

足用冷敷凝露中 22 种添加药物的识别及 其中 4 种药物的含量测定

卢华, 朱茜, 钟卓伶, 高小艳, 杨婧*

[四川省药品检验研究院(四川省医疗器械检测中心)工业和信息化部产业技术基础公共服务平台, 成都 611731]

摘要 **目的:**建立一种足用冷敷凝露中 22 种非法添加药物的识别及其中 4 种药物的含量测定方法。**方法:**通过高分辨液质联用法(UPLC-HRMS/MS), 采用 Hypersil GOLD™ VANQUISH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm) 色谱柱, 以 10 mmol · L⁻¹ 乙酸铵的水溶液(A) - 甲醇(B) 为流动相, 进行梯度洗脱, 柱温 40 °C, 流速 0.2 mL · min⁻¹, 采用 ESI 离子源, 正负切换扫描模式进行定性分析。以相同质谱-色谱条件下, 对照品和样品的保留时间, 母离子和碎片离子信息均一致, 确认样品中含有的非法添加药物, 并使用适当的方法进行定量分析。**结果:**经过定性分析, 确认样品中含有 4 种非法添加药物: 对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因、硝酸咪康唑。这 4 种药物分别在 2.542 ~ 101.7 μg · mL⁻¹、1.410 ~ 169.161 μg · mL⁻¹、0.002 ~ 0.2 μg · mL⁻¹、5.184 ~ 290.304 μg · mL⁻¹ 浓度范围内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系, 线性相关系数分别为 0.999 9、0.999 7、0.999 9、0.999 1; 检测限分别为 0.015、0.143、0.001、0.833 μg · mL⁻¹; 3 个浓度水平回收率分别为 98.5% ~ 104.5%、90.2% ~ 99.4%、79.5% ~ 84.9%、102.8% ~ 104.3%; RSD 分别为 0.059% ~ 0.28%、0.20% ~ 0.49%、1.2% ~ 3.1%、0.18% ~ 0.40%; 样品中 4 种药物的含量分别为每瓶 195.05、264.10、1.24、67.00 mg。**结论:**定性方法简便快捷, 准确性好, 覆盖面广; 定量方法专属性、线性、精密度、准确性、重复性和稳定性均良好, 适合医疗器械物理降温设备——足用冷敷凝露中 22 种非法添加药物的快速识别和其中 4 种非法添加药物的含量测定。

关键词:足用冷敷凝露; 医疗器械; 非法添加; 定性分析; 含量测定; 高分辨液质联用法; 高效液相色谱

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)11 - 1975 - 08

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0114

Identification of 22 added drugs in foot - use cold compress gel and quantification of four drugs

LU Hua, ZHU Xi, ZHONG Zhuo - ling, GAO Xiao - yan, YANG Jing*

[Sichuan Institute for Drug Control (Sichuan Testing Center of Medical Devices), Ministry of Industry and Information Technology Industrial Technology Foundation Public Service Platform, Chengdu 611731, China]

Abstract Objective: To establish a method for the rapid identification of 22 illegally added drugs in foot - use cold compress gel, and to quantify the content of 4 drugs. **Methods:** Use ultra - performance liquid chromatography - high resolution mass spectrometry/mass spectrometry (UPLC - HRMS/MS) for qualitative analysis. Using Hypersil GOLD™ VANQUISH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm) chromatographic column, gradient elution was performed

* 通信作者 Tel:13980715566; E-mail: yangj@scidc.org.cn

第一作者 Tel:15982873387; E-mail: luhua@scidc.org.cn

with $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium acetate aqueous solution (A) and methanol (B) as mobile phases, column temperature was $40 \text{ }^\circ\text{C}$, flow rate was $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, ESI ion source was used, and qualitative analysis was performed by switching between positive and negative scanning modes. By comparing the retention time, parent ion, and fragment ion information of the standards and sample under the same chromatographic and mass spectrometric conditions confirmed the illegally added drugs in the sample and the suitable methods were used for quantitative analysis. **Results:** After qualitative analysis, it was confirmed that the sample contained 4 illegally added drugs: acetaminophen, chloramphenicol, lidocaine hydrochloride and miconazole nitrate. The concentrations of these 4 drugs ranged $2.542 - 101.7 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $1.410 - 169.161 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.002 - 0.2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $5.184 - 290.304 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The peak areas showed good linear relationships with concentrations, with correlation coefficients of 0.999 9, 0.999 7, 0.999 9 and 0.999 1, respectively. The limits of detection were 0.015, 0.143, 0.001, 0.833 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. At three concentration levels, the recovery rates ranged 98.5%–104.5%, 90.2%–99.4%, 79.5%–84.9%, 102.8%–104.3%, with the RSD of 0.059%–0.28%, 0.20%–0.49%, 1.2%–3.1%, 0.18%–0.40%, respectively. The contents were 195.05, 264.10, 1.24, 67.00 mg per bottle, respectively. **Conclusion:** The qualitative method is simple, rapid, and highly accurate, while the quantitative method is specific, precise, accurate, and stable, making it suitable for the rapid identification of 22 illegally added drugs and the quantification of 4 illegal added drugs in foot-use cold compress gel.

Keywords: foot-use cold compress gel; medical devices; illegally addition; qualitative analysis; content determination; UPLC-HRMS/MS; HPLC

随着经济的迅速发展和健康产业的日益兴旺,人们对维护身体健康的重视程度不断加深。足用冷敷凝露作为近年来新兴的冷敷理疗产品之一,为医疗器械物理降温设备,不应含有发挥药理学、免疫学或者代谢作用的成分^[1]。冷敷疗法,作为一种常见的物理治疗方法,通过降低局部温度,减缓血液流速以及降低局部组织的代谢活动,有效缓解诸如发痒、水肿、红肿、肿痛、发热等体表不适症状^[2-4]。然而,一些医疗器械生产企业为了追求产品功效、市场份额及利润,可能非法添加化学药物,对消费者的健康构成严重危害^[5]。

当前,针对药品和保健品领域的非法添加化学药物研究较多^[6-9],在食品和化妆品领域的非法添研究也较多^[10-13]。在医疗器械领域,也有多篇文献^[14-17]针对贴敷、凝胶类器械非法添加成分的快速检测和含量测定进行了研究。国家药品监督管理局于2022年1月26日发布了《贴敷类医疗器械中17种化学药物识别及含量测定补充检验方法》^[18],该方法适用于以物理升温、物理退热、穴位压力刺激或磁场等作用原理的多种贴敷类医疗器械,如远红外治疗贴、医用冷敷贴、医用退热贴、冷敷凝胶、磁疗贴及穴位压力刺激贴。但因贴敷类产品应用范围、使用

部位不尽相同,使得现有的方法,在非法添加药物识别上仍然存在一定的局限性。

足用冷敷凝露根据其功效,缓解诸如发痒、水肿、红肿、肿痛、发热等体表不适症状,则有可能添加消炎类、抗菌类、抗过敏类、局麻类等药物,如氯霉素、硝酸咪康唑、甲硝唑、盐酸萘甲唑林、盐酸利多卡因等,而上述补充检验方法无法完全覆盖。

本研究将足用冷敷凝露作为研究对象,旨在建立一种针对特定使用部位(足用)贴敷类产品,具有更高筛选能力且能准确定量的方法,补充完善贴敷类产品非法添加药物成分的检测方法,从而为医疗器械监管提供有力的技术支持。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

OrbitrapExploris 120 液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱仪(Thermo 公司);LC-20ADXR 型高效液相色谱仪(Shimadzu 公司);Vanquish Core 型高效液相色谱仪(Thermo Fisher 公司);5500 Qtrap 型超高效液相色谱质谱联用仪(AB 公司);MCA225P-2CCN-I 型电子天平(Sartorius 公司,0.01 mg);JP-100S 型超声波清洗器(深圳洁盟技术股份有限公司)和 Milli-Q 纯化水仪(Millipore 公司)。

1.2 试药

对照品氨基比林(批号 100503 - 201803, 含量 99.7%)、甲氧苄啶(批号 100031 - 201606, 含量 99.8%)、对乙酰氨基酚(批号 100018 - 202111, 含量 100.0%)、泼尼松(批号 100199 - 202104, 含量 100.0%)、氢化可的松(批号 100152 - 202008, 含量 99.9%)、地塞米松(批号 100129 - 201907, 含量 99.8%)、醋酸泼尼松(批号 100012 - 202108, 含量 100.0%)、醋酸可的松(批号 100123 - 201204, 含量 99.1%)、酮洛芬(批号 100337 - 201104, 含量 99.9%)、萘普生(批号 100198 - 201706, 含量 100.0%)、醋酸地塞米松(批号 100122 - 201707, 含量 99.9%)、保泰松(批号 100481 - 201702, 含量 99.8%)、吡罗美辛(批号 100258 - 202105, 含量 100.0%)、双氯芬酸钠(批号 100334 - 201803, 含量 100.0%)、盐酸萘甲唑林(批号 100111 - 201104, 含量 99.2%)、马来酸氯苯那敏(批号 100047 - 202008, 含量 99.9%)、氯霉素(批号 130555 - 201704, 含量 99.8%)、硝酸咪康唑(批号 100213 - 201406, 含量 99.6%)、甲硝唑(批号 100191 - 201808, 含量 100.0%), 均购自中国食品药品检定研究院; 对照品氟比洛芬(批号 0328 - RD - 0041, 含量 99.9%), 广州佳途科技股份有限公司; 布洛芬(批号 D0015188 2025 - 0316, 含量 99.7%), 北京振翔科技有限公司; 盐酸利多卡因(批号 C13013820, 含量 99%), 上海麦克林生化科技股份有限公司。

甲醇(质谱纯)、乙醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯), Thermo Fisher 公司; 乙酸铵(质谱级)、甲酸(质谱级)、庚烷磺酸钠(色谱纯), Sigma 公司; 三乙胺(分析纯), 天津市科密欧化学试剂有限公司; 磷酸(分析纯)、磷酸二氢钾(分析纯)、醋酸铵(分析纯), 成都市科隆化学品有限公司。

1.3 样品

足用冷敷凝露由湖北普惠堂生物科技有限公司生产, 喷洒型 25 mL, 批号 20211202。

2 定性分析方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Hypersil GOLD™ VANQUISH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱, 柱温 40 °C, 流速 0.2 mL · min⁻¹, 进样量 1 μL, 以 10 mmol · L⁻¹ 乙酸铵的纯化水溶液(A) - 甲醇(B) 为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 1 min, 10% B; 1 ~ 7 min, 10% B → 95% B;

7 ~ 11 min, 95% B; 11 ~ 12 min, 95% → 10% B; 12 ~ 15 min, 10% B)。

2.2 质谱条件

采用 ESI 离子源, 正负切换扫描模式, 鞘气 30 Arb, 辅助气 8 Arb, 吹扫气 0, 电喷雾电压正离子 3.2 kV, 负离子 2.8 kV, 气化温度 350 °C, 毛细管温度 320 °C, 传输透镜电压 55.0%, 碰撞气为氮气, HCD 能量为 15%、30%、45%。

2.3 混合对照品溶液的配制

精密称取各对照品 10 mg, 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度约为 1 mg · mL⁻¹ 的对照品储备液。分别取各对照品储备液 0.1 mL, 置于同一 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 10 μg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的配制

精密吸取样品 5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇 3 mL, 涡旋混匀, 超声(720 W, 40 kHz) 提取 30 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液用甲醇稀释 10 倍, 即得。

2.5 定性分析结果

分别吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 1 μL, 注入 UPLC - HRMS/MS 仪, 记录总离子流色谱图及一级和二级质谱图。通过比较样品与对照品的色谱峰保留时间、一级全扫描质谱图和二级全扫描的碎片离子信息, 分析样品中是否存在违法添加的化学药物。22 个化合物的扫描模式、保留时间及碎片信息见表 1, 样品定性分析结果见表 2。

欧盟 2002/657/EC 准则要求禁用物质的确证必须达到 4 个识别点, 在高分辨质谱中, 每个母离子的识别点规定为 2.0, 子离子的识别点为 2.5^[19]。因此, 利用高分辨质谱, 只需 1 个母离子和 1 个碎片离子即可完成对目标物质的确证。设置保留时间偏差为 ±0.2 min, 母离子及碎片离子精确质量数偏差为 5 × 10⁻⁶ 以内^[20]。

通过比较表 1、2 中对照品与样品的色谱峰保留时间及母离子、碎片离子的精确质量数结果可知, 样品中含有非法添加的化学成分: 对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因和硝酸咪康唑。接下来对样品中检出的对乙酰氨基酚、氯霉素、硝酸咪康唑采用 HPLC 方法进行定量分析; 对检出的盐酸利多卡因采用 LC - MS 方法进行定量分析。

表 1 22 个化合物的定性分析结果

Tab. 1 Qualitative analysis results of 22 compounds

编号 (No.)	化合物 (compound)	扫描模式 (mode)	保留时间 (retention time)/min	母离子 (parention) <i>m/z</i>	碎片离子 (fragment ion) <i>m/z</i>
1	氨基比啉(aminophenazone)	+	7.31	232.144 10	58.065 13 [*] , 97.076 03, 111.091 70
2	甲氧苄啉(trimethoprim)	+	6.60	291.144 81	123.066 66, 230.116 46 [*] , 261.095 45
3	对乙酰氨基酚(paracetamol)	+	3.61	152.070 43	93.033 62, 110.060 16 [*] , 152.070 68
4	泼尼松(prednisone)	+	7.87	359.185 06	147.080 51 [*] , 159.080 66, 171.080 26
5	氢化可的松(hydrocortisone)	+	8.09	363.216 43	97.064 95, 121.064 93 [*] , 147.116 85
6	地塞米松(dexamethasone)	+	8.36	393.207 03	107.085 39, 147.080 73 [*] , 222.104 02
7	醋酸泼尼松(prednisone acetate)	+	8.39	401.195 59	121.065 11, 147.080 47 [*] , 171.080 32
8	醋酸可的松(cortisone acetate)	+	8.42	403.211 06	105.069 85, 121.064 85, 163.111 68 [*]
9	酮洛芬(ketoprofen)	+	7.75	255.101 18	77.038 58, 105.033 51 [*] , 177.053 50
10	萘普生(naproxen)	+	7.71	231.101 41	154.077 58, 170.072 54, 185.095 98 [*]
11	醋酸地塞米松(dexamethasone acetate)	+	8.69	435.217 35	121.065 25, 147.080 44 [*] , 171.080 44
12	保泰松(phenylbutazone)	+	8.06	309.159 33	94.065 19, 104.049 58, 160.112 05 [*]
13	氟比洛芬(flurbiprofen)	-	8.37	243.082 31	177.070 71, 199.092 67 [*] , 226.865 57
14	布洛芬(ibuprofen)	-	8.73	205.123 17	131.013 28 [*] , 142.901 48, 168.011 99
15	吲哚美辛(indomethacin)	-	8.64	356.068 70	158.060 96, 255.044 82, 282.032 20 [*]
16	双氯芬酸钠(diclofenac sodium)	-	8.52	294.009 16	178.066 04 [*] , 214.042 79, 250.019 35
17	盐酸萘甲唑林(naphazoline hydrochloride)	+	6.70	211.122 70	141.069 89 [*] , 142.072 97, 168.080 99
18	盐酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)	+	8.60	235.180 10	58.065 16, 86.096 47 [*]
19	马来酸氯苯那敏(chlorpheniramine maleate)	+	8.04	275.130 55	167.073 03, 202.041 64, 230.073 00 [*]
20	氯霉素(chloramphenicol)	-	7.15	321.004 36	106.029 46, 121.029 34 [*] , 152.035 20
21	硝酸咪康唑(miconazole nitrate)	+	10.34	416.989 93	69.044 82, 123.000 15, 158.976 39 [*]
22	甲硝唑(metronidazole)	+	4.29	172.071 35	82.052 57, 110.042 73, 128.045 44 [*]

注(note): * . 基峰(base peak)

表 2 供试品定性分析结果

Tab. 2 Qualitative analysis result of samples

化合物(compound)	保留时间(time)/min	母离子(parention) <i>m/z</i>	碎片离子(fragment ion) <i>m/z</i>
对乙酰氨基酚(paracetamol)	3.61	152.070 43	93.033 62, 110.060 16 [*] , 152.070 68
氯霉素(chloramphenicol)	7.15	321.004 36	106.029 46, 121.029 34 [*] , 152.035 20
盐酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)	8.60	235.180 10	58.065 16, 86.096 47 [*]
硝酸咪康唑(miconazole nitrate)	10.34	416.989 93	69.044 82, 123.000 15, 158.976 39 [*]
样品(sample)	3.56	152.070 37	93.033 55, 110.060 04 [*] , 152.070 63
	7.12	321.004 61	106.029 71, 121.029 39 [*] , 152.035 23
	8.64	235.180 60	58.065 20, 86.096 47 [*]
	10.31	416.990 02	69.044 68, 122.999 88, 158.976 17 [*]

注(note): * . 基峰(base peak)

3 定量分析方法与结果

3.1 色谱条件和质谱条件

3.1.1 对乙酰氨基酚色谱条件 采用 Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.05 mol · L⁻¹ 醋酸铵溶液 - 甲醇 (85:15) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 进样量 10 μL, 波长 245 nm, 柱温 35 °C。

3.1.2 氯霉素色谱条件 采用 Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.01 mol · L⁻¹ 庚烷磺酸钠缓冲溶液 (取磷酸二氢钾 6.8 g, 用 0.01 mol · L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液溶解并稀释至 1 000 mL, 再加三乙胺 5 mL, 混匀, 用磷酸调节 pH 至 2.5) - 甲醇 (68:32) 为流动相, 流速 1.5 mL · min⁻¹, 进样量 20 μL, 波长 277 nm, 柱温 35 °C。

3.1.3 盐酸利多卡因色谱质谱条件 采用 Thermo Hypersil Gold(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱,以 0.1% 的甲酸水溶液(A) - 甲醇溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 5.0 min, 5% B → 98% B; 5.0 ~ 6.0 min, 98% B; 6.0 ~ 6.5 min, 98% B → 5% B),流速:0.2 mL · min⁻¹,进样量 1 μL,柱温 40 °C。采用电喷雾离子源(ESI),氮气为碰撞气,碰撞气压力为 Miduem,离子源温度 350 °C,监测模式为 MRM,定性离子对 *m/z* 236.0/86.0,碰撞电压(CE) 25 V;定量离子对 *m/z* 236.0/58.0,碰撞电压(CE) 38 V。

3.1.4 硝酸咪康唑色谱条件 采用 Thermo Acclaim™ 120A C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以甲醇 - 乙腈 - 1.5% 醋酸铵(40:40:20)为流动相,流速 1.0 mL · min⁻¹,进样量 10 μL,波长 230 nm,柱温 35 °C。

3.2 对照品溶液的配制

精密称取对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因、硝酸咪康唑的对照品各 10 mg,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量

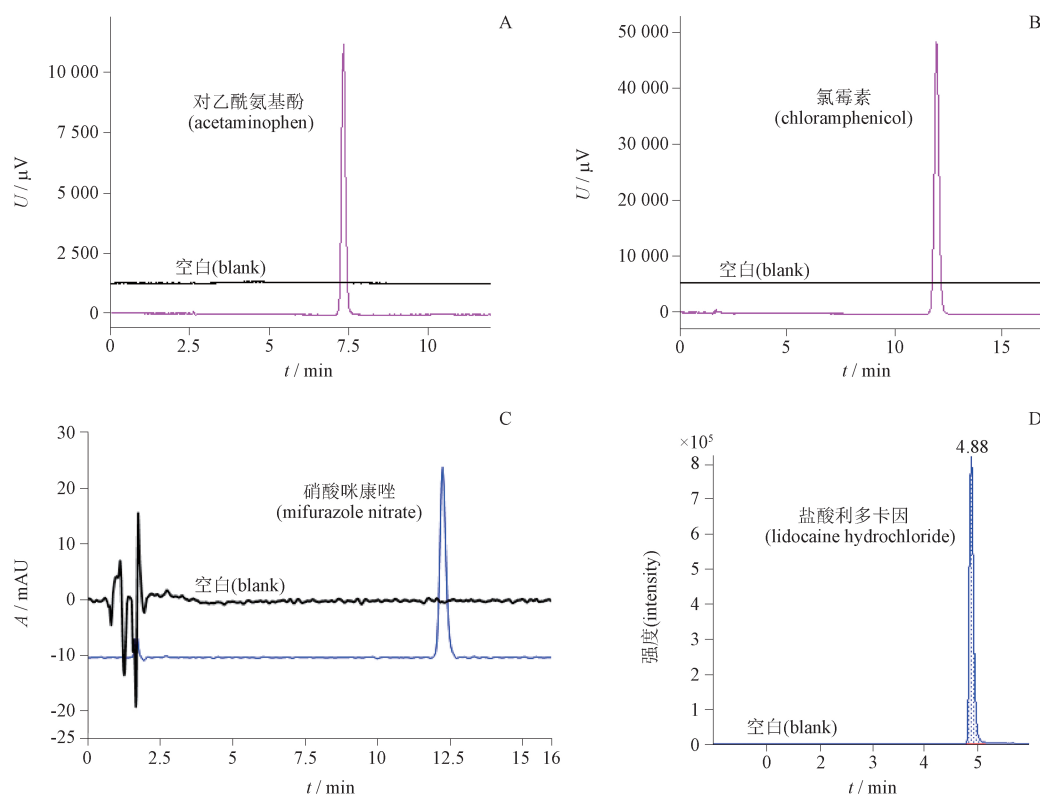
浓度为 1 mg · mL⁻¹ 的各对照品储备液。精密吸取各对照品储备液适量,分别加“3.1”项下各自的流动相稀释制成各系列标准曲线溶液。

3.3 供试品溶液的配制

取 6 瓶样品,分别精密吸取 5 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇 3 mL,涡旋混匀,超声(720 W, 40 kHz)提取 30 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,续滤液作为溶液 M。取溶液 M,用“3.1.1”项下流动相稀释 100 倍,即得对乙酰氨基酚供试品溶液;用“3.1.2”项下流动相稀释 100 倍,即得对氯霉素供试品溶液;不经稀释,即得盐酸利多卡因供试品溶液;用甲醇稀释 10 倍,即得硝酸咪康唑供试品溶液。

3.4 专属性试验

取各化合物项下的空白溶剂、对照品溶液,按相应条件进样分析,并记录色谱图(图 1),结果显示,各空白溶剂色谱图中,在与对照品色谱图对照品峰相应位置处均不显示色谱峰,均不干扰测定。



A. 对乙酰氨基酚和空白溶剂(acetaminophen and blank solvent) B. 氯霉素和空白溶剂(chloramphenicol and blank solvent) C. 硝酸咪康唑和空白溶剂(mifurazole nitrate and blank solvent) D. 盐酸利多卡因和空白溶剂(lidocaine hydrochloride and blank solvent)

图 1 专属性图谱

Fig. 1 Specificity chromatograms

3.5 线性关系考察

精密量取各化合物的系列标准曲线溶液,按“3.1”项各自的条件进样分析,以化合物的质量浓度

X ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,进行线性回归,各化合物线性方程及相关系数见表3。在标准曲线范围内,线性关系良好, r 均大于0.999。

表3 4个化合物的线性方程、检测限和定量限

Tab. 3 The linear equation, correlation coefficient, LOD and LOQ of the 4 compounds

化合物 (compound)	线性范围 (linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	线性方程 (linear equation)	r	LOD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对乙酰氨基酚(paracetamol)	2.542 ~ 101.700	$Y = 3.918 \times 10^4 X - 385.863$	0.999 9	0.015	0.053
氯霉素(chloramphenicol)	1.410 ~ 169.161	$Y = 1.350 \times 10^4 X - 1.311 \times 10^4$	0.999 7	0.143	0.487
盐酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)	0.002 ~ 0.2	$Y = 5 \times 10^7 X + 5.098 \times 10^7$	0.999 9	0.001	0.003
硝酸咪康唑(miconazole nitrate)	5.184 ~ 290.304	$Y = 0.24X + 0.46$	0.999 1	0.833	1.740

3.6 检测限和定量限

将各化合物的标准曲线溶液最低浓度点适当稀释后,按“3.1”项各自的条件进样分析,以信噪比 $S/N = 3$ 时对应的溶液浓度作为仪器检测限;信噪比 $S/N = 10$ 时对应的溶液浓度作为仪器定量限。结果见表3。

3.7 精密度

取各化合物的标准曲线溶液各3个中间浓度点,按“3.1”项各自的条件进样分析,分别平行测定6次,各化合物峰面积的RSD在0.033%~1.8%,表明精密度良好,结果见表4。

表4 4个化合物的精密度和稳定性结果

Tab. 4 The precision and stability rate of the 4 compounds

化合物(compound)	精密度(precision), RSD/%	稳定性(stability), RSD/%	重复性(repeatability), RSD/%
对乙酰氨基酚(paracetamol)	0.033 ~ 0.068	0.070 ~ 0.10	1.0
氯霉素(chloramphenicol)	0.12 ~ 0.24	0.18 ~ 0.35	1.2
盐酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)	0.36 ~ 1.7	1.8 ~ 3.0	7.1
硝酸咪康唑(miconazole nitrate)	0.34 ~ 1.8	1.2 ~ 1.5	0.45

3.8 稳定性

取各化合物的标准曲线溶液各3个中间浓度点,按“3.1”项各自的条件,分别于0、12、22 h进样分析,各化合物峰面积的RSD在0.070%~3.0%,表明稳定性良好,结果见表4。

3.9 重复性

按“3.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“3.1”项各自的条件进样分析,各化合物含量分别为192.19 ~ 197.52、260.55 ~ 269.34、1.15 ~ 1.37、66.57 ~ 67.33 $\text{mg} \cdot \text{瓶}^{-1}$,含量的RSD在0.45%~7.1%,表明方法重复性良好,结果见表4。

3.10 加样回收率

精密吸取“3.3”项下制备的溶液M适量,分别进行低、中、高3个浓度水平(添加量约相当于供试品含量的80%、100%、120%)的回收率试验,各浓度溶液平行制备3份。取以上溶液按“3.1”项各自的条件进样分析,加样回收率在79.5%~104.5%,RSD在

0.059%~3.1%。其中,盐酸利多卡因由于样品含量低,加标量也低(小于30 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$),回收率较低,为80%左右,但均满足2020年版《中华人民共和国药典》四部通则9101分析方法验证指导原则中回收率限度的要求,结果表明方法准确可靠,稳定性高,见表5。

3.11 样品测定

按“3.3”项下方法制备供试品溶液6份,按“3.1”项各化合物的条件进样分析,对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因和硝酸咪康唑含量分别为195.05、264.10、1.24、67.00 $\text{mg} \cdot \text{瓶}^{-1}$ 。

4 讨论

本研究针对足用冷敷凝露中可能添加的药物成分,开发了一套高效液相色谱-高分辨率质谱联用快速鉴别方法。该方法不仅能对22种非法添加药物进行准确识别,还对识别出的乙酰氨基酚、氯霉素、硝酸咪康唑进行HPLC含量测定,并对盐酸利多卡因进行了LC-MS含量测定。实验结果表明,上述方法专属

表 5 4 个化合物的回收率结果
Tab. 5 The recovery rate of the 4 compounds

化合物 (compound)	样品量 (sample amount)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	添加量 (added amount)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量 (measured amount)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
对乙酰氨基酚 (paracetamol)	38.43	30.51	69.65	102.3	0.059
		40.68	80.94	104.5	0.28
		50.85	88.51	98.5	0.16
氯霉素 (chloramphenicol)	53.24	45.11	93.94	90.2	0.20
		56.39	106.25	94.0	0.34
		67.66	120.49	99.4	0.49
盐酸利多卡因 (lidocaine hydrochloride)	0.025	0.020	0.042	84.9	3.1
		0.024	0.044	81.9	1.2
		0.028	0.047	79.5	1.9
硝酸咪康唑 (miconazole nitrate)	133.14	96.49	233.78	104.3	0.40
		120.62	257.79	103.3	0.18
		144.74	281.92	102.8	0.18

性、精密度、重复性、准确性和稳定性均表现良好。

本研究在现有贴敷类医疗器械非法添加化学药物识别及含量测定相关文献及补充检验方法的基础上进行了创新性扩展。考虑到足用冷敷凝露的功效:缓解诸如发痒、水肿、红肿、肿痛、发热等体表不适症状,可能涉及添加消炎、抗菌、抗过敏和局麻类等药物。样品经甲醇提取后,通过高分辨液质联用法进行全扫描,将采集的样品质谱信息与内置的非法添加物质谱信息库进行比对,发现疑似添加对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因、硝酸咪康唑、甲硝唑、盐酸萘甲唑啉 6 种化学药物。鉴于现有补充检验方法仅包含了对乙酰氨基酚的检测,未包含盐酸利多卡因、氯霉素、硝酸咪康唑和甲硝唑和盐酸萘甲唑啉,因此本研究将定性分析的化学药物种类由补充检验方法中的 17 种扩展至包含以上 6 种疑似检出药物的 22 种。后经对照品定性确认样品中添加的药物有对乙酰氨基酚、氯霉素、盐酸利多卡因、硝酸咪康唑。

在尝试采用现有补充检验方法对未包含的 3 种药物进行含量测定时,发现结果并不理想。因此,本研究在参考药典方法的基础上,对 HPLC 的定量方法进行了改进,特别是针对含量较低盐酸利多卡因,选择了灵敏度更高的 LC-MS 方法,以实现更高的特异性和针对性。此外,相比于复杂的梯度洗脱程序,本方法缩短了出峰时间,使得方法更高效,更符合实际检验流程的要求。本研究在现有检测方法的基础上提高了覆盖面和适用性,具有更高筛选和准确定量的能力,为满足医疗器械监管需求提供了更多选择。

5 结论

足用冷敷凝露作为“物理降温设备类”医疗器械产品,明确规定不应含有发挥药理学、免疫学或者代谢作用的成分^[1]。然而,在本研究中,发现一款市售足用冷敷凝露产品添加了多达 4 种不同的药物成分。这一行为不仅违反了法规要求,更是威胁到了使用者的健康安全。此发现表明,对于该类产品,加强监管和确保产品安全是迫切需要的。监管的强化首先依赖于有效的检测方法。本研究针对市场上常见的足用冷敷凝露产品,并结合产品特定使用部位,有针对性地建立了具有更高的产品特异性,可同时鉴定 22 种非法添加药物的分析方法。为解决足用冷敷凝露类产品中非法添加药物这一亟需关注的问题提供了更具针对性的检测方法和技术支持,有助于确保患者使用该类产品时的健康安全。

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局. 第一类医疗器械产品目录[Z]. 2021-12-30
National Medical Products Administration. Catalog of Class I Medical Device Products[Z]. 2021-12-30
- [2] 李浴,周弦. 水凝胶冷敷敷料预防甘露醇所致静脉炎的效果研究[J]. 当代护士, 2020, 27(5): 89
LI Y, ZHOU X. Effect of hydrogel cold dressing on prevention of phlebitis caused by mannitol[J]. Today Nurse, 2020, 27(5): 89
- [3] 张爱华,张霞,邵晶晶,等. 水凝胶冷敷贴对减少功能性鼻内镜手术患者术中出血的效果研究[J]. 现代医学, 2023, 51(11): 1599
ZHANG AH, ZHANG X, SHAO JJ, et al. Effect of hydrogel cold compress on reducing intraoperative bleeding in patients undergo-

- ing functional nasal endoscopic surgery[J]. *Mod Med J*, 2023, 51(11): 1599
- [4] 陆文婷, 陈萍, 卞薇薇. 冷敷面膜在激光治疗后疼痛护理中的作用[J]. *组织工程与重建外科*, 2022, 18(4): 342
LU WT, CHENG P, BIAN WW. Clinical application of cold compress facial mask in pain management after laser therapy[J]. *J Tissue Eng Reconstr Surg*, 2022, 18(4): 342
- [5] 杜福映, 张花美, 王晨晓, 等. 远红外贴中 16 种非法添加药物的识别与含量测定[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(2): 329
DU FY, ZHANG HM, WANG CX, *et al.* Identification and determination of 16 drugs illegally added in far infrared stickers[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(2): 329
- [6] 庄玥, 黄艳婷, 蔡霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定药品中奈玛特韦等 5 种小分子抗病毒药物[J]. *分析科学学报*, 2024, 40(1): 65
ZHUANG Y, HUANG YT, CAI X, *et al.* Simultaneous determination of five small molecule antiviral drugs including remdesivir in drugs by HPLC-MS[J]. *J Anal Sci*, 2024, 40(1): 65
- [7] 黄芳, 邓欣, 张秋炎, 等. 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱质谱法快速筛查测定抗疲劳类保健食品中 112 种化学药[J]. *分析测试学报*, 2023, 42(10): 1221
HUANG F, DENG X, ZHANG QY, *et al.* Rapid screening of 112 kinds of illegally added chemical compounds in anti-fatigue health food by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole electrostatic field orbital trap mass spectrometry[J]. *J Instrum Anal*, 2023, 42(10): 1221
- [8] 徐红斌, 张申平, 杜茹芸, 等. 超高效液相色谱-Orbitrap 高分辨质谱用于减肥和壮阳类保健食品中 32 种非法添加药物的快速筛查和确证[J]. *色谱*, 2022, 40(6): 531
XU HB, ZHANG SP, DU RY, *et al.* Ultra-high performance liquid chromatography-orbitrap high-resolution mass spectrometry for rapid screening and identification of 32 illegally added drugs in slimming and anti-impotence health foods[J]. *Chin J Chromatogr*, 2022, 40(6): 531
- [9] 申一鸣, 冯峰, 金敏, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查保健品中 136 种非法添加降压药物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(24): 7964
SHEN YM, FENG F, JIN M, *et al.* Rapid screening of 136 kinds of illegally added antihypertensive drugs in health food by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *J Food Saf Food Qual*, 2022, 13(24): 7964
- [10] QI RR, WANG XY, HUANG M. Rapid screening of illegal additives in functional food using desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 229: 115351
- [11] LI MY, WANG L, WANG M, *et al.* Advances on hormones in cosmetics: illegal addition status, sample preparation, and detection technology[J]. *Molecules*, 2023, 28(4): 1980
- [12] 郑篮君, 舒展, 王琤帅, 等. 高效液相色谱-高分辨率四级杆-飞行时间质谱法测定祛痘类化妆品中 20 种非法添加抗感染类药物[J]. *广东化工*, 2024, 51(4): 125
ZHENG LJ, SHU Z, WANG ZS, *et al.* Determination of 20 illegally added anti-infective drugs in acne cosmetics by HPLC-Q-TOP-MS[J]. *Guangdong Chem Ind*, 2024, 51(4): 125
- [13] 牛水蛟, 于海英, 董亚蕾, 等. HPLC-MS/MS 法测定化妆品中非法添加的他克莫司和吡美莫司[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(10): 1759
NIU SJ, YU HY, DONG RL, *et al.* Determination of tacrolimus and pimecrolimus illegally added in cosmetics by HPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(10): 1759
- [14] 孙夏荣, 史达, 曹玉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定外用贴膏剂中非法添加 48 个化合物[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(3): 502
SUN XR, SHI D, CAO Y, *et al.* Simultaneous determination of 48 compounds illegally added in emplastrum by UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(3): 502
- [15] 刘路, 皮璟渔, 余永红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速定性和定量筛查贴敷类医疗器械产品非法添加的水杨酸甲酯[J]. *医疗装备*, 2024, 37(5): 39
LIU L, PI JY, YU YH, *et al.* Rapid screening and quantitative analysis of methyl salicylate which was illegally added into the medical dressings by UPLC-MS/MS[J]. *Med Equip*, 2024, 37(5): 39
- [16] 沈永, 刘雪婷, 刘爱娟, 等. 贴敷类医疗器械中薄荷脑等中药成分的分析及评价[J]. *中国药事*, 2023, 37(12): 1445
SHEN Y, LIU XT, LIU AJ, *et al.* Analysis and evaluation of menthol and other traditional Chinese medicine ingredients in applied medical devices[J]. *Chin Pharm Aff*, 2023, 37(12): 1445
- [17] 郭建博, 王建山, 林芳, 等. 市售外用抗鼻炎类凝胶产品中激素类添加物的检测及调查分析[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(12): 2127
GUO JB, WANG JS, LIN F, *et al.* Detection and investigation of hormone additives in external used gel products on market[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(12): 2127
- [18] 国家药品监督管理局. 贴敷类医疗器械中 17 种化学药物识别及含量测定补充检验方法[S]. 2022-01-25
National Medical Products Administration. Supplementary Inspection Method for Identification and Content Determination of 17 Chemical Drugs in Adhesive Medical Devices[S]. 2022-01-25
- [19] Commission Decision. 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results[S]. 2024
- [20] 董亚蕾, 牛水蛟, 乔亚森, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法测定防晒化妆品中 19 种非法添加化学成分[J]. *色谱*, 2022, 40(4): 343
DONG YL, NIU SJ, QIAO YS, *et al.* Determination of 19 illegally added chemical ingredients in hair loss prevention cosmetics by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. *Chin J Chromatogr*, 2022, 40(4): 343

(本文于 2024 年 2 月 23 日收到)