
LC-MS/MS 法测定保健品中抗风湿类药物

1 前言

风湿性及类风湿性关节炎是常见病，多发病。而抗风湿类中药多数显效慢。解热镇痛抗炎药亦称非甾体抗炎药，绝大多数药物兼有抗风湿作用，这些药物疗效迅速但是长期服用不良反应较大。而不良商家受到利益驱使为提高疗效会在抗风湿类中成药和保健食品中非法添加抗炎药物。患者在不知情的情况下长期大量服用这类药物会造成身体的损伤。因此对抗风湿性保健食品和中成药中非法添加的监测十分中

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抗风湿性非法添加的方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

氨基比林、对乙酰氨基酚、甲氧苄啶、氢化可的松、地塞米松、必罗昔康、盐酸泼尼松、萘普生保泰松、阿司匹林、吲哚美欣、双氯芬酸钠、布洛芬标准品：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 正离子模式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	10uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	6min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0.0	80	20
	1.0	80	20	
	2.0	30	70	
	3.0	5	95	
	4.0	5	95	
	4.1	80	20	
	6	80	20	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.5L/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

表 2 负离子模式液相和质谱条件参数

LC 条件	流动相	水相 A: 纯水 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	10uL			
	柱温	40°C			
	运行时间	6min			
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)	
		0.0	95	5	
		1.0	95	5	
		2.0	25	75	
3.0		0	100		
4.0		0	100		
4.1		95	5		
6		95	5		
MS 条件	运行模式	ESI-			
	雾化气流量	1.5L/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	-4.5kV
--	-------	--------

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。

The figure displays a software interface for configuring MRM parameters. It consists of several panels:

- Method Segment Information Table:** A table with columns for 'Method Segment Information', 'Start Time (min)', 'End Time (min)', 'Ionization Mode', and 'Scan Mode'. It shows segments 1, 2, 3, and 4 with their respective time ranges and settings.
- MRM Control Panel:** Includes checkboxes for 'Open Collision Gas', 'MCA Mode', and 'Smart MRM'. It also has buttons for 'Add Segment', 'Insert Segment', and 'Delete Segment'. A 'Cycle Time' field is set to 0.52.
- Compound Parameter Table:** A table with columns: 'Compound Name', 'Parent Ion Mass', 'Sub-ion Mass', 'Retention Time (s)', 'Cone Voltage', 'Collision Energy', and 'Resolution'. It lists 7 compounds for the first segment, 4 for the second, 9 for the third, 3 for the fourth, 2 for the fifth, 2 for the sixth, and 7 for the seventh.

图 1 抗风湿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

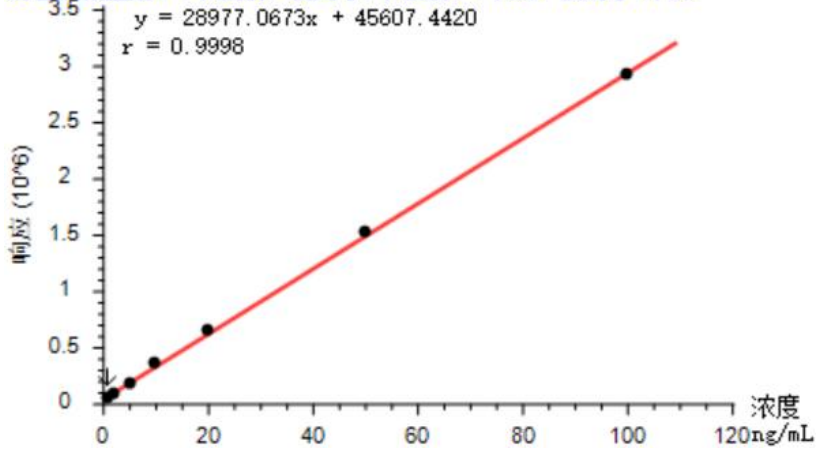
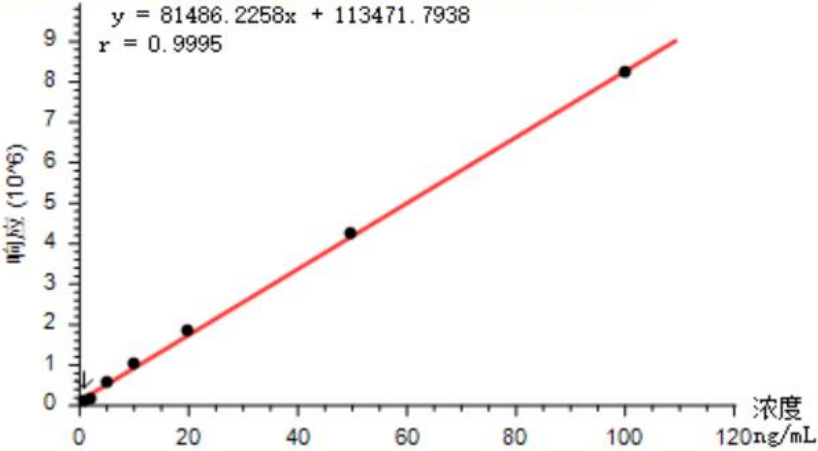
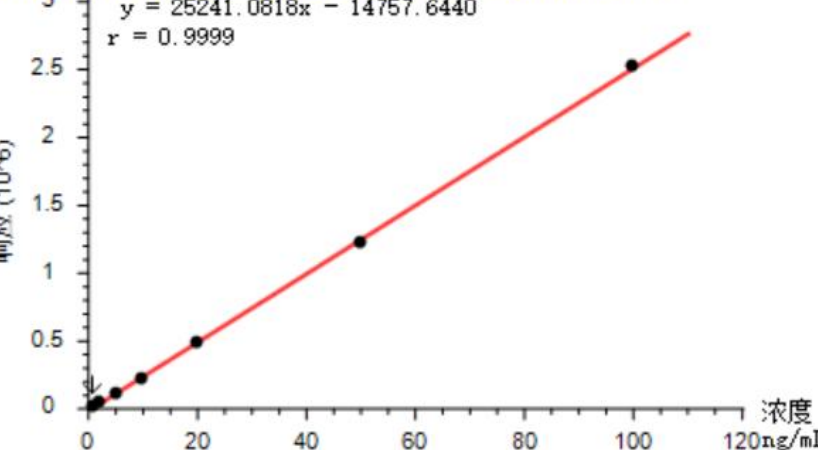
使用样品基质稀释标准品得到一系列抗风湿类混标（1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL）按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积（Y）为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标绘制抗风湿类的对照品标准曲线，如下表所示。

表 3 抗风湿类化合物标准工作曲线

化合物	工作曲线	线性相关系数 r
对乙酰氨基酚	$y = 28977.0673x + 45607.4420$	$r = 0.9998$
氨基比林	$y = 81486.2258x + 113471.7938$	$r = 0.9995$
甲氧苄啶	$y = 199186.2536x + 416799.1477$	$r = 0.9975$
氢化可的松	$y = 25241.0818x - 14757.6440$	$r = 0.9999$
地塞米松	$y = 450178.0805x + 38965.4049$	$r = 0.9940$
吡罗昔康	$y = 450178.0805x + 38965.4049$	$r = 0.9940$
醋酸泼尼松	$y = 7161.9834x - 11890.5836$	$r = 0.9984$
萘普生	$y = 13033.8322x - 10002.2088$	$r = 0.9976$
保泰松	$y = 24326.0355x - 46169.8209$	$r = 0.9973$
阿司匹林	$y = 18573.5357x + 20450.2578$	$r = 0.9997$
双氯芬酸钠	$y = 83280.2314x + 74892.0361$	$r = 0.9987$
吲哚美辛	$y = 6563.3152x + 1076.9355$	$r = 0.9938$
布洛芬	$y = 3635.1391x + 752.8302$	$r = 0.9979$

表 4 部分化合物曲线

化合物	标准工作曲线
-----	--------

<p>对乙酰氨基酚</p>	<p>对乙酰氨基酚: 7个级别, 使用了7个级别; 7个点, 使用了7个点</p> $y = 28977.0673x + 45607.4420$ $r = 0.9998$  <p>响应 (10⁶)</p> <p>浓度</p> <p>120ng/mL</p>
<p>氨基比林</p>	<p>氨基比林: 7个级别, 使用了7个级别; 7个点, 使用了7个点</p> $y = 81486.2258x + 113471.7938$ $r = 0.9995$  <p>响应 (10⁶)</p> <p>浓度</p> <p>120ng/mL</p>
<p>氢化可的松</p>	<p>氢化可的松: 7个级别, 使用了7个级别; 7个点, 使用了7个点</p> $y = 25241.0818x - 14757.6440$ $r = 0.9999$  <p>响应 (10⁶)</p> <p>浓度</p> <p>120ng/mL</p>

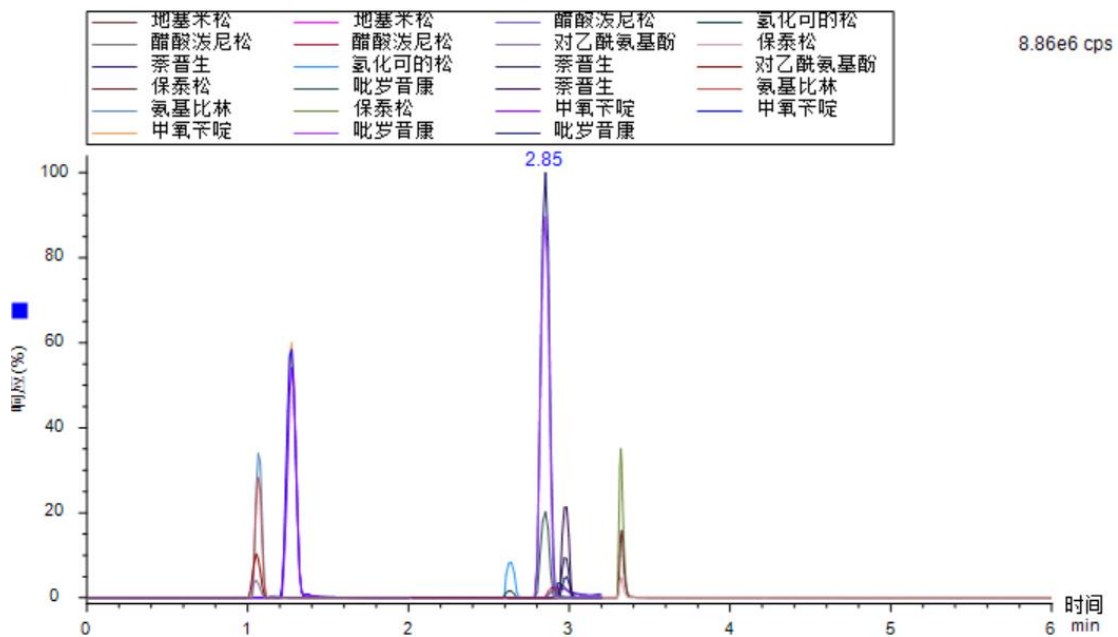
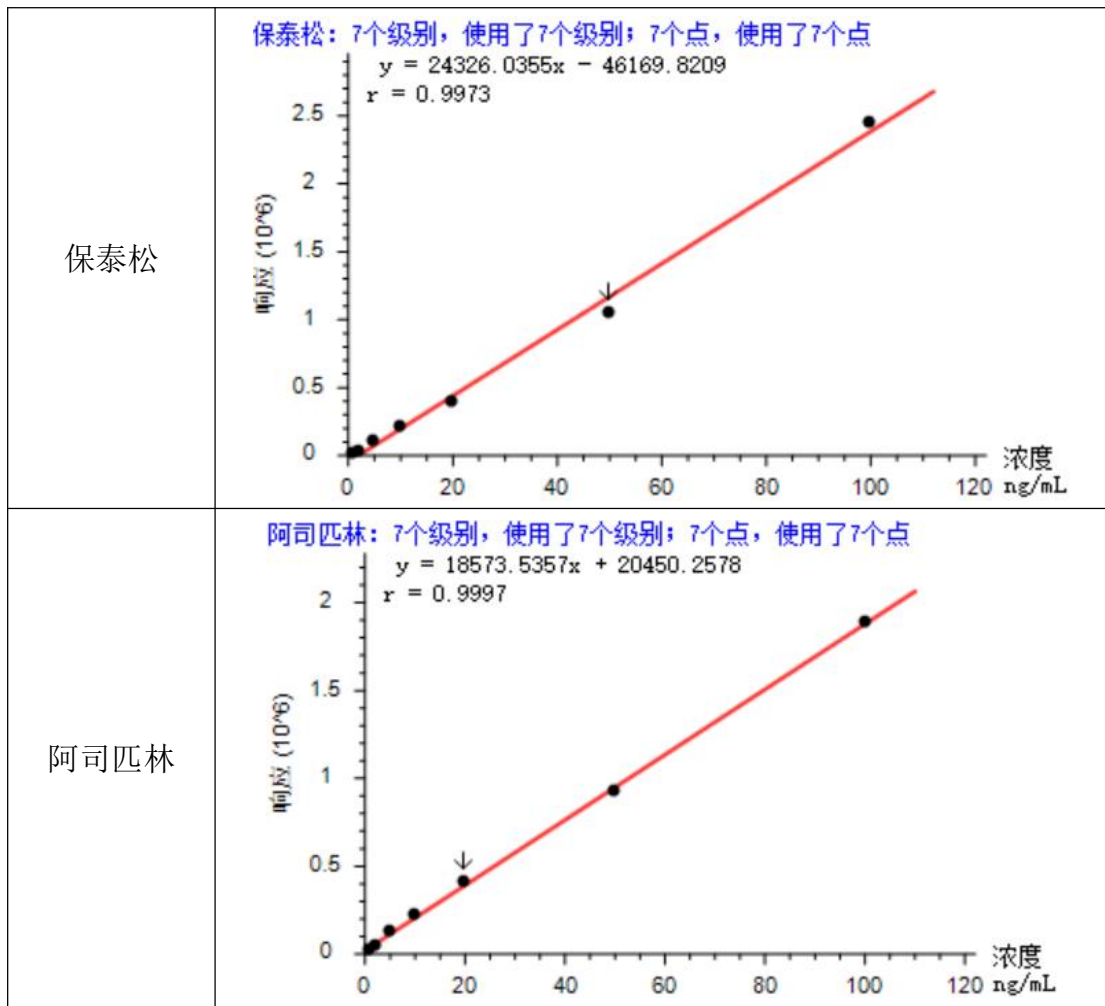


图2 抗风湿类对照品的典型谱图 (100ng/mL 正离子)

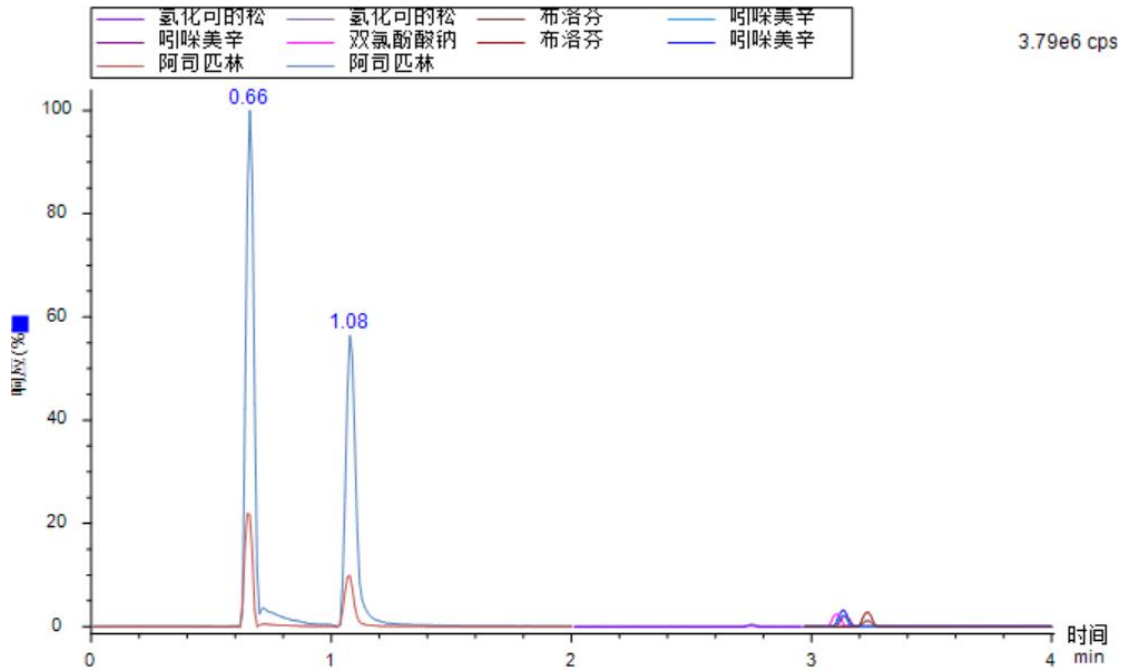


图 2 抗风湿类对照品的典型谱图 (100ng/mL 负离子)

表 5 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 0.02-4.98ng/mL 之间；检出限在 0.01-1.49ng/mL 之间。

表 5 抗风湿类药物的信噪比

化合物	信噪比 S/N	定量限 ng/mL	检出限 ng/mL
对乙酰氨基酚	41.34	0.24	0.07
氨基比林	234.74	0.04	0.01
甲氧苄啶	634.25	0.02	0.01
氢化可的松	40.88	0.24	0.07
地塞米松	10.05	4.98	1.49
吡罗昔康	100.52	0.10	0.03
醋酸泼尼松	12.98	0.77	0.23
萘普生	53.79	0.19	0.06
保泰松	24.19	0.41	0.12
阿司匹林	113.13	0.09	0.03
双氯芬酸钠	86.06	0.12	0.03
吲哚美辛	10.74	0.93	0.28
布洛芬	20.12	2.49	0.75

布洛芬及地塞米松信噪比为 5ng/mL 浓度下的信噪比，其余物质信噪比为 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 10 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 2.79%-8.67%之间，保留时间 RSD 均小于 0.47%。

样品信息			对乙酰氨基酚		氨基比林		甲氧萘啶		氯化可的松		地塞米松		吡罗昔康		酮洛芬尼松		萘普生		倍泰松		
数据文件	定量方法	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	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	387573.00	1.07	1002840.00	1.27	3112176.00	2.62	246596.00	2.74	2568.04	2.85	5348736.00	2.90	63535.77	2.97	148670.20	3.32	197962.60	
2	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	349041.60	1.07	1086081.00	1.26	3058690.00	2.62	279361.10	2.74	2117.00	2.84	5916656.00	2.89	54202.08	2.97	140176.90	3.32	216192.00	
3	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	379696.60	1.07	1105033.00	1.26	3049209.00	2.62	293684.50	2.74	2410.87	2.85	6444709.00	2.90	55651.50	2.97	142454.00	3.32	199771.60	
4	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	372182.10	1.07	1060951.00	1.26	3147630.00	2.62	300810.30	2.74	2705.13	2.85	5896850.00	2.90	57410.12	2.97	139100.30	3.32	226158.60	
5	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.04	439294.70	1.07	1202889.00	1.26	2918478.00	2.62	286327.40	2.76	2327.98	2.85	6563479.00	2.90	58712.20	2.98	115671.00	3.33	195021.60	
6	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	387489.70	1.07	1119044.00	1.27	2933950.00	2.62	265457.30	2.74	2558.20	2.85	5708164.00	2.89	55917.77	2.98	127606.90	3.32	220200.00	
7	抗风湿 10ppb重...	抗风湿-正...	1.05	367345.50	1.07	1162017.00	1.26	3031576.00	2.62	284731.40	2.74	2393.47	2.85	6122015.00	2.90	47554.11	2.97	148385.30	3.32	213612.70	
Min			1.04	349041.60	1.07	1002840.00	1.26	2918478.00	2.62	246596.00	2.74	2117.00	2.84	5348736.00	2.89	47554.11	2.97	115671.00	3.32	195021.60	
Max			1.05	439294.70	1.07	1202889.00	1.27	3147630.00	2.62	300810.30	2.76	2705.13	2.85	6563479.00	2.90	63535.77	2.98	148670.20	3.32	226158.60	
AVG			1.05	383231.90	1.07	1105551.00	1.27	3035959.00	2.62	279566.90	2.74	2440.10	2.85	6000087.00	2.90	56140.51	2.97	137437.80	3.32	209845.60	
SD			0.00	28094.96	0.00	65527.62	0.01	84851.38	0.00	18299.22	0.01	191.72	0.01	419734.30	0.01	4842.31	0.01	11915.57	0.00	12180.84	
RSD			0.44	7.33	0.00	5.93	0.47	2.79	0.00	6.55	0.23	7.86	0.22	7.00	0.28	8.63	0.22	8.67	0.06	5.80	
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	0.00	0.00	

样品信息			阿司匹林		双氯酚酸钠		吗啡美辛		布洛芬		
数据文件	定量方法	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	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	252162.00	3.10	1021499.00	3.12	93923.35	3.22	45441.30	
2	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	254019.00	3.10	1059658.00	3.12	83732.48	3.22	41417.78	
3	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	276482.10	3.10	1116108.00	3.12	84384.81	3.24	46369.19	
4	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	271755.70	3.09	1067928.00	3.12	80860.00	3.22	44450.17	
5	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	284327.60	3.10	941067.30	3.11	96813.89	3.22	42113.14	
6	抗风湿负离子 10ppb重...	抗风湿 负离子	0.65	286760.80	3.09	1079617.00	3.11	84850.11	3.22	47799.18	
Min			0.65	252162.00	3.09	941067.30	3.11	80860.00	3.22	41417.78	
Max			0.65	286760.80	3.10	1116108.00	3.12	96813.89	3.24	47799.18	
AVG			0.65	270917.90	3.10	1047646.00	3.12	87427.44	3.23	44598.46	
SD			0.00	14831.27	0.01	60510.30	0.01	6371.60	0.00	2466.01	
RSD			0.00	5.47	0.18	5.78	0.18	7.29	0.14	5.53	
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

图 4 10ng/mL 抗风湿类化合物的精密度

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 测定保健药品、食品中抗风湿类物质分析方法。本文还考察了该方法的线性、重复性、灵敏度等，结果显示：抗风湿类物质在 1-100ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；定量限在 0.02-4.98ng/mL 之间。检出限在 0.01-1.49ng/mL 之间。连续进样 6 次各物质 RSD 均在 10%以内，精密度符合标准要求。因此，本方法可以对保健药品、食品中抗风湿类物质实现快速、准确、灵敏的实现定量测定。