

Liquid Chromatography/
Mass Spectrometry

作者:

LC/MS Applications Team

PerkinElmer, Inc.

Waltham, MA

使用LC/TOF MS分析
中药制剂提取液中的
5型磷酸二酯酶抑制剂

简介

膳食补充剂在成年人群中的使用越来越普遍。伴随其使用量的增加,涉及膳食补充剂掺假欺诈厂家的数量也随之上升。该类膳食补充剂通常标示为“中草药”或“植物药”,却非法添加了合成处方药

或由于安全问题而撤出市场的化学类似物,或这些药物的组合。这些化合物添加到补充剂中通常可以产生生物效应或增强天然产物功效的作用。在这方面很有代表性的例子是添加5型磷酸二酯酶(PDE-5)抑制剂药物及其结构类似物至中药补充剂中治疗勃起功能障碍。未申报的处方药和未经检验或禁用的化合物的存在可以直接或者通过与其他药物的相互作用而对其使用者产生不利的健康影响。为确保食用膳食补充剂的人群的安全性,建立检测这些化合物的方法是非常重要的。为此,美国药典委员会正在拟订一个总章2251,它概述了检测膳食补充剂掺假的分析方法。本文使用液相色谱-飞行时间质谱(LC/TOF MS)来检测中药基质中的3种PDE-5抑制剂,该方法可作为定性鉴别的筛查方法之一。

实验条件

所使用的药物标准品他达拉非, 西地那非, 伐地那非购置于Cerilliant® (图1)。中药(有机种植的干薄荷叶)从当地获得并碾碎。按表1中所示流程制备草药基质加标样品, LC/TOF MS条件列于表2-4中。

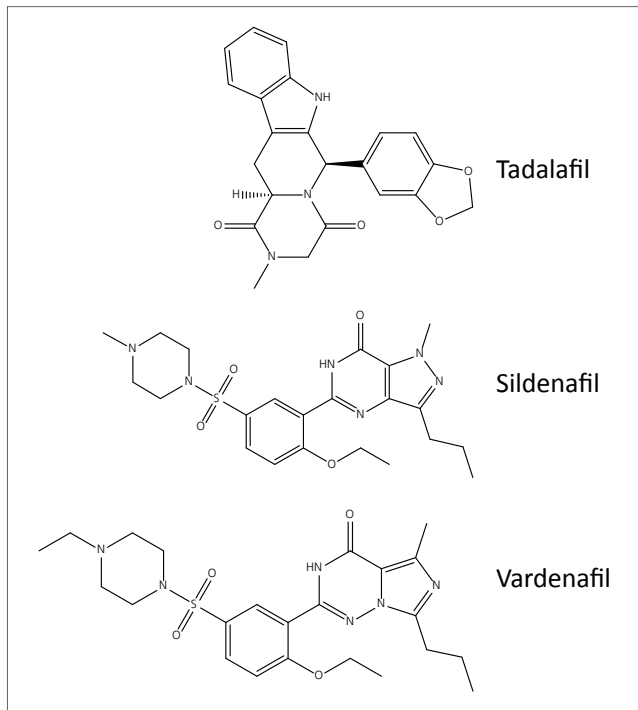


图1. 三种PDE-5抑制剂的化学式

表1. 样品制备过程

制备过程	
1.	10mg干薄荷叶碾碎后分别称取50ug, 25ug及12.5ug样品
2.	使用1mg/mL的他达拉非, 西地那非, 伐地那非混标储备液制备成加标样品
3.	在室温下过夜抽干, 使用1mL甲醇在室温下提取15min, 提取液离心5min (1500*g)
4.	使用甲醇稀释10倍, 取2uL样品用LC/TOF MS进行分析。

表2. FX-15 UHPLC液相色谱条件

FX-15 UHPLC液相色谱条件	
流动相	溶剂A: 0.1%甲酸水溶液; B: 0.1%甲酸乙腈溶液
洗针液	80%乙腈/20%水溶液
进样量	2uL, 连进3针
流速	0.4mL/min
柱温	45°C
色谱柱	PerkinElmer Brownlee™ SPP RP-Amide Column 2.7 μm, 2.1 x 100mm, p/n N9308501

表3. 液相色谱分离条件

时间 (min.)	% B
0	5
10	95
11	95
11.1	5
5% B平衡3min	

表4. 质谱条件

AxION® 2 TOF MS参数
PerkinElmer AxION TOF质谱
Chromera®及TOFMS Driver软件
正离子采集模式
4张谱图/秒
质量数设置范围: 70 -2000m/z
干燥气: 12 L/min, 350°C
校正化合物: 三聚氰胺及利血平 (127.0727, 609.2807), 6ug/mL, 溶解在0.1%甲酸甲醇溶液中
雾化气: 80psi
毛细管出口电压: 80V, 锥孔电压: 25V
EIC (提取离子流图) 窗口: ± 0.03 u

结果

图2中展示了L1混标样品和空白样品的提取离子色谱图 (EIC) 及基峰离子色谱 (BIC, m/z130-600) 的叠加图。这些结果显示出了良好的色谱分离, 并且空白样品中没有检测到任何所检测标品的分析信号。所有样品的连续三针进样结果总结在表5中。所有分析物的平均信噪比 (S/N) 为6537 (1144-19215)。峰面积的平均精密性CV为2.1%(0.8-4.2%)。未添加的空白样品中没有检测到这三个分析物。

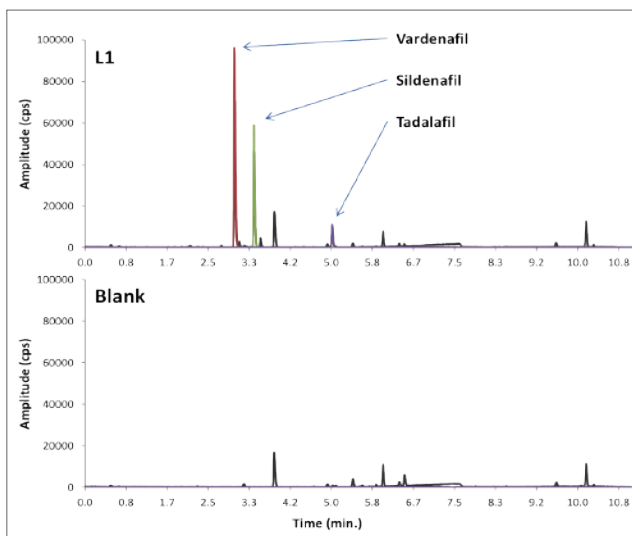


图2. L1混标样品及空白样品的EIC及BIC叠加图 (L1混标样品中各标准品含50ug)

表5. 检测结果 (n=3)

分析物	样品	平均峰面积	平均S/N	峰面积 %CV
他达拉非	L1	3.70E+07	4118	3.7
	L2	1.80E+07	2439	4.2
	L3	1.20E+07	1144	2.0
	空白样品	nd	nd	nd
西地那非	L1	2.00E+08	19215	1.3
	L2	9.60E+07	9863	1.1
	L3	5.70E+07	6253	3.6
	空白样品	nd	nd	nd
伐地那非	L1	1.90E+08	7679	0.8
	L2	1.10E+08	4551	1.4
	L3	7.20E+07	3573	1.0
	空白样品	nd	nd	nd

结论

上数据展示了使用LC/TOF MS检测PDE-5抑制剂的可行性方法。样品制备过程简单，液相色谱分离使得中药基质中的添加物都得到了很好的分离。综上所述，使用LC/TOF MS方法进行膳食补充剂中PDE-5抑制剂掺假的筛查检测具有极大的潜力。

参考文献

1. Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT, 2013 JAMA Internal Medicine 173(5):355-361.
2. Vaclavik L, Krynetsky AJ, Rader JJ, 2014 Analytical and Bioanalytical Chemistry 406:6767-6790, Mass spectrometric analysis of pharmaceutical adulterants in products labeled as botanical dietary supplements or herbal remedies: a review.
3. Couzin-Frankel J, 2015 Science 349(6250):781-783, The Supplement Sleuth.
4. U.S. Food and Drug Administration, List of Tainted Dietary Supplements, http://www.accessdata.fda.gov/scripts/sda/sdNavigation.cfm?sd=tainted_supplements_cder, Accessed 9/1/2015.
5. U.S Pharmacopeial Convention, New Proposed USP General Chapter 2251 Adulteration of Dietary Supplements with Drugs and Drug Analogs, 2015 Pharmacopeial Forum Online 41(3), http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/pressroom/usp-gen-ch-2251-proposal.pdf.

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司
 地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号
 邮编：201203
 电话：021-60645888
 传真：021-60645999
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。