

UHPLC-MS/MS 同时测定活血化瘀类中成药中非法添加的 30 个化学药物

张琳琳, 李正, 杨欢, 郑成, 唐登峰*, 陈碧莲* (浙江省食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 杭州 310052)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法同时测定活血化瘀类中成药中非法添加抗心绞痛、抗凝、抗血小板聚集以及抗炎镇痛等 30 个化学药物的方法。方法 样品采用 60% 甲醇超声提取, 以 0.1% 甲酸溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 经色谱柱 Phenomenex Kinetex C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 2.6 μm) 分离, 流速为 0.3 mL·min⁻¹, 柱温为 40 °C。质谱采用电喷雾电离, 正负离子同时扫描, 多反应监测的模式采集数据。结果 30 个化合物在考察的浓度范围内线性关系良好, 相关系数均>0.999, 各化合物的检出限为 1.3~238.4 ng·g⁻¹, 平均回收率为 63.7%~108.2%, RSD 为 1.0%~6.7%。采用该方法对 90 批舒筋活血片进行检测, 共有 3 批检出对乙酰氨基酚, 其余化合物均未检出。对乙酰氨基酚检出量为每片 0.16~0.93 μg, 远低于对应药品日服用的最小剂量, 排除人为故意添加。可能的原因是企业共线生产清洁验证不彻底引起的残留。结论 该方法快速准确, 灵敏度高, 高选择性, 可用于活血化瘀类中成药非法添加 30 个化合物的定性筛查和定量检测。

关键词: 活血化瘀; 舒筋活血片; 非法添加; 抗心绞痛药; 抗凝药; 抗血小板药; 抗炎镇痛药; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2024)03-0359-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222257

引用本文: 张琳琳, 李正, 杨欢, 等. UHPLC-MS/MS 同时测定活血化瘀类中成药中非法添加的 30 个化学药物[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(3): 359-365.

Simultaneous Determination of 30 Compounds Illegally Added in Chinese Patent Medicine for Promoting Blood Circulation and Removing Blood Stasis Medicine by UHPLC-MS/MS

ZHANG Linlin, LI Zheng, YANG Huan, ZHENG Cheng, TANG Dengfeng*, CHEN Bilian* (Zhejiang Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation of Traditional Chinese Patent Medicine, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of 30 compounds (including antianginal drugs, anticoagulant, anti-platelet aggregators and anti-inflammatory analgesics) illegally added in Chinese patent medicine for promoting blood circulation and removing blood stasis. **METHODS** The sample was extracted by ultrasonication with 60% methanol. The analysis was performed on Phenomenex Kinetex C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 2.6 μm) with gradient elution using 0.1% formic acid solution and acetonitrile as the mobile phase at the flow rate of 0.3 mL·min⁻¹, and the column temperature was 40 °C. Mass spectrometry was collected using electrospray ionization (ESI), simultaneous scanning of positive and negative ions, and multiple reaction monitoring mode. **RESULTS** The linearity of the 30 compounds was good in the mass range examined, with the correlation coefficients all >0.999. The limits of detection of each compound ranged from 1.3 to 238.4 ng·g⁻¹ and the average recoveries ranged from 63.7% to 108.2% with the RSDs of 1.0% to 6.7%. The method was used to test 90 batches of Shujin Huoxue tablets. Paracetamol was detected in 3 batches, while the rest of the compounds were not detected. The amount of paracetamol detected ranged from 0.16 to 0.93 μg per tablet, which was much lower than the minimum daily dose of the corresponding drug, excluding intentional addition. The probable explanation was the residues caused by incomplete cleaning validation of the enterprise's collinear production. **CONCLUSION** This method is rapid, accurate, highly sensitive, and highly selective, and can be used for qualitative screening and quantitative determination of 30 chemical compounds illegally added in Chinese patent medicine for promoting blood circulation and removing blood stasis.

KEYWORDS: promoting blood circulation and removing blood stasis; Shujin Huoxue tablets; illegally added; antianginal drugs; anticoagulant; anti-platelet aggregators; anti-inflammatory analgesics; UHPLC-MS/MS

基金项目: 浙江省科技计划项目 (2021C02019); 浙江省中医药科技计划项目 (2023ZF130, 2021ZB178); 浙江省药品监督管理局科技计划项目 (2023007)

作者简介: 张琳琳, 女, 硕士, 主管中药师
tdfengde@zjyj.org.cn 陈碧莲, 女, 主任中药师

E-mail: amazing1212@163.com
E-mail: zsyonly@hotmail.com

*通信作者: 唐登峰, 男, 博士, 主任中药师 E-mail:

中药制剂以其疗效独特、不良反应小等特点已成为慢性疾病患者用药的重要选择。其中活血化瘀类中成药具有通利血脉、消散瘀血的作用,临床应用广泛,常用于治疗心脑血管疾病以及跌打损伤引起的疼痛^[1-3],尤其在治疗血栓栓塞性疾病中具有显著疗效,并常与西药联合用药抑制血小板聚集、降低血液黏稠度以及减轻炎症反应,从而减少心绞痛、心力衰竭、心律失常等疾病的发生^[4-6]。但是活血化瘀类中成药种类繁多、化学成分复杂,生产企业亦较多,产品质量参差不齐,可能存在有企业为追求利益,非法添加化学药物以增强疗效的情况。若长期、大量服用添加了未知剂量西药的中药制剂,极易导致严重的不良反应,危害患者的生命安全。

目前针对中成药和保健食品中非法添加化学药物的检测方法主要有 TLC^[7]、IR^[8]、TLC-IR^[9]、表面增强拉曼光谱法^[10]、HPLC^[11-12]、UPLC-MS/MS^[13-15]、UPLC-HRMS^[16]、离子迁移谱法^[17]等。UPLC-MS/MS 技术方法简便、准确、灵敏度高,即使色谱柱分离度不佳时也不影响定性定量的准确性,被广泛应用于中成药中非法添加化学物质筛查。现行中成药中非法添加的检测方法主要是围绕一种疾病建立相应的添加化学药物的方法,缺乏对具有传统功效的一类药物(如活血化瘀类中成药)建立相应的非法添加化学药物的方法。

本研究围绕活血化瘀类中成药治疗的多种疾病,采用 UHPLC-MS/MS 技术建立快速筛查非法添加 4 个抗心绞痛药、4 个抗凝和抗血小板药以及 22 个抗炎镇痛药等 3 大类共 30 个化学药物的方法,并对 2020 年国家药品抽检活血化瘀类中成药专项中的 90 批舒筋活血片进行全面筛查。同时对制剂中检出的化学药物进行风险评估,以期为活血化瘀中成药的科学监管及安全评价提供技术支持,并与其他相似功效的中成药和保健食品筛查非法添加化学药物提供方法学借鉴。

1 仪器与试药

岛津 LC-30AD 及 MS-8050 超高效液相色谱-质谱联用仪,配在线真空脱气机(DGU-20A5)、二元泵、恒温自动进样器(SIL-30AC)、柱温箱(CTO-20AC)、电喷雾离子化接口的三重四级杆质谱检测器以及 LC-MS Labsolution 色谱工作站,购自日本岛津有限公司;XPE 205 型电子分析天平

(Mettler Toledo, 十万分之一); Milli-Q Advantage A 超纯水机(Millipore 公司); Elmasonic P 超声波清洗仪(Elma 公司)。

对照品华法林钠(批号:101163-201702;含量:91.7%)、盐酸地尔硫卓(批号:100161-201705;含量:99.8%)、马来酸氯苯那敏(批号:100047-202008;含量:99.7%)、双嘧达莫(批号:100244-201003;含量:99.8%)、异丙安替比林(批号:100525-201602;含量:100%)、舒林酸(批号:100335-200001;含量:100%)、硫酸氢氯吡格雷(批号:100819-201906;含量:99.7%)、美诺昔康(批号:100679-201102;含量:99.9%)、尼美舒利(批号:100555-201803;含量:100%)、奥沙普秦(批号:100353-201602;含量:100%)、甲芬那酸(批号:100190-201104,含量:99.9%)、盐酸曲美他嗪(批号:100889-201803;含量:99.8%)、吲哚美辛(批号:100258-200904;含量:99.9%)、氨基比林(批号:100503-201803,含量:99.7%)、双氯芬酸钠(批号:100334-201803;含量:100%)、安替比林(批号:100506-201602;含量:100%)、酮洛芬(批号:100337-201104;含量:99.9%)、硝苯地平(批号:100338-202107;含量:99.8%)、芬布芬(批号:100415-201102;含量:99.4%)、塞来昔布(批号:510141-201701;含量:99.5%)、环磷腺苷(批号:140709-201805;含量:99.8%)、泼尼松龙(批号:100153-201405;含量:99.5%)、萘丁美酮(批号:101003-200801;含量:100%)、醋氯芬酸(批号:100777-201502;含量:99.9%)、萘普生(批号:100198-201706;含量:100%)、地塞米松(批号:100129-201907;含量:99.8%)、醋酸氢化可的松(批号:100013-201408;含量:99.5%)、醋酸泼尼松(批号:100012-201407;含量:99.5%)、对乙酰氨基酚(批号:100018-202111;含量:99.9%)、前列地尔(批号:140659-201805;含量:99%)均购于中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯)、甲酸(质谱纯)均购自德国 Merck 公司;实验用水均为纯化水;其他试剂均为分析纯。

样品来源于 2020 年国家药品抽检活血化瘀类中成药专项中的舒筋活血片,涉及 37 个厂家共 90 批次。其规格为薄膜衣片(每片重 0.37 g)和素片(每片重 0.39 g)。

2 方法与结果

2.1 液相色谱条件

色谱柱为 Phenomenex Kinetex C₁₈(2.1 mm×100 mm, 2.6 μm); 流动相为 0.1% 甲酸溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 2%B; 5~10 min, 2%→30%B; 10~30 min, 30%→50%B; 30~32 min, 50%→70%B); 流速为 0.3 mL·min⁻¹; 柱温为 40 ℃; 进样量为 1 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源 ESI 源, 正负离子同时扫描, 离子源接口电压 4.0 kV, 电喷雾电离雾化气 (N₂) 流量为 3 L·min⁻¹, 加热气流量为 10 L·min⁻¹, 干燥气 (N₂) 流量为 10 L·min⁻¹, 接口温度 300 ℃, 脱溶剂管温度 250 ℃, 加热模块温度 400 ℃。多反应监测 (MRM) 模式进行数据采集, 质量采集范围 *m/z* 50~550。选择多对特征性的离子对通道, 并针对性优化设定最佳碰撞能量等参数, 离子对与主要质谱参数见表 1。

表 1 30 个化合物离子对及质谱参数

Tab. 1 Ion pair and MS parameters of 30 chemicals

No.	种类	化合物	模式	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	Q1 预杆 偏差/V	碰撞能 量/V	Q3 预杆 偏差/V
1	抗心绞痛药	环磷腺苷	正	330.1	136.2* 312.2	-12 -14	-25 -18	-25 -16
2	非甾体抗炎药	对乙酰氨基酚	正	152.2	110.1* 65.1	-12 -12	-17 -29	-24 -27
3	抗心绞痛药	盐酸曲美他嗪	正	267.2	181.2* 166.1	-20 -19	-13 -24	-20 -22
4	非甾体抗炎药	氨基比林	正	232.2	113.1* 97.1	-16 -16	-12 -29	-22 -21
5	非甾体抗炎药	安替比林	正	189.2	104.1* 131.0	-13 -13	-23 -23	-23 -30
6	抗组胺类药	马来酸氯苯那敏	正	275.2	230.1* 167.1	-20 -20	-20 -38	-20 -20
7	抗血小板药	双嘧达莫	正	505.4	429.3* 385.3	-20 -20	-41 -42	-23 -30
8	抗心绞痛药	盐酸地尔硫卓	正	415.2	178.1* 150.1	-20 -20	-25 -42	-20 -20
9	糖皮质类激素	泼尼松龙	正	361.2	147.2* 343.2	-13 -13	-10 -23	-19 -29
10	糖皮质类激素	地塞米松	正	393.2	373.2* 355.2	-28 -28	-9 -13	-29 -26
11	非甾体抗炎药	异丙安替比林	正	231.2	189.2* 146.0	-17 -16	-21 -24	-14 -11

续表 1

No.	种类	化合物	模式	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	Q1 预杆 偏差/V	碰撞能 量/V	Q3 预杆 偏差/V
12	非甾体抗炎药	舒林酸	正	357.2	233.2* 340.1	-13 -14	-50 -20	-17 -18
13	糖皮质类激素	醋酸氢化可的松	正	405.3	327.2 309.1*	-17 -10	-17 -17	-18 -24
14	抗血小板药	前列地尔	正	337.3	319.3* 301.3	-13 -13	-13 -14	-23 -12
15	糖皮质类激素	醋酸泼尼松	正	401.2	383.2* 295.2	-15 -15	-11 -16	-28 -16
16	非甾体抗炎药	酮洛芬	正	255.2	209.1* 105.1	-10 -19	-13 -23	-16 -22
17	非甾体抗炎药	萘普生	正	231.2	185.1* 170.1	-18 -23	-13 -27	-23 -17
18	非甾体抗炎药	美诺昔康	正	352.1	115.1* 141.1	-13 -13	-20 -21	-22 -11
19	抗心绞痛药	硝苯地平	正	347.2	315.2* 254.2	-13 -13	-9 -19	-23 -19
20	非甾体抗炎药	芬布芬	正	255.2	237.1* 181.1	-18 -18	-11 -23	-25 -23
21	抗凝药	华法林钠	正	309.2	163.1* 251.1	-12 -12	-15 -20	-12 -19
22	抗血小板药	硫酸氢氯吡格雷	正	322.1	212.1* 184.2	-24 -23	-16 -21	-22 -21
23	非甾体抗炎药	尼美舒利	负	307.2	229.2* 198.2	21 14	16 27	14 11
24	非甾体抗炎药	奥沙普秦	正	294.2	276.1* 234.2	-11 -11	-16 -19	-21 -17
25	非甾体抗炎药	萘丁美酮	正	229.2	171.1* 128.1	-20 -17	-14 -39	-13 -14
26	非甾体抗炎药	双氯芬酸钠	正	296.0	215.1* 250.1	-21 -20	-19 -13	-16 -19
27	非甾体抗炎药	吲哚美辛	正	358.1	139.1* 111.0	-26 -26	-20 -51	-29 -23
28	非甾体抗炎药	醋氯芬酸	正	355.0	215.2* 251.1	-13 -13	-38 -16	-25 -14
29	非甾体抗炎药	塞来昔布	正	382.1	362.2* 281.2	-14 -30	-28 -42	-15 -22
30	非甾体抗炎药	甲芬那酸	正	242.2	224.2* 209.1	-17 -17	-16 -28	-17 -26

注: *为定量离子对。

Note: *was the ion pair for quantitation.

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液制备 取 30 个对照品适量, 用 25% 甲醇制成每 1 mL 含盐酸曲美他嗪、氨基比林、马来酸氯苯那敏、双嘧达莫、盐酸地尔硫

卓、异丙安替比林、舒林酸、美诺昔康、华法林钠、硫酸氢氯吡格雷、尼美舒利、奥沙普秦、双氯芬酸钠、吡罗昔美、甲芬那酸 500 ng 以及每 1 mL 含环磷腺苷、对乙酰氨基酚、安替比林、泼尼松龙、地塞米松、醋酸氢化可的松、前列地尔、醋酸泼尼松、酮洛芬、萘普生、硝苯地平、芬布芬、萘丁美酮、醋氯酚酸、塞来昔布 5 μ g 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液制备 取本品适量，研细，混匀，取约 1.5 g，精密称定，精密加入 60% 甲醇 25 mL，称定质量，超声处理 30 min，取出，放冷，再称定质量，用 60% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液即得。

2.3.3 阴性溶液制备 取不含 30 个化合物的舒筋活血片 1 批 (批号：19090026)，按“2.3.2”项下方法制成空白基质溶液，即为阴性对照溶液。

2.4 专属性考察

吸取“2.3.3”项下阴性样品溶液 1 μ L，按“2.1”项下色谱和“2.2”项下质谱条件测定，得阴性样品溶液的色谱和质谱图，见图 1。结果显示阴性对照溶液中 30 个化合物均未检出。表明该方法专属性良好。

2.5 线性关系、检测限和定量限

取“2.3.1”项下的混合对照品溶液，用 25% 甲醇分别稀释 5, 10, 20, 50, 100, 250 倍，得到相应浓度的系列对照品溶液，并按“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件测定。以目标物定量离子的色谱峰面积 (Y) 为纵坐标，目标物的浓度 (X) 为横坐标，绘制各自相应的标准曲线，结果见表 2。结果显示所有化合物在标准曲线范围内线性关系良好，相关系数 (r) 均 > 0.999。取空白舒筋活血片样品 (批号：19090026) 1.5 g，添加混合对照品溶液适量，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，分别计算信噪比 (S/N) 为 3 和 10 时 30 个化合物的检出限和定量限，结果见表 2。

2.6 回收率试验

精密称取空白样品舒筋活血片 (批号：19090026) 1.5 g，6 份，置 25 mL 量瓶中，分别精密加入“2.3.1”项下混合对照品溶液 1.0 mL，同“2.3.2”项下方法平行制备 6 份供试溶液，按“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件测定，计算平均加样回收率及 RSD，结果见表 2。

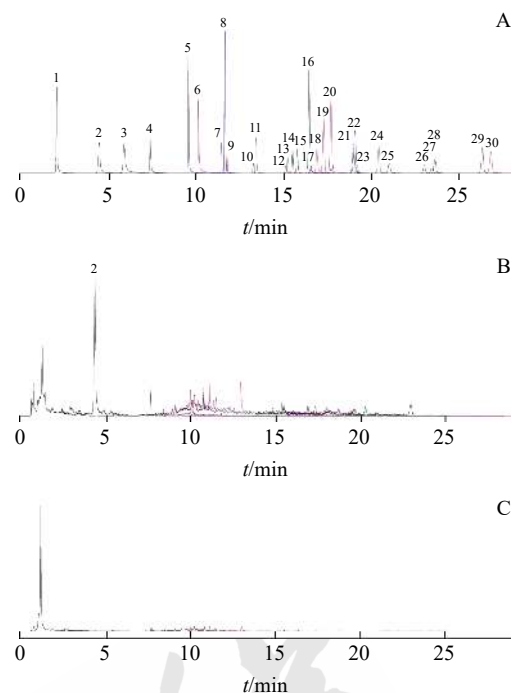


图 1 对照品和样品总离子流图

A-对照品溶液；B-阳性样品溶液；C-阴性样品溶液；1-环磷腺苷；2-对乙酰氨基酚；3-曲美他嗪；4-氨基比林；5-安替比林；6-马来酸氯苯那敏；7-双嘧达莫；8-地尔硫卓；9-泼尼松龙；10-地塞米松；11-异丙安替比林；12-舒林酸；13-氢化可的松；14-前列地尔；15-醋酸泼尼松；16-酮洛芬；17-萘普生；18-美诺昔康；19-硝苯地平；20-芬布芬；21-华法林钠；22-氢氯吡格雷；23-尼美舒利；24-奥沙普秦；25-萘丁美酮；26-双氯芬酸钠；27-吡罗昔美；28-醋氯芬酸；29-塞来昔布；30-甲芬那酸。

Fig. 1 Total ion current chromatogram of references and samples

A-reference solution; B-positive sample solution; C-negative sample solution; 1-adenosine cyclophosphate; 2-paracetamol; 3-trimetazidine; 4-aminopyrine; 5-antipyrine; 6-chlorphenamine maleate; 7-dipyridamole; 8-diltiazem; 9-prednisolone; 10-dexamethasone; 11-propyphenazone; 12-sulindac; 13-hydrocortisone; 14-alprostadil; 15-prednisone acetate; 16-ketoprofen; 17-naproxen; 18-menoxcam; 19-nifedipine; 20-fenbufen; 21-warfarin sodium; 22-clopidogrel; 23-nimesulide; 24-oxaprozin; 25-nabumetone; 26-diclofenac sodium; 27-indometacin; 28-aceclofenac; 29-celecoxib; 30-mefenamic acid.

结果表明 30 个化学药物的加样回收率为 63.7%~108.2%，RSD 为 1.0%~6.7%。

2.7 仪器精密度试验

取“2.3.1”项下混合对照品溶液，重复进样 6 次，测定 30 个化合物的峰面积。结果峰面积精密度 RSD 为 0.4%~2.8%。表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验

精密吸取一份回收率试验的供试品溶液，分别于放置 0, 4, 6, 12, 18, 24 h 进样测定，结果显示 30 个化合物的 RSD 均 < 4.0%，表明 30 个化

表 2 30 个化学药物的回归方程、相关系数、线性范围、检出限、定量限和回收率

Tab. 2 Regression equations, *r*, linear ranges, LOD, LOQ and recovery rate of 30 chemical drugs

No.	名称	保留时间/min	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ng·mL ⁻¹	LOD/ng·g ⁻¹	LOQ/ng·g ⁻¹	平均回收率/%	RSD/%
1	环磷腺苷	1.90	$Y=11\,623.2X+81\,294.3$	0.999 9	21.6~1 078.3	26.6	88.7	80.7	1.7
2	对乙酰氨基酚	4.39	$Y=4\,505.73X+120\,949$	0.999 7	22.3~1 113.0	107.0	356.6	92.2	2.8
3	盐酸曲美他嗪	5.87	$Y=44\,903.7X-11\,764.2$	0.999 9	2.4~117.5	18.0	60.0	67.5	4.4
4	氨基比林	7.39	$Y=36\,229.5X-24\,082.2$	0.999 7	2.0~99.2	1.8	6.1	75.0	2.4
5	安替比林	9.57	$Y=8\,811.07X+462\,350$	0.999 0	19.1~956.4	20.8	69.3	72.5	2.3
6	马来酸氯苯那敏	10.19	$Y=62\,163.6X+31\,198.9$	0.999 8	1.8~90.0	6.7	22.2	79.4	3.6
7	双嘧达莫	11.51	$Y=18\,832.9X+9\,416.06$	0.999 7	1.8~92.0	2.2	7.3	72.0	6.7
8	盐酸地尔硫卓	11.74	$Y=188\,235X-291\,036$	0.999 0	1.4~71.5	1.8	6.0	63.7	5.6
9	泼尼松龙	11.78	$Y=904.115X+29\,097.9$	0.999 0	21.3~1 062.5	55.9	186.2	67.6	3.1
10	地塞米松	13.29	$Y=757.485X+14\,394.8$	0.999 7	24.7~1 236.7	53.5	178.4	75.2	2.7
11	异丙安替比林	13.45	$Y=51\,675.3X+31\,985.4$	0.999 9	1.9~92.5	8.8	29.4	87.6	2.6
12	舒林酸	15.17	$Y=12\,058.7X+7\,085.94$	0.999 8	1.8~88.3	3.6	11.9	82.0	3.9
13	醋酸氢化可的松	15.27	$Y=1\,760.15X-37\,875.7$	0.999 2	20.7~1 036.0	81.4	271.3	84.0	3.3
14	前列地尔	15.58	$Y=1\,777.93X+19\,014.2$	0.999 9	27.0~1 349.6	238.4	794.8	97.1	2.8
15	醋酸泼尼松	15.84	$Y=2\,609.28X-63\,550.8$	0.999 2	19.5~977.1	226.7	755.7	89.8	5.4
16	酮洛芬	16.52	$Y=13\,620.1X+7\,398.35$	0.999 9	17.3~865.2	27.0	90.0	106.4	1.0
17	萘普生	16.63	$Y=1\,079.22X+10\,220.1$	0.999 3	22.0~1 100.8	64.7	215.6	88.7	6.5
18	美诺昔康	16.96	$Y=55\,715.2X-675.794$	0.999 9	1.7~84.7	1.3	4.5	108.2	2.3
19	硝苯地平	17.36	$Y=10\,072.5X+228\,373$	0.999 2	16.6~828.8	18.8	62.8	103.2	2.9
20	芬布芬	17.80	$Y=11\,170.3X+131\,421$	0.999 2	17.6~879.9	78.4	261.5	84.1	2.9
21	华法林钠	19.10	$Y=51\,176.7X+98\,506.6$	0.999 5	1.9~92.6	6.3	20.9	82.2	2.0
22	硫酸氢氯吡格雷	19.21	$Y=70\,223.9X+35\,852.5$	0.999 7	1.9~94.7	2.2	7.2	65.9	2.1
23	尼美舒利	19.31	$Y=17\,660.2X+51\,389.3$	0.999 4	1.9~97.2	3.3	11.1	94.6	1.7
24	奥沙普秦	20.41	$Y=53\,700X+89\,820$	0.999 6	1.8~90.7	10.7	35.5	84.0	4.0
25	萘丁美酮	21.13	$Y=1\,649.13X+26\,603.9$	0.999 8	21.3~1 062.5	26.7	89.1	82.9	3.6
26	双氯芬酸钠	22.99	$Y=14\,414.2X-115.54$	0.999 8	2.0~102.1	6.0	20.0	90.5	2.4
27	吡罗昔美	23.57	$Y=17\,306.6X-16\,554.9$	0.999 8	2.0~101.7	3.2	10.5	97.2	3.3
28	醋氯芬酸	23.75	$Y=2\,824.95X+17\,097.7$	0.999 5	20.2~1 011.5	34.7	115.5	94.4	2.5
29	塞来昔布	26.48	$Y=6\,847.29X+17\,272.6$	0.999 9	16.0~797.6	14.5	48.4	92.0	3.7
30	甲芬那酸	26.81	$Y=48\,656.1X+17\,047.9$	0.999 9	1.9~94.9	3.2	10.6	85.0	1.6

合物在 24 h 内稳定性良好。

2.9 样品测定

对收集到的 90 批样品按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件进样分析。根据对照品 MRM 离子对色谱峰的保留时间和离子丰度比对样品进行定性分析。样品中定性分析检出的化合物，再采用外标法计算检出相应化合物的含量。阳性样品典型的 MRM 色谱图见图 2，检出量结果见表 3。

3 讨论

3.1 扫描模式和流动相的优化

本实验对 30 个化合物的正负离子模式扫描进

行响应比较，结果显示仅尼美舒利的分子离子峰在负离子模式下检出，其余 29 个化合物均在正离子模式下有较好的响应。因此仅有尼美舒利采用负离子模式扫描，其余化合物均采用正离子模式扫描。由于同时检测的化合物较多，从而采集的离子通道也较多，可能会导致化合物色谱峰采集的点数较少，影响定性定量的准确性。本实验检测仅在目标化合物出峰时间前后 2 min 范围内采集其相应的离子通道，可减少某一时间的离子通道数，增加每个色谱峰的采集点数，从而有效地改善峰形。

本研究同时比较了乙腈为有机相，0.1% 甲酸、0.01% 甲酸、0.1% 甲酸-5 mmol·L⁻¹ 乙酸铵分

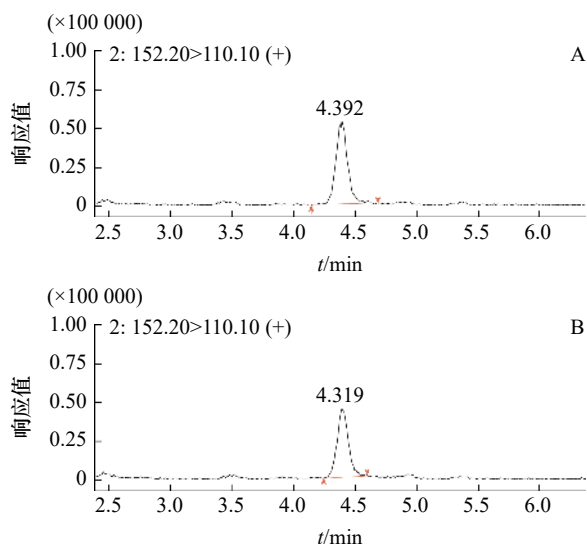


图 2 对乙酰氨基酚阳性样品的典型 MRM 色谱图
A-阳性样品溶液(批号: 191102); B-阳性样品溶液(批号: 191104).
Fig. 2 Typical MRM chromatogram of positive samples for paracetamol
A-positive sample solution(lot number: 191102); B-positive sample solution(lot number: 191104).

表 3 化合物检出量与最低起效日用量比较

Tab. 3 Comparison of the amount of detected compound and minimum daily starting dose

化合物名	生产企业	批号	检出量/ $\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$	检出量/ $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$	最低起效日用量/ $\text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$
对乙酰氨基酚	A	191102	0.93	13.97	600
	A	191103	0.16	2.44	
	A	191104	0.65	9.68	

别为水相时对 30 个化合物响应的影响, 结果表明采用 0.01% 甲酸为水相时有较多化合物响应较差, 而采用 0.1% 甲酸和 0.1% 甲酸-5 mmol·L⁻¹ 乙酸铵时 30 个化合物均有较好的响应。由于 0.1% 甲酸溶液配制简单并对整个仪器系统影响较小, 因此最终选择乙腈-0.1% 甲酸溶液为流动相。

3.2 筛查化合物的选择

本研究对 2020 年国家药品抽检活血化瘀类中成药专项任务的品种进行了功效总结。其中通脉颗粒用于治疗缺血性心脑血管疾病^[18], 消栓再造丸用于治疗气虚血滞, 风痰阻络引起的中风后遗症^[19], 舒筋活血片用于治疗筋骨疼痛、跌打损伤等^[20]。汇总结果表明, 常用的活血化瘀类中成药主要用于治疗血瘀证引起的心脑血管疾病以及跌打损伤导致的疼痛, 即印证了“不通则痛”的中医基础理论。血瘀证引起的心脑血管疾病一般采用抗凝和抗血小板药进行治疗。心脑血管疾病常见的症状有心绞痛。临床上常用的口服抗凝药为

华法林, 抗血小板药为氯吡格雷、双嘧达莫等^[4]。抗炎镇痛药主要有非甾体抗炎药、糖皮质激素药、抗组胺药等^[21]。根据活血化瘀药治疗的不同疾病类型, 结合临床实际使用调研情况, 筛选了临床上常用且对照品易获得的 30 个化学药物, 分别是 4 个常用的抗心绞痛药 (硝苯地平、地尔硫卓、环磷腺苷、曲美他嗪)、4 个常用的抗凝和抗血小板聚集药 (华法林、双嘧达莫、硫酸氢氯吡格雷、前列地尔) 以及 22 个抗炎镇痛药。

3.3 测定结果分析及风险评估

37 家企业共 90 批次舒筋活血片测定结果显示, 有 1 家企业共 3 批样品检出对乙酰氨基酚, 总体阳性检出率为 3.33%。值得注意的是该企业对乙酰氨基酚阳性检出率为 100%。

为表征风险大小, 衡量检出量是否达到药效起效量, 对检出量均按照日用最大量 (15 片) 折算, 结果见表 3。从表 3 中可见, 检出量按照日用量的最大量折算后, 远低于对应化学药品最低起效日用量, 因此排除人为故意添加的可能。经查询国家药品监督管理局网站及对企业调研, 该企业生产线有对乙酰氨基酚类产品, 因此, 推测残留可能源于共线产品生产, 是由于清洁验证不合理或者清场不彻底所致。建议相关生产企业应在共线生产时严格执行 GMP 操作, 密切关注清场情况, 同时加强管理, 降低共线污染风险。

3.4 小结

本实验建立了 UHPLC-MS/MS 同时快速筛查活血化瘀类中成药中非法添加的抗心绞痛药、抗凝和抗血小板聚集药及抗炎镇痛药共 30 个化学药物的方法。该方法在 32 min 内即可完成对 30 个化合物定性筛查和定量检测, 结果准确快速, 灵敏度高, 为打击中成药和保健食品中非法添加化学药物提供方法借鉴和技术支撑。由于活血化瘀类中成药种类繁多、治疗的疾病亦较多, 本研究仅筛查常用的 30 种化学药物。在后续的实际工作中, 应继续扩大筛查的范围, 以期更全面地控制活血化瘀类中成药的质量。

REFERENCES

- [1] 郑金凤, 夏坤, 王景红. 治疗冠心病中成药的用药分析及用药警示[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1964-1967.
- [2] ZHANG J. Investigation and analysis on the application of traditional Chinese medicine in cardiovascular medicine[D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2019.

- [3] "Guidelines for Rational Use of Proprietary Chinese Medicines for Promoting Blood Circulation and Removing Blood Stasis" Writing Expert Group. Guidelines for rational use of proprietary Chinese medicines for promoting blood circulation and removing blood stasis[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2023, 32(4): 338-347.
- [4] QIAN F D, NI M, ZHOU J C, et al. Research progress on the interaction between Chinese patent medicines for promoting blood circulation and removing blood stasis and oral antithrombotic drugs[J]. China Pharm(中国药房), 2019, 30(14): 2008-2012.
- [5] ZHANG L M, DU T H, NIU L L, et al. Network meta-analysis of Chinese patent medicine in treatment of unstable angina pectoris[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2021, 46(3): 703-711.
- [6] CAI X F, RONG Z Z, XU Y H, et al. Effects of *Salvia miltiorrhiza* and ligustrazine combined with metoprolol on cardiac function and inflammatory indexes in patients with coronary heart disease and heart failure[J]. Chronic Pathematology J(慢性病学杂志), 2020, 21(8): 1190-1192.
- [7] LIN F P, WENG J, LI H M. Study on rapid identification of non-benzodiazepine compounds illegally added in health food by TLC[J]. Food Drug(食品与药品), 2021, 23(3): 229-232.
- [8] ZHANG R, YIN L H, JIN S H. Detection of illegally added drugs in dietary supplements by near-infrared spectral imaging[J]. J Innov Opt Health Sci, 2014, 7(6): 1450032.
- [9] ZHANG H L, LI L, WANG H Y, et al. Rapid detection of the metformin illegally added of in TCM and health food by TLC-IR[J]. Pak J Pharm Sci, 2020, 33(3): 1115-1119.
- [10] WANG J J, CHEN Q S, BELWAL T, et al. Insights into chemometric algorithms for quality attributes and hazards detection in foodstuffs using Raman/surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2021, 20(3): 2476-2507.
- [11] LU L L, QIAN Y F, ZHANG H F, et al. Rapid identification of 15 chemical components in anti-common cold Chinese traditional patent medicine and health foods by UPLC-PDA[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2021, 41(5): 861-868.
- [12] QIN J, XIE B Y. Rapid determination of 13 chemical drugs in antidiabetic health foods by HPLC-DAD[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2021, 41(11): 1990-1998.
- [13] SUN S Z, HE Y L, CHEN Y E, et al. Determination of 26 chemical drugs for the treatment of cough and asthma added illegally in herbal tea by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Pharm Today(今日药学), 2021, 31(3): 195-199.
- [14] LIU J, DONG Y, JIANG X, et al. Determination of 8 chemical drugs illegally added into cough and asthma traditional Chinese medicine by LC-MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(7): 851-855.
- [15] LIU J, WANG Z H, WANG X L, et al. Rapid detection of 14 chemical drugs illegally added in antidiabetic traditional Chinese medicine by LC-MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(23): 3009-3014.
- [16] SHI S, WU Y Y, ZHOU M H, et al. Simultaneous analysis of 31 anti-impotence compounds potentially illegally added to herbal-based dietary supplements by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020(1144): 122077.
- [17] LI J M, CUI Y X, LIU D, et al. Development of a sample pretreatment device integrating ultrasonication, centrifugation and ultrafiltration, its application on rapid on-site screening of illegally added chemical components in heat-clearing, detoxicating Chinese patent medicines followed by electrospray ionization-ion mobility spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2021(194): 113767.
- [18] 中药成方制剂第四册[S]. 1991: 169.
- [19] 中药成方制剂第十五册[S]. 1998: 175.
- [20] 中药成方制剂第十三册[S]. 1998: 202.
- [21] HUANG Y Y, TU J H, XU H X, et al. Rapid determination of 17 anti-inflammatory and analgesic chemicals illegally added into Chinese patent medicine and health foods by UPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47(2): 246-254.

收稿日期: 2023-03-22

(本文责编: 曹粤锋)