

解析电喷雾质谱法对感冒药中 对乙酰氨基酚的快速检测

邵康¹, 李卫祥², 尹伊颜², 邢馨洱³, 那娜^{2*}

(1. 国家癌症中心/中国医学科学院 北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021; 2. 北京师范大学 化学学院, 北京 100875; 3. 中国地质大学(武汉) 材料化学学院, 湖北 武汉 430074)

摘要: 基于常压质谱的直接、快速、无需样品预处理检测的优势, 该文拓展了其在药物质检领域的应用。采用自行搭建的解析电喷雾(DESI)装置, 对常用感冒药中对乙酰氨基酚片进行快速质谱检测, 无需样品预处理, 直接获得药片中有效成分的分子结构信息。为克服基质差异对定量分析的影响, 以淀粉为基质构建对乙酰氨基酚模拟药片, 在优化的基础上进行定量实验。针对实际药片中高浓度对乙酰氨基酚检测的需要, 研究了其在较高浓度范围的定量关系, 结果显示, 方法对0.35~4.52 mg/mm²范围内的对乙酰氨基酚具有较好的线性关系($r^2=0.9982$), 定量下限为1.903 ng/mm², 检出限为0.237 ng/mm², 加标回收率为102%~114%。对3种市售的对乙酰氨基酚片进行直接检测, 与厂家提供的标准数据相比, 相对标准偏差(RSD)为7.2%~12%, 表明方法具有较好准确度。该工作很好地证明了DESI-MS在药品快检中的优势, 从而为药品质检提供了潜在的高效、可靠的检测手段。

关键词: 解析电喷雾电离质谱(DESI-MS); 感冒药片; 对乙酰氨基酚; 药品快检

中图分类号: O657.63; TQ460.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2020)01-0152-05

Rapid Detection of Paracetamol in Cold Tablets by Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry

SHAO Kang¹, LI Wei-xiang², YIN Yi-yan², XING Xin-er³, NA Na^{2*}

(1. National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China; 2. College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 3. Faculty of Materials Science and Chemistry, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: Based on the advantages of ambient mass spectrometry in the fast and direct detection on samples without any pre-treatment, an ambient mass spectrometric method was developed for the rapid and direct detection of drug tablets. In the experiment, a home-made desorption electrospray ionization (DESI) device was fabricated for the fast mass spectrometry (MS) detection of commercial paracetamol tablets for the cold, achieving the molecule structural information of tablets without any pre-treatment. In the quantitative analysis of tablets by DESI-MS, the tablets of standard paracetamol were made starch used as the main matrix to avoid the effect of matrix on ionizations. Under the optimized conditions, this method was applied in the quantitative detection of paracetamol in real tablets. Results showed that there was a good linear relationship for paracetamol in the range of 0.35 - 4.52 mg/mm² with a correlation coefficient (r^2) of 0.9982. The limit of quantitation and limit of detection were 1.903 ng/mm² and 0.237 ng/mm², respectively. The spiked recoveries for paracetamol were in the range of 102% - 114%. The method was used for the direct detection of paracetamol in three commercial paracetamol tablets. Compared with the data provided by the pharmaceutical manufacturers, the relative standard deviations (RSD) of 7.2% - 12% were obtained. The present work confirmed that, with the advantages of drugs rapid detection, DESI-MS provided an efficient and effective tool for quality control of drugs.

收稿日期: 2019-09-09; 修回日期: 2019-10-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21675015, 21874012); 中国癌症基金会北京希望马拉松专项基金

* 通讯作者: 那娜, 博士, 教授, 研究方向: 光谱、质谱分析检测新方法, E-mail: nana@bnu.edu.cn

Key words: desorption electrospray ionization mass spectrometry (DESI-MS); cold tablets; paracetamol; rapid detection of drugs

抗感冒药种类繁多,但药物成分不尽相同,大多以对乙酰氨基酚、氯苯那敏、右美沙芬、伪麻黄碱、盐酸金刚烷胺等为主要成分,在解热镇痛、抗组胺作用、镇咳祛痰、收缩血管、抗病毒等方面发挥着重要作用。此外,还会添加其他药物,如咖啡因具有中枢兴奋作用,与对乙酰氨基酚合用,可以用于解热镇痛,起到联合治疗感冒的效果,但服用过多会产生恶心、肌肉震颤、甚至惊厥等症状。然而,市场上的感冒药,包括西药、中成药在内,品牌众多、厂家各异,药中各成分含量均有一定差异,导致药效各不相同。在临床治疗中,一旦用药不当,极易引发不良反应,严重时可危及患者生命安全^[1]。因而,需要严格控制和监测药品中有效成分的含量。目前,常规检测方法主要借助液相色谱分离技术^[2-4],但该方法的样品前处理复杂,耗时费力,不利于生产过程中大批量药品的快速质量监测和评价。因而,建立对药片中有效成分含量的快速、准确的分析方法,将为药物质检部门提供重要参考。

近年来,解吸电喷雾电离技术(Desorption electrospray ionization, DESI)的建立开启了常压质谱技术的新时代^[5-8],为无需样品预处理,直接、快速获取分子结构信息提供了有效途径^[9-12]。DESI技术兼有电喷雾离子化技术(Electrospray ionization, ESI)和解析电离技术(Desorption ionization, DI)的特点,通过向样品直接喷射由ESI产生的带电雾滴而实现样品离子化,并解吸附喷射至质谱检测器进行检测^[13]。该技术在药品快速检测^[14]、爆炸物和化学战剂检测^[15]、食品安全检测^[16]、生产过程控制和反应监测^[17]、体内代谢及生物成像分析^[18-19]等众多领域中具有广阔的应用研究^[2,20-21]。

本文基于DESI对药品直接快速分析的优势,采用DESI直接对感冒药中的对乙酰氨基酚主要成分进行分析。并在验证了该方法对对乙酰氨基酚的定性、定量分析可行性的同时,对多种不同厂家、不同种类感冒药进行了快速对比分析,进一步展示了其在药品快速检测中的优势。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

对乙酰氨基酚(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);甲醇、甲酸(色谱纯,上海赛默飞世尔科技有限公司);淀粉基质(分析纯,北京化工厂);实际样品:对乙酰氨基酚片分别购自北京曙光药业有限责任公司、吉林省福尔泰药业有限公司、吉林吉春制药股份有限公司。石英毛细管(河北永年县锐洋器件有限公司),检测平台的样品载玻片为玻璃载玻片(7.6 cm × 2.5 cm,北京化工厂),高纯氮气(北京千禧京城气体销售中心),Pump 11 Pico Plus微量注射泵(Harvard,美国),HB-Z303-1AC高压直流电源(天津淦泽工贸有限公司),分析天平(北京赛多利斯仪器公司),自动平台运行控制系统(北京微纳光科自动化设备有限公司),红外压片机(天津市拓普仪器有限公司)。实验用水均由Milli-Q超纯水净化系统制备。

1.2 实验方法

1.2.1 DESI装置的搭建 实验所用的DESI离子源基于文献进行自行搭建,主要分为气路系统和液路系统两部分,两部分通过三通设计成内、外套管系统^[22]。如图1所示,液路系统为一路由微量注射泵控制流速的溶剂流(3~15 μL/min),在一定压力下,通过较细毛细管(内径:1.0 mm,外径:1.3 mm)进行输送。该溶剂为甲醇-水混合溶剂(体积比为1:1,含0.1%甲酸),并在液路上加上可控的高压直流电。为了提供较为稳定的高速壳流气体,气路系统借助三通,在较细液流毛细管外层加装一个较粗的毛细管(内径:250 μm,外径:365 μm),让氮气以350 m/s流速通过。在高速气流作用下,溶剂流在套层毛细管出

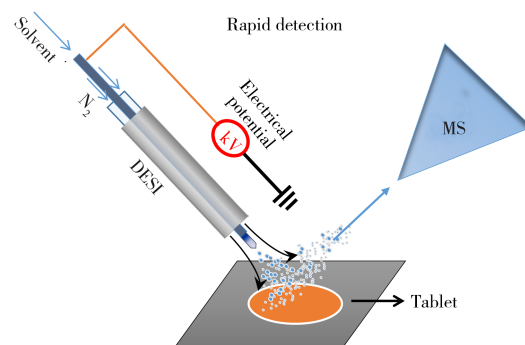


图1 DES-MS装置的示意图

Fig. 1 Schematic view of the experimental setup of DESI-MS

口处形成雾滴, 并由于高压电场的作用, 雾滴带上电荷。实验中, DESI 喷口以 50° 左右的入射角对着药片直接喷射, 在带电雾滴的冲击下, 表面上的固体药片样品被解吸附同时离子化, 进而进入质谱检测器进行检测。

1.2.2 仪器条件 质谱实验借助 Thermo LTQ 型线性离子阱质谱仪(Thermo Fisher Scientific, San José, CA)开展, 由 Xcalibur 2.0 软件对所得数据进行处理。在正离子模式下, 设置仪器的最大离子采集时间为 10 ms。实验所用的主要仪器参数如下: 质荷比 m/z 范围为 $50 \sim 300$, 毛细管温度为 250°C , 毛细管电压为 15 V。质谱图是持续采集信号得到的平均信号谱图, 并已扣除背景干扰。为了进一步确认目标信号峰的存在, 进行了碰撞诱导解离(Collision-induced dissociation, CID)实验, 二级质谱母离子的选择窗口(Isolation window)为 $1.0(m/z)$, 碰撞能量为 20 eV。

1.2.3 标准样品的制备 为了模仿药片基质, 尽量减少基质差异带来的影响, 将淀粉与对乙酰氨基酚按不同比例混合(总重量为 600 mg), 并在玛瑙研钵中研磨均匀, 随后利用红外压片机制片, 压力为 50 kN, 保持 1 min。借助双面胶将其固定于测试平台上, 利用 DESI 进行测试。在实际样品测试中, 对购买的药片直接剥去外层糖衣, 暴露内部药片成分, 借助双面胶将其固定于测试平台上。

2 结果与讨论

2.1 质谱信号的获取分析

将标准样品压制的淀粉片($0.75 \text{ mg}/\text{mm}^2$)置于检测平台进行 DESI-MS 测试, 如图 2A 所示, 可观察到很明显的对乙酰氨基酚的分子离子峰 m/z 152。进一步借助 CID 实验对该分子离子峰的结构进行证明, 如图 2B 所示, 可获得 m/z 110 的较强碎片信号, 该碎片由母离子 m/z 152 失去乙酰基($\text{CH}_3\text{CO}-$)而获得, 与文献报道的碎裂过程一致^[2,23]。因而, 利用 DESI-MS 技术可以对药片中的对乙酰氨基酚进行直接解吸附和离子化检测, 实现可靠的定性分析。

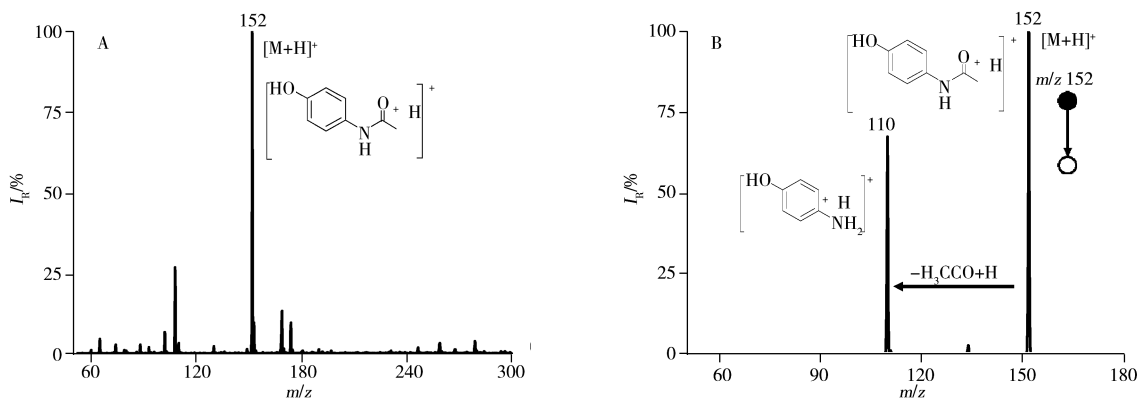


图 2 对乙酰氨基酚标准品的质谱图

Fig. 2 MS spectra of paracetamol standard sample

A. mass spectrum of paracetamol by DESI-MS(DES-MS的对乙酰氨基酚质谱图); B. CID spectra of m/z 152(m/z 152的CID二次质谱图)

2.2 工作条件的优化

为了获得更好的质谱信号, 以对实际药品进行定性、定量分析, 本实验以对乙酰氨基酚纯品的检测为例, 对毛细管温度与高压电压进行优化。如图 3A 所示, 在 $50^\circ\text{C} \sim 300^\circ\text{C}$ 范围内, 随着毛细管温度的升高, 对乙酰氨基酚的分子离子峰 m/z 152 的信号逐渐增高, 并在 250°C 时达到最高值, 随后信号无明显上升。因而选择 250°C 为最佳毛细管温度。电喷雾的高压电压优化实验显示, 在 $1 \sim 5 \text{ kV}$ 范围内, 所获得的离子信号随高压电压的增大而逐渐增大, 并在 5 kV 时达到最高值, 而在 6 kV 时信号增高不明显(如图 3B 所示)。因而, 实验选择 5 kV 为最佳电压。此外, DESI 检测受基质影响较大, 在面积相等的淀粉片、二氧化硅片和滤纸表面进行 DESI 检测时, 发现对乙酰氨基酚样品的质谱总离子流图差异较大(图 3C)。考虑到多数感冒药片的主要辅料为淀粉, 后续选择淀粉作为模拟检测基质。

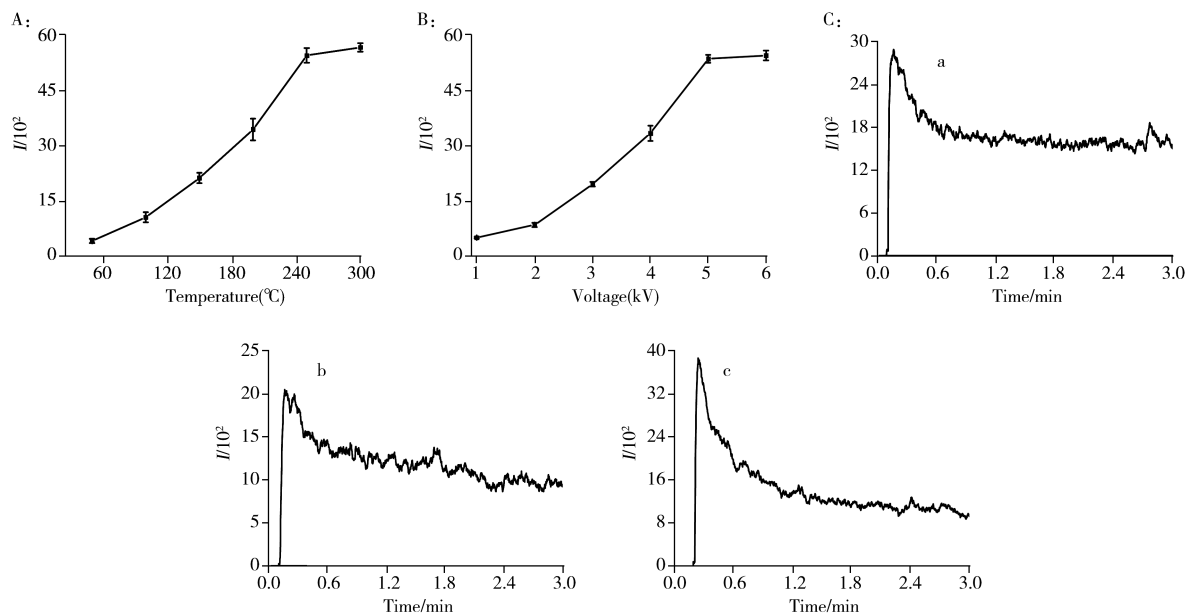


图3 实验条件的优化

Fig. 3 Optimization of different experimental conditions

A. effect of temperature of MS capillary inlet; B. effect of voltage used for DESI; C. effect of matrix for detection, a. starch tablet, b. SiO₂ tablet, c. filter paper; sample: 20 μ L of 20 mg/mL paracetamol in ethanol

2.3 定量分析

为了进一步对实际样品进行初步定量分析, 本实验研究了定量检测范围和检出限。将不同质量的对乙酰氨基酚纯品均匀掺入淀粉基质中(总质量 600 mg), 并用红外压片机压制成半径为 0.65 cm 的样品片。首先平行制备了 3 个对乙酰氨基酚标准品的药片(对乙酰氨基酚含量为 0.75 mg/mm²), 对 DESI-MS 检测的重复性进行分析, 结果显示对乙酰氨基酚分子离子峰的信号相对标准偏差(RSD, $n=3$)为 5.7%, 表明该方法具有较好的精密度。进而, 利用 DESI 直接对样品片进行逐一测试。经过实际测试, 获得 DESI 取样点的半径为 150 μ m, 这与文献报道相符^[24]。针对药片实际有效成分的含量信息和实际检测需求, 对对乙酰氨基酚进行线性考察, 结果显示, 在 0.35 ~ 4.52 mg/mm² 的较高浓度范围得到了较好的定量关系($I = 3157.34C^{1.46}$, $r^2 = 0.9982$), 其中 I 代表质谱信号强度, C 代表药片表面每平方毫米中对乙酰氨基酚的含量。检出限($S/N=3$)达 0.237 ng/mm², 定量下限($S/N=10$)为 1.903 ng/mm²。因而, 该方法可以用于药片中对乙酰氨基酚有效成分的初步定量分析。进一步采用标准加入法研究该方法的准确性, 测得其回收率为 102% ~ 114% (见表 1)。

表1 药片中加标对乙酰氨基酚的回收率

Table 1 Recoveries of paracetamol in spiked tablet samples

Sample	Background (mg/mm ²)	Added (mg/mm ²)	Detected (mg/mm ²)	Recovery (%)
1	3.76	0.50	0.55	110
2	3.76	0.50	0.57	114
3	3.76	0.50	0.53	106
4	3.90	0.50	0.53	106
5	3.90	0.50	0.51	102
6	3.96	0.50	0.56	112

2.4 实际样品的分析

选择了 3 种市售的来自不同厂家的对乙酰氨基酚片(主要辅料为淀粉)进行实际样品的检测。在测试中, 首先剥离药片外层的包裹层, 直接裸露内部药品部分, 置于 DESI 喷口前端, 让高速气流携带下的带电雾滴直接喷至药品表面, 使得药品被解吸附的同时离子化, 进而进入质谱检测器直接检测。如图 4 所示, 对实际药片的检测中, 获得了与对乙酰氨基酚标准样品较为一致的质谱图以及较高的对乙酰氨基酚的分子离子峰 m/z 152。基于所获得离子信号的强度, 借助标准曲线, 可推算出各个实际样品中对乙酰氨基酚有效成分的含量信息。将所测得对乙酰氨基酚含量与商家提供的含量信息相比, 该方法检测结果的 RSD 为 7.2% ~ 12% (见表 2), 基本符合 DESI 对样品进行初步定量分析的要求。

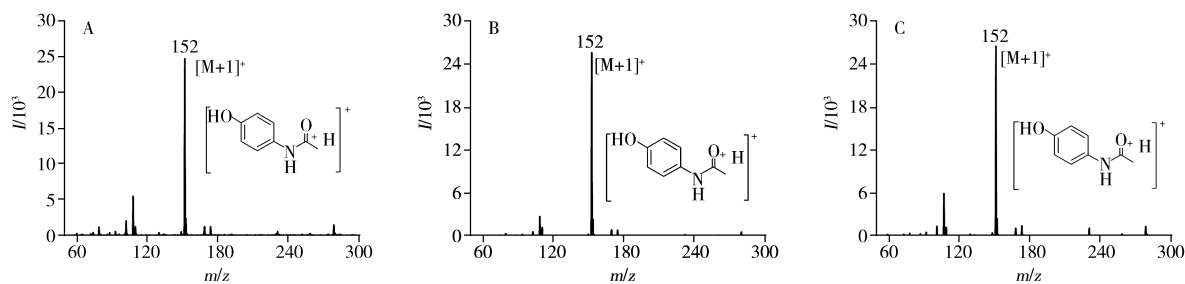


图 4 DESI-MS 检测 3 种市售对乙酰氨基酚片的质谱图

Fig. 4 MS spectra of three paracetamol tablets from the market

A. Beijing Shuguang Pharmaceutical Co., Ltd. (北京曙光药业有限责任公司); B. Jilin Fuertai Pharmaceutical Co., Ltd. (吉林省福尔泰药业有限公司); C. Jilin Jichun Pharmaceutical Co., Ltd. (吉林吉春制药股份有限公司)

3 结论

本工作借助 DESI-MS 对表面样品直接解吸附、离子化的优势, 无需样品预处理, 对药品进行了直接定性、定量分析。基于对标准品的对照检测, 有效获得了药品中有效成分的含量信息。需提出的是, 该方法在定量分析中, 相对于传统质谱法或色谱法仍存在一定局限性, 因而目前该方法主要定位于药品的简单、快速、初筛分析, 该工作将为常压质谱技术在药物质检及分析领域的快速批量检测提供潜在有效手段。

表 2 市售对乙酰氨基酚片的检测结果 ($n=3$)Table 2 Detection results of three tablets of paracetamol from the market ($n=3$)

Sample	1	2	3
Labelled (mg/mm ²)	3.76	3.90	3.80
Estimated (mg/mm ²)	4.05	4.18	4.27
RSD (%)	7.7	7.2	12

参考文献:

- [1] Wang L. *Famous Doctor* (王雷. 名医), **2018**, (6): 139.
- [2] Feng S D, Tian Y, Zhang Z J, Zhang J J, Huang M H, Chen Y. *Arzneimittel - Forschung*, **2009**, 59(2): 86 - 95.
- [3] Hilton M J, Thomas K V. *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1015: 129 - 141.
- [4] Li H, Zhang C, Wang J, Jiang Y, Fawcett J P, Gu J K. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2010**, 51(3): 716 - 722.
- [5] Han F F, Yang Y H, Ouyang J, Na N. *Analyst*, **2015**, 140(3): 710 - 715.
- [6] Na N, Xia Y, Zhu Z L, Zhang X R, Cooks R G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48(11): 2017 - 2019.
- [7] Wang Y, Sun J H, Qiao J P, Ouyang J, Na N. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(24): 14095 - 14099.
- [8] Wang Y, Sun M, Qiao J P, Ouyang J, Na N. *Chem. Sci.*, **2018**, 9(3): 594 - 599.
- [9] Maria E M, Glenn A H, Prabha D, Facundo M F. *Chem. Rev.*, **2013**, 113(4): 2269 - 2308.
- [10] Cooks R G, Ouyang Z, Takats Z, Wiseman J M. *Science*, **2006**, 311(5767): 1566 - 1570.
- [11] Ifa D R, Wu C, Ouyang Z, Cooks R G. *Analyst*, **2010**, 135(4): 669 - 681.
- [12] He J Y, He J J, Luo Z G, Zaipaer A B L Z. *J. Instrum. Anal.* (贺玖明, 何菁菁, 罗志刚, 再帕尔·阿不力孜. 分析测试学报), **2012**, 31(9): 1151 - 1160.
- [13] Venter A, Nefliu M, Cooks R G. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **2008**, 27(4): 284 - 290.
- [14] Kauppila T J, Talaty N, Kuuranne T, Kotiaho T, Kostianen R, Cooks R G. *Analyst*, **2007**, 132(9): 868 - 875.
- [15] Cotte - Rodriguez I, Hernandez - Soto H, Chen H, Cooks R G. *Anal. Chem.*, **2008**, 80(5): 1512 - 1519.
- [16] Chen H W, Zhang X, Luo M B. *Chin. J. Anal. Chem.* (陈焕文, 张燮, 罗明标. 分析化学), **2006**, 34(4): 464 - 468.
- [17] Wleklinski M, Loren B P, Ferreira C R, Jaman Z, Avramova L, Sobreira T J P, Thompson D H, Cooks R G. *Chem. Sci.*, **2018**, 9(6): 1647 - 1653.
- [18] Wiseman J M, Ifa D R, Venter A, Cooks R G. *Nat. Protoc.*, **2008**, 3(3): 517 - 524.
- [19] Wu C, Dill A L, Eberlin L S, Cooks R G, Ifa D R. *Mass Spectrom. Rev.*, **2013**, 32(3): 218 - 243.
- [20] Chen H W, Talaty N N, Takats Z, Cooks R G. *Anal. Chem.*, **2005**, 77(21): 6915 - 6927.
- [21] Hu M Z, Wang C, Wang C H, Niu Z Y, Bai H, Ma Q. *J. Instrum. Anal.* (胡明珠, 王春, 王长海, 牛增元, 白桦, 马强. 分析测试学报), **2018**, 37(2): 127 - 138.
- [22] Zoltán T, Wiseman J M, Bogdan G, Graham C R. *Science*, **2004**, 306(5695): 471 - 473.
- [23] Liao Q F, Xie Z Y, Pan B Y, Zhu C C, Yao M C, Xu X J, Wan J Z. *Chromatographia*, **2008**, 67(9/10): 687 - 694.
- [24] Ferreira C R, Wu L, Vogt F G, Bornancini E R, Cooks R G. *Anal. Lett.*, **2014**, 47(1): 91 - 101.