
LC-MS/MS 法测定保健品中止咳平喘类药物

1 前言

止咳平喘类药物具有较好的治疗作用的同时还具有较严重的不良反应包括恶心、神经过敏、失眠甚至心律失常、诱发癫痫导致死亡等。正规的治疗哮喘的中成药一般显效较慢，不良商贩为达到速效的目的往往会向中成药中非法添加止咳平喘类药物以符合宣传疗效，从而获取高额利润。而患者在不知情情况下不经医嘱，没有规律的摄入大量非法添加的止咳平喘类药物会对身体产生严重危害。因此对保健品和中成药中止咳平喘类非法添加的监测十分重要。

快速、灵敏、准确的分析手段在保健品中非法添加的监控中有着重要地位，本文基于谱育 EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪建立了一种快速、准确、灵敏的分析保健品和中成药中止咳平喘类非法添加的方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

茶碱、磺胺甲恶唑、马来酸氯苯那敏、盐酸苯海拉明、枸橼酸喷托维林、磷酸苯丙哌林、醋酸泼尼松、地西洋标准品：客户提供

试剂：乙腈和甲酸均为色谱级，水为超纯水。

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。



2.2 液相和质谱条件

表 1 液相和质谱条件参数

| | | | | |
|-------|--------|----------------------------------|-------|-------|
| LC 条件 | 流动相 | 水相 A: 0.1%甲酸水 有机相 B: 乙腈, 梯度洗脱 | | |
| | 流速 | 0.4 mL/min | | |
| | 色谱柱 | Waters BEH C18, 2.1×100mm, 1.7μm | | |
| | 进样量 | 2uL | | |
| | 柱温 | 40°C | | |
| | 运行时间 | 6min | | |
| | 梯度方法 | Time (min) | A (%) | B (%) |
| | | 0.0 | 95 | 5 |
| | 0.5 | 95 | 5 | |
| | 1.5 | 25 | 75 | |
| | 3.0 | 0 | 100 | |
| | 3.1 | 95 | 5 | |
| | 5 | 95 | 5 | |
| MS 条件 | 运行模式 | ESI+ | | |
| | 雾化气流量 | 1.9L/min | | |
| | 去溶剂气流量 | 6.0L/min | | |

| | | |
|--|--------|------------|
| | 反吹气流量 | 1.0L/min |
| | 去溶剂气温度 | 450°C |
| | 碰撞气流量 | 0.55mL/min |
| | 毛细管高压 | 5kV |

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、锥孔电压、碰撞能量等参数见下图。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

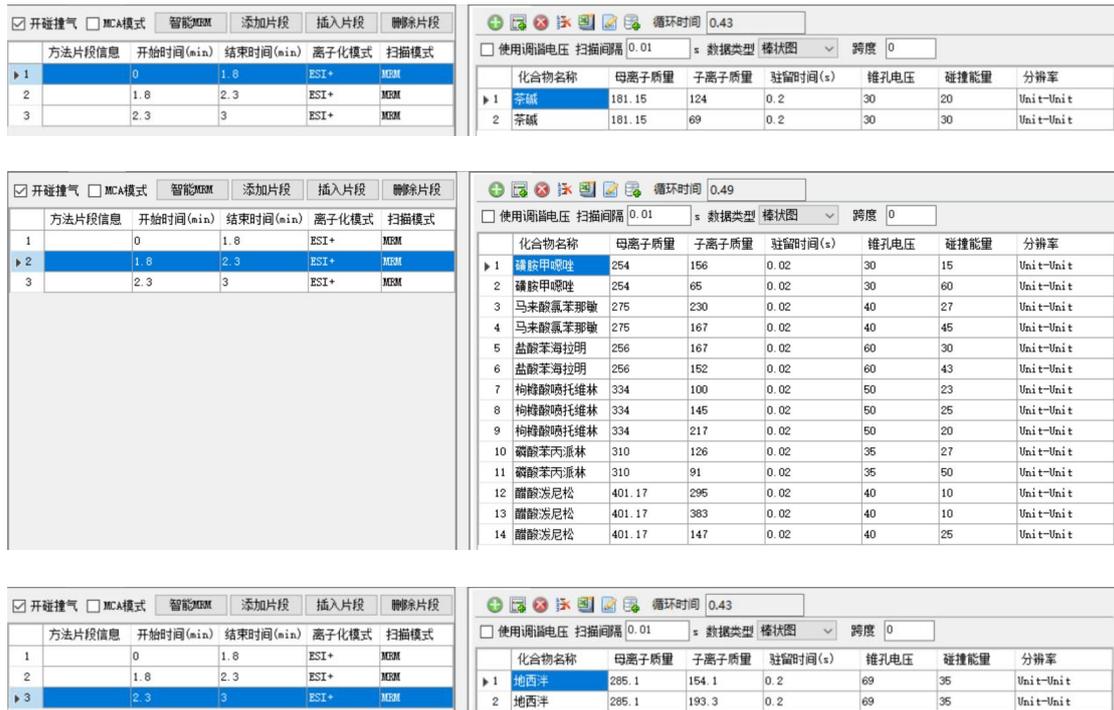


图 1 止咳平喘类监测离子对等质谱参数

2.3 样品前处理

将 3g 样品打碎, 使用 100mL 甲醇提取后过膜, 上机。

3 结果

3.1 线性与灵敏度

使用样品基质稀释标准品得到一系列降压类混标(1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL)按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积(Y)为纵坐标, 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标绘制抗风湿类的对照品标准曲线, 如下表所示。

表 2 止咳平喘类化合物标准工作曲线

| 化合物 | 标准工作曲线 | 线性相关系数 r |
|---------|----------------------------------|--------------|
| 茶碱 | $y = 12034.4600x + 832.2764$ | $r = 0.9995$ |
| 马来酸氯苯那敏 | $y = 198746.9478x - 25246.9258$ | $r = 0.9930$ |
| 磺胺甲恶唑 | $y = 48532.4939x - 15715.9414$ | $r = 0.9942$ |
| 盐酸苯海拉明 | $y = 151663.9700x - 36635.5330$ | $r = 0.9996$ |
| 枸橼酸喷托维林 | $y = 124953.2481x - 27911.9221$ | $r = 0.9994$ |
| 磷酸苯丙派林 | $y = 384446.7566x - 109930.6689$ | $r = 0.9909$ |
| 醋酸泼尼松 | $y = 1269.6378x + 401.2719$ | $r = 0.9967$ |
| 地西洋 | $y = 41380.3049x - 11060.5601$ | $r = 0.9990$ |

表 3 典型部分化合物工作曲线

| 化合物 | 标准工作曲线 |
|--------|---|
| 茶碱 | <p>茶碱: 6个级别, 使用了5个级别; 6个点, 使用了5个点</p> <p>$y = 12034.4600x + 832.2764$ $r = 0.9995$</p> |
| 盐酸苯海拉明 | <p>盐酸苯海拉明: 6个级别, 使用了5个级别; 6个点, 使用了5个点</p> <p>$y = 151663.9700x - 36635.5330$ $r = 0.9996$</p> |

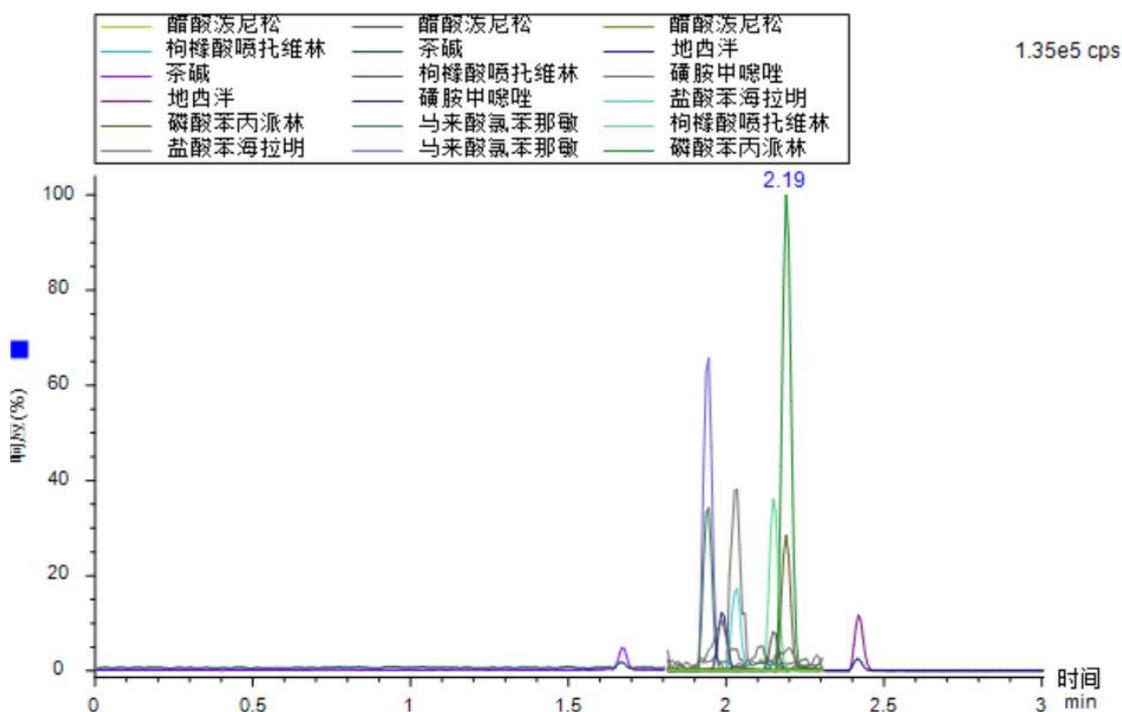
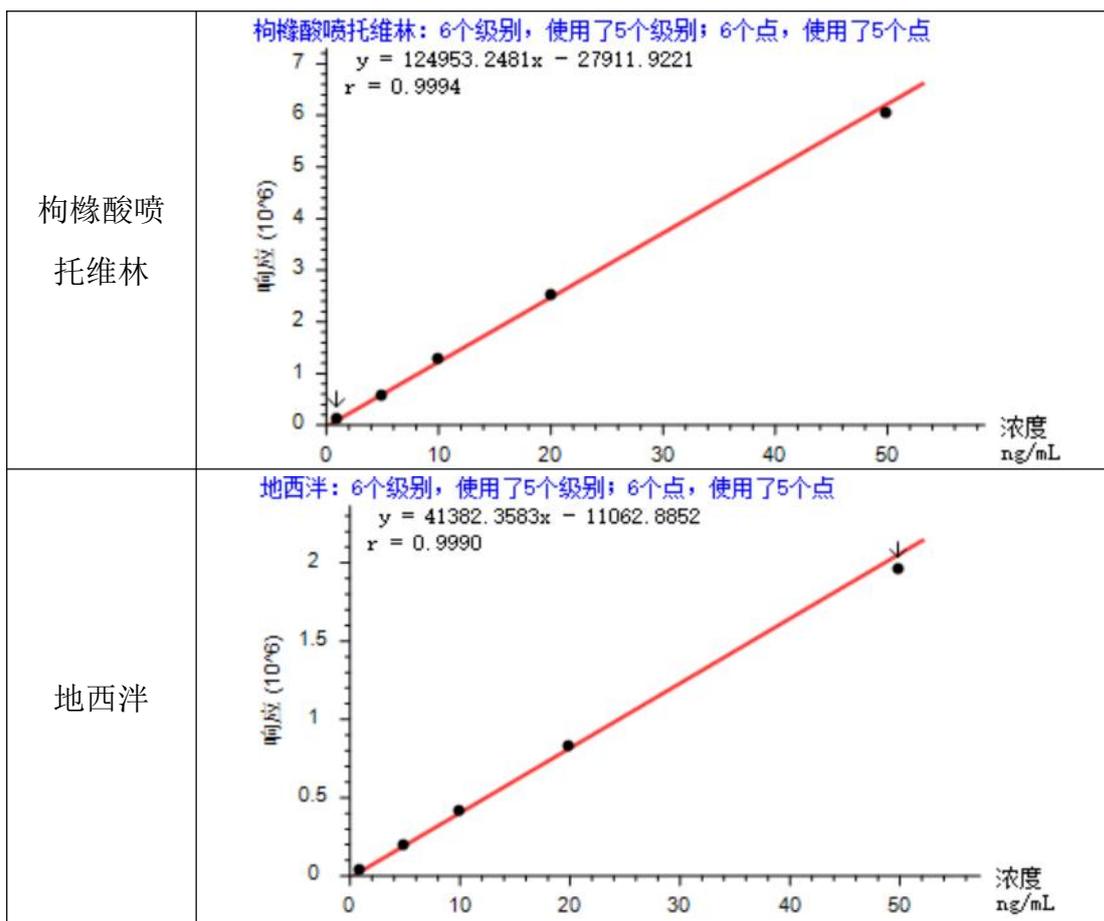


图2 止咳平喘类对照品的典型谱图 (100ng/mL)

表4 为各化合物的信噪比以及检出限和定量限, 经计算各物质的定量限在

0.01-0.89ng/mL 之间；检出限在 0.003-0.27ng/mL 之间。

表 4 止咳平喘类药物的信噪比

| 化合物 | 信噪比 S/N | 定量限 ng/mL | 检出限 ng/mL |
|---------|---------|-----------|-----------|
| 茶碱 | 43.88 | 0.23 | 0.07 |
| 马来酸氯苯那敏 | 331.70 | 0.03 | 0.01 |
| 磺胺甲恶唑 | 52.92 | 0.19 | 0.06 |
| 盐酸苯海拉明 | 23.81 | 0.42 | 0.13 |
| 枸橼酸喷托维林 | 288.15 | 0.03 | 0.01 |
| 磷酸苯丙派林 | 1314.31 | 0.01 | 0.003 |
| 醋酸泼尼松 | 11.23 | 0.89 | 0.27 |
| 地西洋 | 224.19 | 0.04 | 0.01 |

信噪比为 1ng/mL 浓度下的信噪比

3.2 重复性

配置 10ng/mL 浓度对照品，连续进样 7 次，考察响应的重复性，结果如下图所示。

10ng/mL 重复性：峰面积 RSD 位于 1.59%-8.70%之间，保留时间 RSD 均小于 0.20%。

| 峰号 | 峰名 | 保留时间 | 峰面积 | 茶碱 | | 马来酸氯苯那敏 | | 磺胺甲恶唑 | | 盐酸苯海拉明 | | 枸橼酸喷托维林 | | 磷酸苯丙派林 | | 醋酸泼尼松 | | 地西洋 | |
|-----|-------------------|------|-----------|------|------------|---------|------------|-------|------------|--------|------------|---------|-------------|--------|----------|-------|------------|------|-----|
| | | | | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 |
| 1 | 止咳类非法10ppb1 止咳类线性 | 1.67 | 606163.10 | 1.94 | 8532341.00 | 1.99 | 1904489.00 | 2.03 | 6048246.00 | 2.16 | 6933000.00 | 2.20 | 16863270.00 | 2.22 | 64603.62 | 2.42 | 1530563.00 | | |
| 2 | 止咳类非法10ppb2 止咳类线性 | 1.67 | 601259.90 | 1.94 | 8428956.00 | 1.99 | 1726052.00 | 2.03 | 7218981.00 | 2.16 | 7297916.00 | 2.20 | 19246740.00 | 2.23 | 73552.54 | 2.42 | 1600507.00 | | |
| 3 | 止咳类非法10ppb3 止咳类线性 | 1.66 | 583720.60 | 1.94 | 8577374.00 | 1.98 | 2230962.00 | 2.03 | 6292553.00 | 2.16 | 7105466.00 | 2.19 | 18654050.00 | 2.23 | 83330.38 | 2.42 | 1506513.00 | | |
| 4 | 止咳类非法10ppb4 止咳类线性 | 1.67 | 580650.00 | 1.94 | 8506973.00 | 1.99 | 2120589.00 | 2.03 | 7088118.00 | 2.16 | 6786276.00 | 2.20 | 18485870.00 | 2.23 | 83245.32 | 2.42 | 1586935.00 | | |
| 5 | 止咳类非法10ppb5 止咳类线性 | 1.67 | 578848.40 | 1.94 | 8567677.00 | 1.99 | 1993135.00 | 2.03 | 7304291.00 | 2.16 | 7509960.00 | 2.20 | 19024280.00 | 2.22 | 76801.70 | 2.42 | 1592705.00 | | |
| 6 | 止咳类非法10ppb6 止咳类线性 | 1.67 | 605402.10 | 1.94 | 8185143.00 | 1.99 | 2112758.00 | 2.03 | 7129912.00 | 2.16 | 7621547.00 | 2.19 | 19259550.00 | 2.22 | 81894.83 | 2.42 | 1626022.00 | | |
| 7 | 止咳类非法10ppb7 止咳类线性 | 1.67 | 549185.90 | 1.94 | 8478495.00 | 1.99 | 2099316.00 | 2.03 | 7439668.00 | 2.16 | 7100904.00 | 2.19 | 18400630.00 | 2.22 | 75933.84 | 2.42 | 1545961.00 | | |
| Min | | 1.66 | 549185.90 | 1.94 | 8185143.00 | 1.98 | 1726052.00 | 2.03 | 6048246.00 | 2.16 | 6786276.00 | 2.19 | 16863270.00 | 2.22 | 64603.62 | 2.42 | 1506513.00 | | |
| Max | | 1.67 | 606163.10 | 1.94 | 8577374.00 | 1.99 | 2230962.00 | 2.03 | 7439668.00 | 2.16 | 7621547.00 | 2.20 | 19259550.00 | 2.23 | 83330.38 | 2.42 | 1626022.00 | | |
| AVG | | 1.67 | 586461.40 | 1.94 | 8468137.00 | 1.98 | 2026757.00 | 2.03 | 6931682.00 | 2.16 | 7193582.00 | 2.19 | 18562060.00 | 2.23 | 77051.75 | 2.42 | 1569887.00 | | |
| SD | | 0.00 | 20226.27 | 0.00 | 134907.00 | 0.00 | 168188.90 | 0.00 | 537298.90 | 0.00 | 301189.20 | 0.00 | 826149.80 | 0.00 | 6705.09 | 0.00 | 42885.73 | | |
| RSD | | 0.16 | 3.45 | 0.16 | 1.59 | 0.16 | 8.30 | 0.00 | 7.75 | 0.00 | 4.19 | 0.20 | 4.45 | 0.20 | 8.70 | 0.00 | 2.73 | | |
| IDL | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | | |

图 4 10ng/mL 止咳平喘类化合物的精密度

4 结论

本文建立了一种使用谱育科技三重四极杆液质联用仪 EXPEC 5210 测定中成药中止咳平喘类非法添加分析方法。本文还考察了该方法的线性、重复性、灵敏度等，结果显示：止咳平喘类物质在 1-50ng/mL 浓度范围内线性良好，相关

系数均大于 0.99；各物质的定量限在 0.01-0.89ng/mL 之间；检出限在 0.003-0.27ng/mL 之间。连续进样 7 次各物质 RSD 均在 10%以内，精密度符合标准要求。因此，本方法可以对中成药中止咳平喘类非法添加实现快速、准确、灵敏的实现定量测定。