对照品色谱及红地那非光谱图
1-那红地那非; 2-红地那非; 3-伐地那非; 4-羟基豪莫西地那非; 5-西地那非; 6-豪莫西地那非; 7-氨基他达拉非; 8-他达拉非; 9-硫代艾地那非; 10-伪伐地那非; 11-那莫西地那非。

Fig. 2 Eleven kinds of sildenafil references's chromatogram and spectra

1-noracetildenafil; 2-hongdenafil; 3-varidenafil; 4-hydroxyhomosildenafil; 5-sildenafil; 6-homosildenafil; 7-aminotadalafil; 8-tadalafil; 9-thioaildenafil; 10-pseudovardenafil; 11-normeosildenafil.

2.3.3 一级质谱测定及推断结果 通过质谱确认该未知化合物 $[M+H]^+$ 的精确分子质量数为 265.191 2, 根据自带软件“通过分子特征查找化合物”及“通过化合物计算分子式”, 推断其分子式为 C₁₅H₂₄N₂O₂, 得分为 99.66 分, 误差为 0.94 mg $\cdot$ kg⁻¹, 可能的结构如图 3 所示。

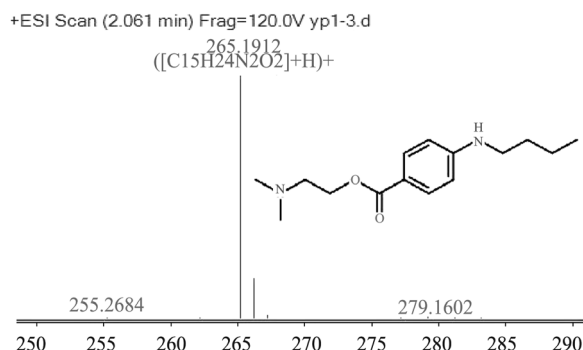


图 3 未知化合物的精确分子质量及推断的分子式

Fig. 3 The exact molecular mass and Inferred molecular formula of unknown compound

2.3.4 二级质谱测定及推断结果 通过调节二级质谱电离电压, 得到了未知化合物的特征离子, 主要碎片离子有 72.078 4, 176.101 6, 220.126 4 等, 并确认二级质谱电压为 20 V 时碎片离子相对

较为丰富, 通过对二级质谱的碎片离子进行分析及通过 MSC 与 Chemspider 对未知化合物进行分析, 推断其结构式为盐酸丁卡因, 与一级质谱的结果一致, 产生碎片的断裂情况见图 4。

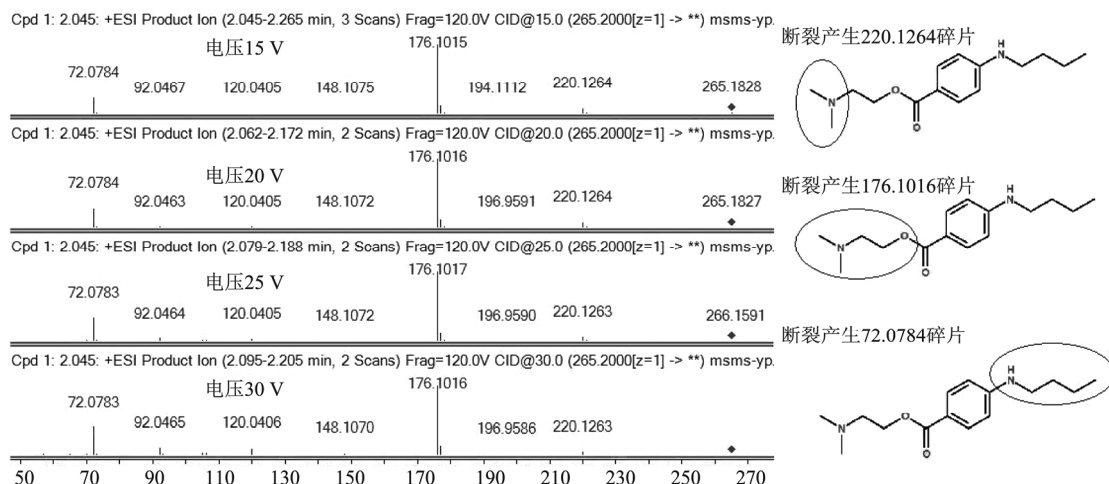


图 4 未知化合物的二级质谱碎片离子

Fig. 4 The fragment ions of unknown compounds

2.3.5 未知化合物的确定 采用盐酸丁卡因对照品对该化合物进行确定, 结果该化合物保留时间、一级质谱、二级质谱的碎片及丰度比与盐酸丁卡因对照品完全一致, 因此确定该样品中检出的未知化合物为盐酸丁卡因, 结果见图 5~6。

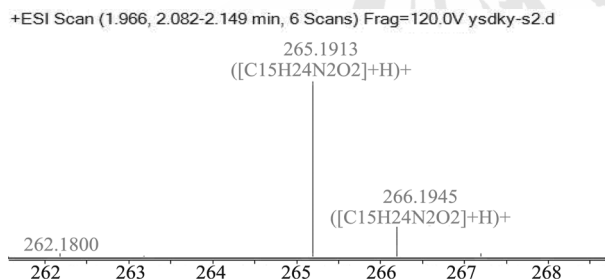


图 5 盐酸丁卡因对照品精确分子量

Fig. 5 Precise molecular of tetracaine hydrochloride standard

3 讨论

Q-TOF 是高分辨质谱, 适用于未知化合物的鉴定^[6-8]。本试验首先按国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件编号 2009030 筛查, 通过 Q-TOF 高分辨质谱的分析, 确认了此未知成分不是壮阳类化合物, 根据自带软件“通过分子特征查找化合物”及“通过化合物计算分子式”得到分子式为 $C_{15}H_{24}N_2O_2$, 利用 MSC 与 Chemspider 查寻其为丁卡因, 经对照品确认后证实为盐酸丁卡因。

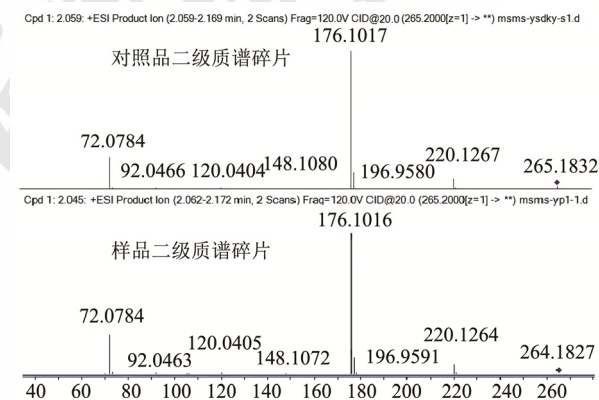


图 6 盐酸丁卡因对照品与样品二级质谱碎片离子图

Fig. 6 Fragment ions of tetracaine hydrochloride standard and sample

近年来杭州市市场监督管理局对本地区性保健用品店开展了多次专项检查, 本次专项检查内服样品中多数检出西地那非, 结果见表 1, 而外用的样品中均检测出盐酸丁卡因, 其成分与说明书中标注的不一样, 镁福喷剂样品标识主要成分为中药材, 不含盐酸丁卡因, 而 999 神油和神你油喷剂样品标识成分均为醋酸氯己定。醋酸氯己定为外用杀菌剂, 不具有壮阳的保健作用。盐酸丁卡因是一种长效局麻药, 黏膜穿透力强, 可以经龟头皮肤吸收入血, 减低龟头敏感性。但本药毒性较大, 不良反应发生率较高, 可能影响肝功能和肾功能。

表 1 杭州市场上部分壮阳类样品的检测结果

Tab. 1 The detection results were part of samples in Hangzhou Market

样品名称	标识生产单位	批号/生产日期	检出成分
蚁力神	西藏天龙生物科技有限公司	2015.10.10	西地那非
威猛先生	香港红金龙生物科技(国际)集团公司	2014.03.30	西地那非
金枪不倒	香港鑫盛生物科技研发中心	2015.04.10	西地那非
美国公牛	美国 U.S.Burn 生物医药集团公司	2015.10.01	西地那非、他达拉非
Vigour 黄金伟哥	美国西尔生物研究所	2014.02.23	西地那非
虫草鹿鞭丸	西藏尼玛生物工程有限公司	2015.06.05	西地那非
虎王	香港威信生物技术公司	2014.10.09	西地那非、他达拉非
鲨鱼精	香港九都缘国际生物医药(集团)有限公司	2014.01.16	西地那非 他达拉非
阳光男人	新加坡利郎生物科技(集团)公司	2015.03.24	西地那非
MACA 玛卡	香港天子生物技术有限公司	2015.03.26	西地那非

本实验建立了 UHPLC-Q-TOF 测定外用壮阳药中非法添加盐酸丁卡因, 该方法快速, 准确, 适合对未知化合物的鉴定, 说明 UHPLC-Q-TOF 在非法添加领域有较大的应用空间。

REFERENCES

[1] WANG C H, ZHAO H B, JIANG X H, et al. Content analysis sildenafil and tadalafil in 15 aphrodisiac health products [J]. China Pharm(中国药师), 2012, 15(6): 895-896.

[2] ZHANG Y, HAO G, MIN C Y, et al. Detection of illegally added chemicals in anti-fatigue health foods by UHPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS method [J]. Chin Lic Pharm(中国执业药师), 2014, 11(8): 15-19.

[3] HU T T, QU X Y, KANG M Q, et al. Rapid screening and confirmation of illegally added antiimpotence preparations in health care products by high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Chrom(色谱), 2015, 33(8): 897-901.

[4] WANG Y M. Tetracaine anesthesia adverse reaction and its prevention [J]. Jilin Med J(吉林医学), 2012, 33(9): 1863.

[5] WANG X P, ZHANG Q X, XU Y L, et al. Prevention and first aid of tetracaine poisoning [J]. J Chin Ophthalmol Otorhinolaryngol(中医眼耳鼻喉杂志), 2013, 3(3): 176-177.

[6] REN W G, WU L B, JIANG X, et al. Analysis on crude and wine-processed *Siegesbeckia pubescen* by UHPLC-Q-TOF/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45(2): 181-187.

[7] SUN J, YU H, HU Q, et al. Identification of a new sildenafil analogue based on Q-TOF-MS [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2014, 49(4): 513-516.

[8] ZOU Y H, ZHU G L. Determination illegal added diclofenac in slimming health care products by UHPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(8): 1048-1051.

收稿日期: 2016-12-21
(本文责编: 李艳芳)