

中药制剂中非法添加盐酸雷尼替丁的测定

王洁*

(聊城大学医院药剂科, 山东 聊城 252059)

[摘要] 目的: 建立检测治胃病中药制剂中非法添加的盐酸雷尼替丁的定性、定量方法。方法: 采用 TLC, HPLC, LC-MS 进行定性鉴别; HPLC 外标法定量。结果: 2 种受试中药制剂中检测到化学药物成分盐酸雷尼替丁, 测定供试品含盐酸雷尼替丁分别为 60.3 mg/粒和 76.4 mg/粒。结论: 方法选择性强, 准确可靠, 可作为中药中非法掺入化学药物雷尼替丁的定性、定量分析方法。

[关键词] 中药制剂; 盐酸雷尼替丁; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 液相色谱-质谱联用法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0080-03

中药中非法掺入化学药物的现象近年来时有发生, 如补肾壮阳中药制剂中非法添加化学药物成分西地那非^[1], 降糖中药制剂私自加入苯乙双胍、格列本脲^[2], 减肥中药擅自掺入盐酸西布曲明^[3]等。近来发现市场上存在某些治疗胃病中药制剂中非法添加化学药物成分雷尼替丁的情况, 雷尼替丁系一种 H₂ 受体阻止剂, 目前临床上 H₂ 受体阻止剂药物在用于治疗消化性溃疡方面, 是使用量仅次于质子泵抑制剂的一类药物。若患者在不知情的情况下长期、大量服用此类掺假的“纯中药制剂”, 对使用者的健康甚至生命安全构成危害。因此建立准确可靠的分析方法, 对于规范药品市场, 保护使用者的健康具有重要意义。本文建立了检测中药复杂化学环境中非法掺入化学药物成分盐酸雷尼替丁的定性、定量的分析方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, CLASS-VP 色谱工作站; 美国 Waters 公司 Acquity™ UPLC-Quattro Premier XE QQQ 质谱仪, Acquity™ PDA, Masslynx 数据处理系统; AG135 电子分析天平 (Mettler); Milli-QG 超纯水制备系统 (美国 Millipore 公司); TCQ-250 型超声清洗器 (北京医疗设备二厂); DYQ- 点样器 (重庆南岸贝尔德仪器厂); ZF- 型紫外分析仪; 硅胶 G、GF₂₅₄ 预制板 (10 cm × 10 cm, 0.3 mm 厚, 青岛海洋化工厂)。

对照品盐酸雷尼替丁 (批号为 10163-0004, 由中国药品生物制品检定所提供); 治胃病中药胶囊 A、B, 均标示为“纯中药制剂”, 均为市售品。样品 A (批号 20060814, 标示主要成分柴胡、白芍、厚朴等), 样品 B (批号 051204, 标示主要成分血竭、乌贼骨、白芨等); 娃哈哈纯净水, 甲醇为色谱纯 (Dikma), 其余试剂为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 TLC 定性鉴别 取胶囊 A、B 各 5 粒, 倾出内容物混匀, 研细, 分别置锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 过滤, 滤器和滤渣用甲醇 20 mL 分次洗涤, 合并洗液与滤液, 置水浴加热浓缩至约 2 mL, 即得供试品溶液。另取盐酸雷尼替丁对照品, 用甲醇溶解并制备成 0.5 mg·mL⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。按薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 5 μL, 分别点于同一在硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-异丙醇-氨水 (10:5:1) 为展开剂, 上行展开, 取出, 晾干, 置碘蒸气中熏 5 min 后检视, 结果供试品在与盐酸雷尼替丁对照品色谱相应的位置显相同颜色的斑点。

2.2 HPLC 及 LC-MS 定性鉴别

2.2.1 HPLC 条件 色谱柱 Agilent Extent -C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-10 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液 (72:28)。流速 1.0 mL·min⁻¹。二极管阵列扫描波长范围 190~400 nm, 测定波长 320 nm, 进样量 10 μL。柱温室温。按上述条件测定获得的对照品和样品 A、B 的色谱图见图 1。

2.2.2 MS 与 MS-MS 条件 HPLC 条件甲醇-水 (50:50)。流速 0.15 mL·min⁻¹; 电喷雾正离子检

[收稿日期] 2010-04-09

[通讯作者] * 王洁, Tel: 13969516722; E-mail: zxq722@126.com

测方式(ESI^+); m/z 范围 50 ~ 500; 毛细管电压 3.0 V; 脱溶剂气 $450 L \cdot h^{-1}$; 锥孔气 $50 L \cdot h^{-1}$; 源温度 105 ; 脱溶剂温度 350 , 见图 2。

2.2.3 对照品溶液的配制 精密称取盐酸雷尼替丁对照品 5 mg, 用甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中, 摇匀, 作为雷尼替丁对照品溶液, 用于 HPLC, MS, MS-MS 分析。

2.2.4 供试品溶液的配制 取胶囊 A, B 各 10 粒, 测定装量差异, 将内容物混合均匀, 研细, 精密称取细粉适量(约相当于 2 粒的量)置 100 mL 量瓶中, 加入甲醇约 70 mL, 超声处理 20 min, 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。然后取 10 mL 离心($4\ 000 r \cdot min^{-1}$) 5 min, 精密量取上清液 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 以甲醇定容。然后用 0.45 μm 的滤膜过滤, 即得。

2.2.5 结果 雷尼替丁对照品的色谱及质谱行为采用正离子检测方式对盐酸雷尼替丁对照品溶液进行 HPLC, LC-MS, LC-MS-MS 分析, 保留时间为 4.3

min, 准分子离子 $[M+H]^+$ 峰 m/z 315, 将 m/z 315 进行二级全扫描质谱分析, 产生的主要碎片离子有 m/z 270、224、176, 如图 1、图 3 所示。

2.2.6 供试品的定性检测 在与对照品相同的色谱及质谱条件下, 将上述制备的 10 种样品提取溶液进行 HPLC、MS 和 MS-MS 分析, 在样品 A、B 中均检测到雷尼替丁的准分子离子 $[M+H]^+$ 峰 m/z 315, 对 m/z 315 进行二级全扫描质谱分析, 产生与对照品完全一致的碎片离子 m/z 270, m/z 224, m/z 176, 且液相色谱保留时间、紫外吸收光谱与雷尼替丁对照品的相同。如图 1、图 3 所示。

综合液相色谱保留时间、紫外吸收光谱、准分子离子、二级质谱裂解碎片几方面的信息, 可以证实样品胶囊 A, B 中被非法掺入化学药物成分雷尼替丁, 其余样品未检测到。

2.3 HPLC 定量分析测定

2.3.1 线性关系考察 精密称取盐酸雷尼替丁对照品约 12.5 mg 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并

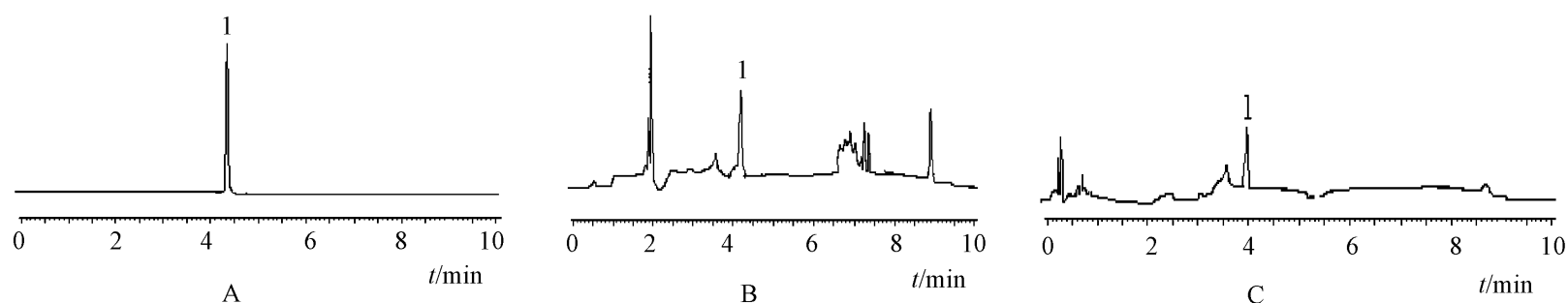


图 1 盐酸雷尼替丁对照品和样品(A、B)的 HPLC 色谱图
A. 雷尼替丁对照品; B. 供试品 A; C. 供试品 B

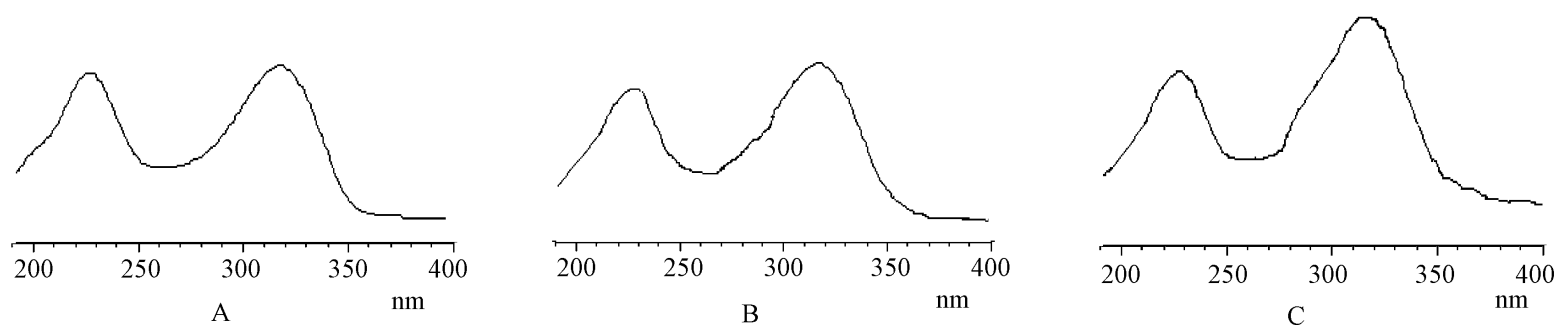


图 2 高效液相-二极管阵列紫外吸收光谱图谱
A. 盐酸雷尼替丁对照品; B. 供试品 A; C. 供试品 B

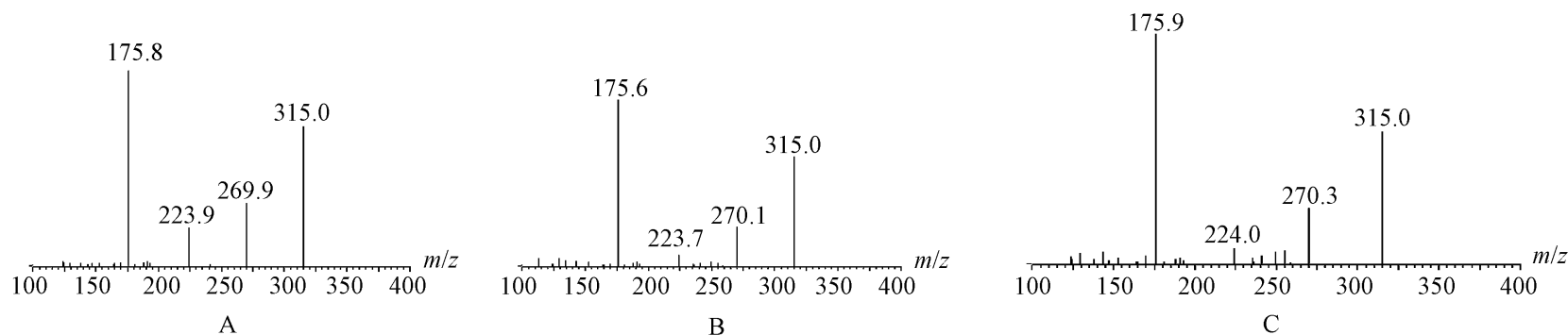


图 3 盐酸雷尼替丁对照品(R)和样品 A(S) 二级质谱图

稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 用流动相定容, 摇匀。按 2.2.1 项下条件分别进样 20 μL , 以盐酸雷尼替丁峰面积 A 对浓度 C ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行线性回归, 得回归方程 $A = 1.61 \times 10^5 C + 2.11 \times 10^3$, $r = 0.9998$ ($n = 6$), 表明盐酸雷尼替丁在 5.0 ~ 100.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内于峰面积成良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验 取同一对照品溶液, 按 2.2.1 项下条件, 连续进样 6 次, 结果盐酸雷尼替丁的峰面积 RSD 为 0.43%, 表明精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取 2.2.4 供试品溶液, 在同一色谱条件下, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 时进样测定, 结果盐酸雷尼替丁的峰面积 RSD 为 1.22%, 表明 12 h 内基本稳定。

2.3.4 加样回收率试验 精密称取已经测知含量的胶囊 A, B 内容物适量, 准确加入高中低不同浓度的盐酸雷尼替丁对照品溶液, 按照 2.2.4 项下方法制备供试品溶液, 依照上述色谱条件测定, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 求回收率, 结果胶囊 A, B 的平均回收率分别为 98.7% (RSD 0.8%, $n = 9$), 99.2% (RSD 0.6%, $n = 9$)。

2.3.5 样品含量测定 分别精密量取 2.2.3 项下对照品溶液和 2.2.4 供试品溶液, 按照上述色谱条件测定, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算含量, 结果测定供试品含盐酸雷尼替丁胶囊 A 为 60.3 mg/粒, 胶囊 B 为 76.4 mg/粒。

3 讨论

近年来, 中药制剂(含中药保健品)中非法掺杂化学药物的事件层出不穷。迄今为止, 已在大量具不同功效中成药(含中药保健品)中发现非法掺入功效相似的化学药物, 涉及到的中药剂型也是多种多样, 以胶囊剂、片剂、丸剂、口服液等最为常见。这种掺假造假行为对个人和社会已经造成了相当的危害。因此建立科学的分析手段检测此种非法掺加的化学药物, 对于控制中药制剂的质量, 保证临床用药安全十分必要。本文建立的检查中药中非法添加的化学药物盐酸雷尼替丁, 采用 TLC, LC-MS 联用技术进行定性鉴别及 HPLC 定量分析, 方法简便、快速准确, 对于控制所测中药品种的内在质量具有现实意义。

[参考文献]

- [1] 张启明, 尹华, 黄海伟, 等. 检查中药中非法掺入枸橼酸西地那非的方法研究[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(4): 315.
- [2] 董宇, 孔璋, 钟大放. 液相色谱-质谱联用法检测中药降糖制剂中非法掺入的苯乙双胍和格列本脲[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(1): 19.
- [3] 罗金文, 张叶萍, 朱海霖, 等. 液相色谱-质谱联用法鉴定中药制剂中掺入的减肥药[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(7): 791.

[责任编辑 顾雪竹]