

LC/MS 和 LC-MS/MS 定性检测保健品中非法添加的伐地那非

张建丽, 王小兵

(国家体育总局反兴奋剂中心, 北京 100029)

摘要:采用 LC/MS 和 LC-MS/MS 法同时检测保健品中非法添加的伐地那非。用乙酸乙酯提取, 以 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲酸铵 (pH 3.5) 和乙腈为流动相, 分别用 Agilent Zorbax SB C₁₈ (150 mm × 2.1 mm × 5 μm) 和 Agilent Zorbax SB C₁₈ (100 mm × 2.1 mm × 3.5 μm) 色谱柱分离, 采用电喷雾离子源, 正离子扫描方式进行分析检测。该方法简便、快捷、可靠, 适用于保健品中非法添加伐地那非的常规检测。

关键词:保健品; 伐地那非; LC/MS; LC-MS/MS

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2009)04-0219-04

Detection of Vardenafil in Health Products by LC/MS and LC-MS/MS

ZHANG Jian-li, WANG Xiao-bing

(China Anti-Doping Agency, The State Sport General Administration, Beijing 100029, China)

Abstract: Vardenafil in health products was detected simultaneously by LC/MS and LC-MS/MS. Ethyl acetate was used as the extraction solution. Mobile phase was included $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium formate (pH 3.5) and acetonitrile. Agilent Zorbax SB C₁₈ (150 mm × 2.1 mm × 5 μm) and Agilent Zorbax SB C₁₈ (100 mm × 2.1 mm × 3.5 μm) columns were used to separate the ingredients, and mass data were acquired with the ESI(+) mode. The method is simple, rapid and specific. It is suitable for routine detection of vardenafil in health product.

Key words: health products; vardenafil; LC/MS; LC-MS/MS

保健品中非法添加化学药品已经越来越受到从事分析工作的研究人员的重视。保健品是有益于人类身体健康的, 但目前由于保健品的价格通常远远高于普通治疗用的化学药品, 所以已经成为不法分子谋取暴利的手段。通过向中成药保健品中添加有治疗作用的化学药品来提高其“保健作用”, 吸引了众多消费者上当受骗。长期

服用含有化学药品的保健品会产生很多不良后果, 因此, 对保健品中非法添加化学药品的控制已经刻不容缓。

伐地那非(商品名为“艾力达”)作为治疗勃起功能障碍症(ED)的新药物, 是德国拜耳(Bayer)研制开发的^[1], 具有用量小、见效快等特点, 现已经发现被非法添加到补肾类保健品中。伐

地那非的主要不良反应有颜面潮红,头痛,消化不良,恶心,眩晕和鼻炎等症状。有文献^[2]用高效液相色谱法测定保健品中伐地那非的含量,但采用的是 DAD 检测器,而紫外检测器的定性能力较差,不能准确识别结构类似的化合物。本试验采用 LC/MS 和 LC-MS/MS 同时对保健品中非法添加的伐地那非进行定性检测,探索快速、可靠的检测方法。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

1200HPLC-6130MS 和 1200HPLC-6410MS/MS;美国 Agilent 公司产品,均配有电喷雾离子源;R200D 型十万分之一电子天平;德国 Sartorius 公司产品;PM200 型电子天平;瑞士 Mettler 公司产品;LD5-10B 低速离心机;北京医用离心机厂产品;超纯水机;美国 Millipore 公司产品;振荡器;德国 GmbH & Co. KG 公司产品;涡旋混合器;美国 Barnstead 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

盐酸伐地那非对照品:中国药品生物制品检定所提供;甲酸铵(色谱纯);Sigma-Aldrich 公司产品;乙酸乙酯、乙腈和甲酸(色谱纯);迪马公司产品;检测样品为送检样品。

1.3 试验条件

1.3.1 色谱条件 LC/MS 条件:色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(150 mm × 2.1 mm × 5 μm);流动相为 10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵(pH 3.5)和乙腈;洗脱梯度为 0 min 时乙腈 25%,10 min 时乙腈 75%;流速 0.4 mL · min⁻¹;进样量 10 μL;柱温 40 °C。

LC-MS/MS 条件:色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(100 mm × 2.1 mm × 3.5 μm);流动相为 10 mmol · L⁻¹ 的甲酸铵(pH 3.5)和乙腈;洗脱梯度为 0 min 时乙腈 25%,10 min 时乙腈 75%;流速 0.3 mL · min⁻¹;进样量 10 μL;柱温 40 °C。

1.3.2 质谱条件 LC/MS 条件:电喷雾离子源(ESI),正离子电离,离子源温度 300 °C,干燥气流速 9 L · min⁻¹,雾化气压力 2.76 × 10² kPa,扫描方式为全扫描,碎裂电压 350 V。

LC-MS/MS 条件:电喷雾离子源(ESI),正离子电离,离子源温度 300 °C,干燥气流速 10 L · min⁻¹,雾化气压力 2.41 × 10² kPa,扫描方

式为子离子扫描,碎裂电压 150 V,碰撞能量 35 eV。

1.4 对照品溶液的制备

精密称取 10 mg 盐酸伐地那非对照品置于 10 mL 量瓶中,加入 5 mL 甲醇,振荡溶解,再用甲醇定容稀释至刻度,混匀,即得盐酸伐地那非对照品储备液(1 g · L⁻¹)。量取 1 mL 对照品储备液置于 50 mL 量瓶中,用初始比例流动相 [V(10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵(pH 3.5)) : V(乙腈) = 75 : 25] 稀释,并定容至刻度,作为对照品工作液。

1.5 样品的前处理

称取约 0.2 g 粉末状待测样品,加 4 mL 乙酸乙酯,往复振荡 15 min,离心后取 1 mL 上清液于另一干净试管中,在 65 °C 下用氮气流吹干,再用 1 mL 初始比例流动相溶解,经 0.2 μm 针头滤器,过滤后进样。

2 结果与讨论

2.1 样品检测结果

2.1.1 LC/MS 的检测结果

对 13 份送检样品(均为胶囊或冲剂类剂型)进行了检测。通过比较样品与对照品的色谱图(图 1)和质谱图(图 2),判断其中有 1 份样品中含有伐地那非。伐地那非对照品在 1.3.1 的 LC/MS 条件下的保留时间为 5.50 min,特征离子为 m/z 489、312、284 和 151。样品在同样色谱条件下该保留时间处的质谱碎片及其特征离子相对丰度与对照品一致,从而证明该样品中含有伐地那非。

2.1.2 LC-MS/MS 的检测结果

对 2.1.1 中筛选出的阳性样品用 LC-MS/MS 进行确证。样品与对照品的色谱图和二级质谱图分别示于图 3 和图 4。伐地那非对照品在 1.3.1 的 LC-MS/MS 条件下的保留时间为 4.06 min,对准分子离子 $[M+1]^+$ m/z 489 进行了二级质谱扫描,其子离子为 m/z 312 和 m/z 151。样品在该保留时间处的二级质谱特征离子及其相对丰度均与对照品一致,再一次证明样品中含有伐地那非,验证了 LC/MS 的检测结果。

2.2 质谱裂解方式

根据 LC/MS 和 LC-MS/MS 的质谱特征,推断伐地那非的质谱裂解方式,示于图 5。

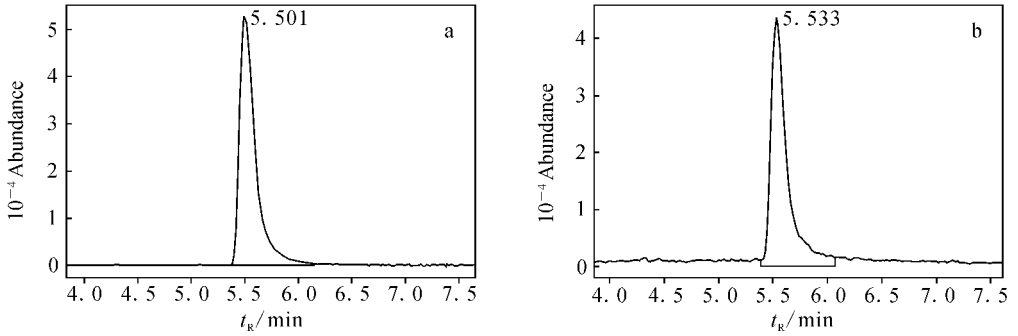


图 1 伐地那非对照品(a)和阳性样品(b)的 LC/MS 总离子流色谱图

Fig. 1 TIC of vardenafil standard(a) and a positive sample(b) for LC/MS

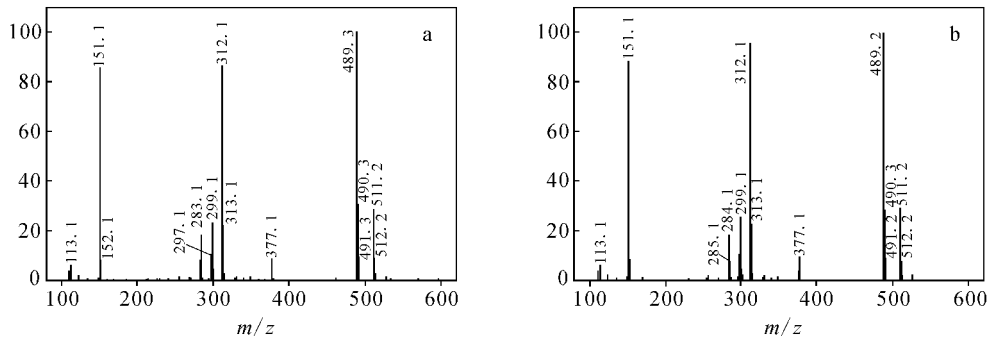


图 2 伐地那非对照品(a)和阳性样品(b)的 LC/MS 质谱图

Fig. 2 Mass spectra of vardenafil standard(a) and a positive sample(b) for LC/MS

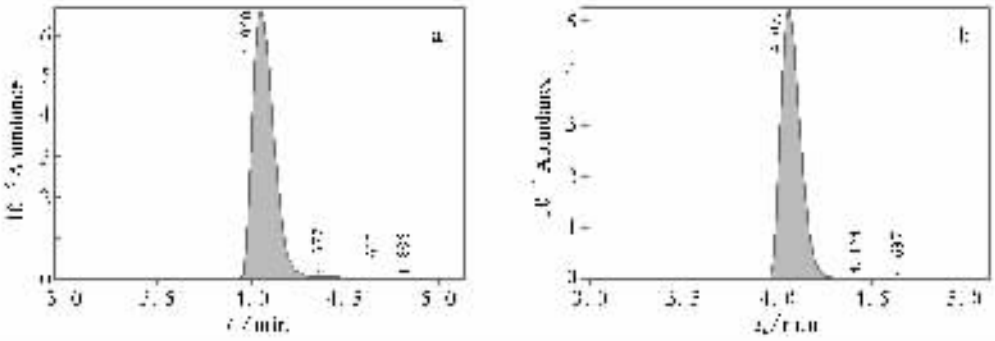


图 3 伐地那非对照品(a)和阳性样品(b)的 LC-MS/MS 总离子流色谱图

Fig. 3 TIC of vardenafil standard(a) and a positive sample(b) for LC-MS/MS

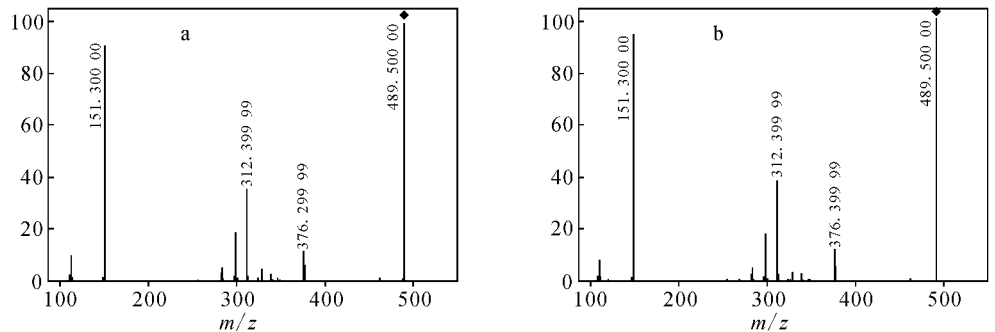


图 4 伐地那非对照品(a)和阳性样品(b)的 LC-MS/MS 质谱图

Fig. 4 Mass spectra of vardenafil standard(a) and a positive sample(b) for LC-MS/MS

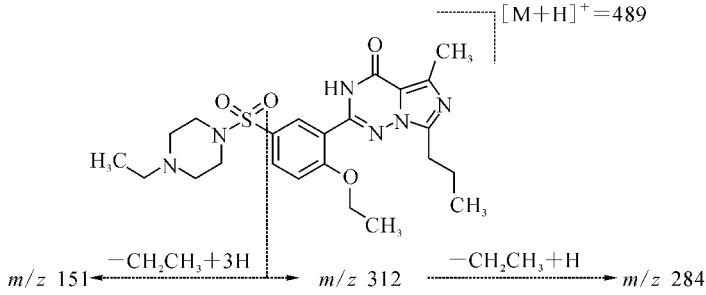


图 5 伐地那非的质谱裂解方式

Fig. 5 Proposed fragmentation pathways of vardenafil

3 结论

采用 LC/MS 和 LC-MS/MS 两种方法同时定性检测了保健品中非法添加的伐地那非。该方法专属性强、前处理简单、准确可靠,适用于定性检测保健品中非法添加伐地那非的常规检测。

参考文献:

- [1] 金 杰, 郭应禄. 伐地那非的药效学和药代动力学[J]. 中华男科杂志, 2004, 10 (9): 711-716.
- [2] 沈志武, 唐宏兵, 李 群, 等. 高效液相色谱法测定保健食品中他达拉非、西地那非、伐地那非违禁药物含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2008, 44 (6): 540-542.

《质谱学报》投稿须知

●文题简明(20 个汉字以内);中英文摘要须包括题目、作者姓名、作者单位、城市名、省名和邮政编码,并写成叙述性文摘(含有研究目的、方法、结果和结论);关键词为 3~5 个。

●文稿应采用阿拉伯数字进行分级编号,最多可用 4 级。引言不编号,也不写“引言”字样。

●基金项目名称及项目编号、作者简介(第 1 作者姓名(出生年~)、性别(民族,汉族省略)、籍贯、职称、学位、从事专业)需在首页以页下注形式写明。

●文稿中外文字母、符号须分清大、小写;上下角的字母、数码和符号等位置的高低应区别明显;易混淆的外文字母、符号在第 1 次出现时用铅笔(电子版用红色)注明文种。

●文稿中的数据不能同时以表和图表述,只能选择其一;采用法定计量单位,物理量用法定量符号表示,不得用废弃的物理量,例如压强的单位用帕斯卡(Pa),不要用 bar 或者 torr 表示;在图和表中用量与单位的比值表示数值,即量与单位之间用除号“/”相隔,如 t/min;正文中插图下要写明中英文图号、图题和图注。

●参考文献须按《文后参考文献著录规则》著录。

●欢迎登录网站投稿,网址 <http://www.jcmss.com.cn>。

●来稿须附作者单位(学术委员会或业务部门)对文稿内容的学术性、真实性,作者署名是否准确以及内容有无保密问题的审查证明和版权转让协议书,以上两项均可在网站的下中心下载。

●收稿后本刊立即向作者发送收稿通知单;若待审处理时间超过 3 个月不予回复,作者可改投它刊;退修稿逾期半年不修回者,本刊即作自动退稿处理;录用稿一经排版,作者要求退稿需部分补偿编辑部经济损失。

●来稿一经刊登,本刊将按规定酌致稿酬,并赠作者当期《质谱学报》2 册。本刊已纳入重庆维普、《中国学术期刊(光盘版)》、《方正 Apabi 电子期刊》、《中文科技期刊数据库》、《CEPS 中文电子期刊服务》、《书生数字期刊》和入网“万方数据——数字化期刊群”等数据库,本刊所付稿酬包含上述几项报酬。

●请勿一稿两投。