

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.18.007

液相色谱联合串联质谱法检测中药制剂及保健品中非法添加的质子泵抑制剂*

陈乃江, 杨颖, 李玲

(江苏省连云港市食品药品检验检测中心, 江苏 连云港 222006)

摘要:目的 建立检测中药制剂及保健品中非法添加的质子泵抑制剂(PPI)的液相色谱联合串联质谱(LC-MS/MS)法。方法 色谱柱为 Agilent Poroshell 120 EC C₁₈ 柱(2.1 mm×50 mm, 2.7 μm), 流动相为甲醇-10 mmol/L 醋酸铵溶液(40:60, V/V), 流速 0.3 mL/min, 柱温 30℃, 进样量 1 μL; 离子模式为电喷雾离子化(ESI)正离子模式, 干燥气温度 325℃, 雾化气压力 35 psi, 毛细管出口电压 100 V, 干燥器流量 8 L/min, 毛细管电压 4 kV, 碰撞能电压 10 V, 质量扫描范围(*m/z*) 50~1 000。结果 奥美拉唑钠、雷贝拉唑钠、兰索拉唑、泮托拉唑钠检测限均为 0.01 ng; 精密度、稳定性试验的 *RSD* 均小于 2%; 10 批样品中均未检出 PPI, 阳性对照溶液中 4 种 PPI 均可检出。结论 该方法操作简便、准确, 精密度、稳定性、重复性好, 可用于检测中药制剂及保健品中非法添加的 PPI。

关键词:奥美拉唑; 泮托拉唑; 雷贝拉唑; 兰索拉唑; 质子泵抑制剂; 液相色谱联合串联质谱法

中图分类号: R917; R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)18-0018-03

Detection of Proton Pump Inhibitors Illegally Added in Traditional Chinese Medicine Preparations and Health Care Products by LC-MS/MS

CHEN Naijiang, YANG Ying, LI Ling

(Lianyungang Food and Drug Inspection and Testing Center, Lianyungang, Jiangsu, China 222006)

Abstract: Objective To establish an LC-MS/MS method for the detection of proton pump inhibitors illegally added in traditional Chinese medicine(TCM) preparations and health care products. **Methods** The chromatographic column was Agilent Poroshell 120 EC C₁₈ column(2.1 mm×50 mm, 2.7 μm), the mobile phase was methanol-10 mmol/L ammonium acetate solution(40:60, V/V), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 30℃ and the sample size was 1 μL. The ion mode was electrospray ionization(ESI) positive ion mode, the temperature of dry gas was 325℃, the pressure of atomized gas was 35 psi, the voltage of capillary outlet was 100 V, the flow rate of drier was 8 L/min, the voltage of capillary was 4 kV and the voltage of collision energy was 10 V. The mass scan range(*m/z*) was 50-1 000. **Results** The detection limits of omeprazole sodium, rabeprazole sodium, lansoprazole and pantoprazole sodium were 0.01 ng, *RSDs* of precision and stability tests were less than 2%. No proton pump inhibitors were detected in 10 batches of samples, and four proton pump inhibitors were detected in positive control solution. **Conclusion** The method is simple and accurate, it has good precision, stability and reproducibility, which can be used to detect proton pump inhibitors illegally added in TCM preparations and health care products.

Key words: omeprazole; pantoprazole; rabeprazole; lansoprazole; proton pump inhibitors; LC-MS/MS

质子泵抑制剂(PPI)是治疗胃病的首选药物^[1-2]。目前,国内已有奥美拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑、雷贝拉唑、埃索美拉唑 5 个该类药品上市,其中埃索美拉唑为奥美拉唑的左旋异构体。不法商人受利益驱动,在中药制剂和护胃保健品中非法添加 PPI,以使其符合宣称的疗效。普通消费者在不知情的情况下长期服用,易造成身体慢性伤害。对此,本研究中参考文献[3-13],建立液相色谱联合串联质谱(LC-MS/MS)法进行相应检测。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent Technologies 6530 Q-TOF 型液质联用仪(美国 Agilent 公司);BP211D 型十万分之一电子分析天

平(德国 Sartorius 公司);MX-F 型涡流混合器(美国 Scilogex 公司);SYWQ800 型超声波清洗器(山东申仪电子科技有限公司);TDL80-2B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试剂

猴菇饮口服液(样品 A,批号为 20170607、20181018)、山药粉(样品 B,批号为 20180317)、养胃多乳酸菌饮品(样品 C,批号为 180311)、健胃消食片(样品 D,批号为 170136)、胃康宁胶囊(样品 E,批号为 20170516)、香砂平胃丸(样品 F,批号为 170602)、胃苏颗粒(样品 G,批号为 17120684)、奥美拉唑钠对照品(批号为 100760-201504,含量 95.2%)、雷贝拉唑钠对

*基金项目:江苏省连云港市科技项目[SH1635]。

第一作者:陈乃江,男,大学本科,副主任药师,研究方向为药物分析,(电子信箱)459213946@qq.com。

照品(批号为100658-201404,含量98.2%)、泮托拉唑钠对照品(批号为100575-201505,含量95.8%)、兰索拉唑对照品(批号为100709-201304,含量99.8%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

混合对照品溶液:称取奥美拉唑钠、雷贝拉唑钠、兰索拉唑、泮托拉唑钠的对照品各10 mg,精密称定,分别置50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得单一对照品贮备液,量取1 mL,置同一100 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

供试品溶液:取样品A 1 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得A供试品溶液。取样品B约0.1 g,研细,置100 mL容量瓶中,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理10 min,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得B供试品溶液。取样品C约2 g,置50 mL具塞离心管中,加水约25 mL,涡旋混匀,于50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下水浴超声20 min,冷却至室温后加亚铁氰化钾溶液2 mL和乙酸锌溶液2 mL,混匀,8 000 r/min离心5 min,取水相,移至50 mL容量瓶中,于残渣中加水20 mL,涡旋混匀后超声处理5 min,8 000 r/min离心5 min,取水相,移至同一50 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得C供试品溶液。取样品D约0.1 g,研细,置100 mL容量瓶中,加甲醇超声处理20 min,冷却至室温,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得D供试品溶液。

阳性对照溶液:取样品A 2份,每份100 mL,每份均添加单一对照品贮备液,即得质量浓度分别为1, 10 mg/kg的阳性对照溶液,取1 mL,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得阳性对照溶液I、II。

空白对照溶液:以甲醇为空白对照溶液。

2.2 检测条件

色谱条件:色谱柱为Agilent Poroshell 120 EC C_{18} 柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 2.7 μm);流动相为甲醇-10 mmol/L醋酸铵溶液(40:60, V/V);流速为0.3 mL/min;柱温为30 $^{\circ}\text{C}$;进样量为1 μL 。

质谱条件:离子模式为电喷雾离子化(ESI)正离子模式;干燥气温度325 $^{\circ}\text{C}$;雾化气压力35 psi;毛细管出口电压100 V;干燥器流量8 L/min;毛细管电压4 kV;碰撞能电压10 V;质量扫描范围,即质荷比(m/z)50~1 000,其中奥美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑分别为346.122 0, 360.137 6, 370.083 2, 384.082 4。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:精密量取混合对照品溶液,按拟订色谱条件进样,理论板数以雷贝拉唑钠峰计大于3 000,各待测成分峰间的分离度均大于1.5。

检测限考察:分别精密量取混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按拟订试验条件进样测定,以信噪比(S/N)10:1计算检测限。结果检测限为0.01 ng。

精密度试验:取混合对照品溶液适量,按拟订试验条件连续进样测定6次,记录离子信号强度。结果奥美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑离子信号强度的RSD均小于1% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.1项下阳性对照溶液I、II(批号为20181018)各适量,分别于室温下放置0, 4, 8, 16, 24, 48 h时,按拟订试验条件进样测定,记录离子信号强度。结果奥美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑离子信号强度的RSD分别为2.4%, 1.5%, 1.8%, 2.5% ($n=6$),表明阳性对照溶液I、II在室温下放置48 h内基本稳定。

重复性试验:精密称取样品(批号为20181018)适量,依法制备供试品溶液,各6份,按拟订试验条件进样测定,记录离子信号强度并计算含量。结果奥美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑离子信号强度的RSD分别为1.4%, 1.0%, 0.8%, 1.2% ($n=6$),表明方法重复性良好。

2.4 样品中质子泵抑制剂检测

取6批样品及2批阳性对照溶液I各适量,分别依法制备供试品溶液,再按拟订试验条件进样测定,平行测定3次,记录离子信号强度。结果10批样品中均未检出质子泵抑制剂,阳性对照溶液中4种质子泵抑制剂均可检出。

2.5 色谱图及具体对照溶液质谱图

详见图1至图3。

3 讨论

质子泵抑制剂类药品均是弱碱性化合物,在以10 mmol/L醋酸铵溶液-甲醇(40:60, V/V)为流动相,选择ESI正离子模式下,均可检出奥美拉唑、泮托拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑。兰索拉唑虽不是以成盐对照品状态进样,但由于其分子有易与钠离子结合的作用位点(醚键上的氧),由于其他对照品引入了钠,导致在质谱图中兰索拉唑 $[M+Na]$ 392.0峰比 $[M+H]$ 370峰强,其他对照品一级质谱离子峰均是脱钠峰。

取混合对照品溶液,选ESI离子化模式,直接进样,进行质谱条件优化。本试验中分别考察了不同毛细管出口电压(150, 130, 100, 90 V)、雾化气压力(30, 35, 40 psi)、干燥气温度(310, 325, 335, 350 $^{\circ}\text{C}$)及干燥器流量(11, 9, 8, 7 L/min)条件下的离子信号强度,结果最优质

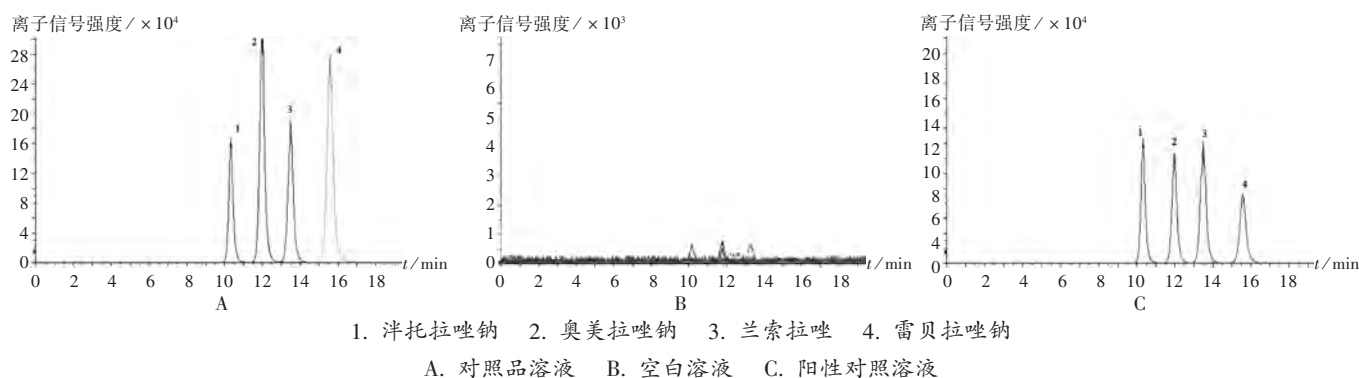


图1 高效液相色谱图

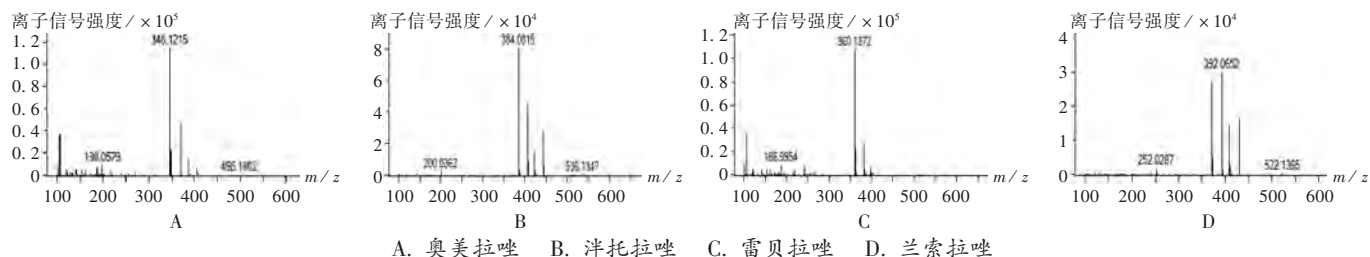


图2 一级质谱图

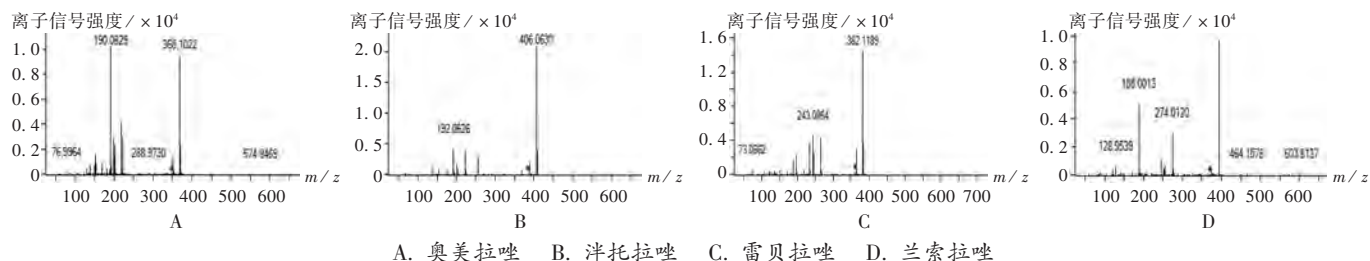


图3 二级质谱图

谱为毛细管出口电压 100 V, 雾化气压力为 35 psi, 干燥气温度为 325 °C, 干燥器流量为 8 L/min。

质谱检测一般都是痕量或微量检测, 常见检测限度都是 ng 或 pg 级别, 而质子泵抑制剂药品常见治疗单次给药剂量为 10, 20, 40 mg, 若让该类中药制剂及保健品刻意达到突出的疗效, 其加入量自然倾向于接近或远大于治疗剂量, 可超过质谱的检测质量浓度, 一般情况下质谱作为检测手段无需担心检测限度和灵敏度的问题。

参考文献:

- [1] 刘吉龙, 文国容, 金海, 等. 质子泵抑制剂抗胃癌的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(4): 670-674.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 234.
- [3] 林伟杰, 梁祈, 詹若挺, 等. 质谱数据库法快速筛查壮阳类中成药和保健品中 12 种非法添加化学成分[J]. 试验与研究, 2018, 54(8): 875-882.
- [4] 姜建国, 张西如, 张铁华. LC-MS/MS 法检查保健食品和中成药中非法添加磺胺药[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2542-2546.
- [5] 朱瑞, 陈卫东, 葛芹, 等. LC-MS/MS 同时测定 MCF-7 细胞中雌二醇及其羟基代谢物[J]. 江西中医药大学学报, 2018, 30(2): 77-81.

- [6] 余晶晶, 王昇, 谢复炜, 等. LC-MS/MS 同时测定卷烟主流烟气中 4 种芳香胺[J]. 烟草科技, 2012, 22(12): 44-48.
- [7] 邱昆成, 孙振刚, 何倩梅, 等. LC-MS-MS 测定配伍黄柏对知母中 4 种有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(14): 84-88.
- [8] 祝伟霞, 刘亚凤, 孙转莲, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定保健品中 26 种非法添加剂[J]. 理化检验-化学分册, 2016, 52(11): 1286-1291.
- [9] 戴莹, 于春暖, 周立新, 等. 中药类保健食品质量安全主要风险因子分析[J]. 首都食品与医药, 2018, 25(12): 142-144.
- [10] 张小龙, 王昆, 吴先富, 等. 中药及保健食品中非法添加状况分析[J]. 中国药师, 2014, 17(10): 1749-1753.
- [11] 蔡振世, 徐瑞琼, 卢文斌. 补肾壮阳类保健品中非法添加剂检测方法在国内的研究进展[J]. 海峡药学, 2016, 28(7): 61-64.
- [12] 陈日榕, 柯春文, 万晓明, 等. 高效液相色谱-质谱联用法检测抗鼻炎喷剂中非法添加盐酸萘甲唑啉[J]. 中国药业, 2015, 24(2): 33-34.
- [13] 华云鹏, 雍太萍, 宗宁峰, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定安喘舒丸中腺苷和黄芪甲苷含量[J]. 中国现代中药, 2016, 18(8): 1055-1057.

(收稿日期: 2019-01-02)