

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)11-0093-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.11.017



超高效液相色谱串联质谱法同时检测小儿止咳平喘类 中成药中 28 种非法添加化学成分*

高 萌, 崔佳惠, 撒志明, 贺 凯, 张家萌

(宁夏回族自治区药品检验研究院·宁夏药品质量控制与评价重点实验室, 宁夏 银川 750004)

摘要:目的 建立同时测定小儿止咳平喘类中成药中 28 种非法添加化学成分的超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法。方法 色谱柱为 Waters UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为乙腈-含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 甲酸铵(梯度洗脱), 流速为 0.3 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 2 μL; 电离方式为电喷雾电离正离子模式(ESI⁺), 采用多反应监测(MRM)模式进行定量分析。结果 28 种化学成分在各自质量浓度范围内与离子对峰面积的线性关系良好($R^2 > 0.995, n = 11$); 检测限为 0.005 ~ 0.010 μg, 定量限为 0.015 ~ 0.050 μg; 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 8.0% ($n = 6$); 平均回收率为 80.23% ~ 114.02%, RSD 为 0.82% ~ 7.71% ($n = 6$)。4 个品种 12 批儿童用中成药样品(小儿止咳糖浆 3 批, 小儿咳喘灵口服液 3 批, 小儿咳喘灵颗粒 3 批, 小儿清肺化痰颗粒 3 批)中, 有 2 批小儿咳喘灵颗粒样品检出咖啡因, 其含量分别为 2.75, 2.98 mg/kg, 其余 27 种成分均未被检出, 综合检出率为 16.67%。结论 所建立的方法灵敏、准确、快速, 可用于小儿止咳平喘类中成药中多种非法添加化学成分的定量分析。

关键词:超高效液相色谱串联质谱法; 止咳平喘; 儿童; 中成药; 非法添加化学成分

Determination of 28 Chemical Compounds Illegally Added in Pediatric Chinese Patent Medicines for Relieving Cough and Asthma by UPLC - MS / MS

GAO Meng, CUI Jiahui, HAN Zhiming, HE Kai, ZHANG Jiameng

(Ningxia Hui Autonomous Region Institute of Drug Control · Ningxia Key Laboratory of Pharmaceutical Quality Control and Evaluation, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: Objective To establish an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of 28 chemical components illegally added in pediatric Chinese patent medicines for relieving cough and asthma. **Methods** The chromatographic column was Waters UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), the mobile phase was acetonitrile-5 mmol/L ammonium formate containing 0.1% formic acid (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 2 μL. The ionization mode was the electrospray ionization positive ion mode (ESI⁺), and the quantitative analysis was carried out by the multi-reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The 28 chemical components showed a good linear relationship with the peak area of ion pairs within their respective mass concentration ranges ($R^2 > 0.995, n = 11$). The limit of detection was in the range of 0.005 - 0.010 μg, and the limit of quantification was in the range of 0.015 - 0.050 μg. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 8.0% ($n = 6$). The average recovery rates of 28 chemical components ranged from 80.23% to 114.02%, and the RSDs ranged from 0.82% to 7.71% ($n = 6$). Among the twelve batches of four varieties of pediatric Chinese patent medicines (three batches of Xiao'er Cough Syrup, three batches of Xiao'er Kechuanling Oral Liquid, three batches of Xiao'er Kechuanling Granules, and three batches of Xiao'er Qingfei Huatan Granules), caffeine was detected in two batches of Xiao'er Kechuanling Granules samples, with the contents of 2.75 mg/kg and 2.98 mg/kg, respectively, while the other 27 components were not

* 基金项目: 宁夏药品质量控制与评价重点实验室科研课题(2024年)。

第一作者: 高萌, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品、食品质量分析与质量标准, (电子邮箱)897633192@qq.com。

2010, 41(11): 849-851. [14] 曹子英, 史大鹏, 孙晓波. 酰氯产品减压蒸馏系统的扩能改造和优化设计[J]. 化工与医药工程, 2023, 44(3): 1-6.

[11] 管 岚, 蔡学艳, 沈 双. HPLC 法测定氨基地平氢氯噻嗪缬沙坦片中的有关物质[J]. 临床医药文献杂志, 2018, 5(84): 180. [15] 廖文婷, 李嘉欣, 郑 枫. 柱前衍生化 HPLC 法检测艾拉莫德中特戊酰氯的残留量[J]. 中国药师, 2020, 23(3): 591-592.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1830-1831. [16] 邵方娟, 何燕琳, 芦 丽, 等. 柱前衍生化液质联用法测定氯乙酰氯试剂中的乙酰氯和二氯乙酰氯[J]. 化学试剂, 2024, 46(4): 102-107.

[13] 牛宇岚, 李 敏, 段海龙, 等. 4-氯丁酰氯的合成研究[J]. 精细化工中间体, 2006, 36(3): 21-22. (收稿日期: 2025-09-18; 修回日期: 2026-01-27)

detected in samples, with a comprehensive detection rate of 16.67%. **Conclusion** The established method is sensitive, accurate, and rapid, which can be used for the quantitative analysis of multiple illegally added chemical components in pediatric Chinese patent medicines for relieving cough and asthma.

Key words: UPLC - MS / MS; relieving cough and asthma; children; Chinese patent medicines; illegal addition of chemical components

儿童的各器官功能发育不完全, 临床用药治疗窗较窄。中成药的作用温和, 不良反应少, 其临床儿童用药广受青睐^[1]。我国儿童呼吸道疾病就诊率占门诊总量的60%以上, 小儿止咳平喘类中成药在临床应用广泛^[2-3]。为追求速效, 部分中成药非法添加镇咳类、平喘类、糖皮质激素类等化学成分, 可能导致呼吸抑制、心血管不良反应、生长发育障碍等风险, 严重危害患儿的用药安全^[4-5]。尽管相关部门已加强监管, 但因非法添加手段隐蔽、种类多样, 传统检测方法存在灵敏度不足、通量低等局限性, 难以满足复杂基质中多组分同步筛查的需求^[6-7]。现行标准《中成药药品检验补充检验方法和检验项目批准件》(编号2009031)仅覆盖少数常见添加物, 对新型掺杂成分(如 β_2 受体激动剂西马特罗等)缺乏全面、快速的筛查手段^[8]。超高效液相色谱串联质谱(UPLC - MS / MS)法通过三重四极杆质谱的多反应监测(MRM)工作模式, 能有效提升检测体系灵敏度, 通过离子对的特异性选择, 有效克服了中成药复杂基质的干扰和假阳性的出现^[9-10]。与传统方法相比, UPLC - MS / MS法通量优势显著, 在缩短分析时间的同时可实现多组分同步检测^[11]。本研究中建立了同时检测止咳平喘类中成药中28种非法添加化学成分(包括激素、平喘药、镇咳药等)的UPLC - MS / MS法, 以期建立非法添加快速筛查数据库及相关药品监管提供数据支持。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC - 40D型超高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司); SCIEX AB 4500型三重四极杆质谱仪(美国AB Sciex公司); XS205型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司, 精度为万分之一); CS5200DE型超声波清洗仪(莱普特科学仪器 <北京> 有限公司, 功率为200 W, 频率为40 kHz)。

1.2 试剂

对照品咖啡因(批号为171215 - 202013, 含量为99.7%), 甲氧苄啶(批号为100031 - 202207, 含量为100.0%), 对乙酰氨基酚(批号为100018 - 202312, 含量为100.0%), 地西洋(批号为171225 - 202406, 含量为99.8%), 盐酸苯海拉明(批号为100066 - 202108, 含量为100.0%), 甲芬那酸(批号为100190 - 201104, 含量为99.9%), 双氯芬酸钠(批号为100334 - 201803, 含量为100.0%), 氢化可的松(批号为100152 - 202409, 含量为99.7%), 曲安奈德(批号为100055 - 202105, 含量为99.3%), 地塞米松(批号为100129 - 201907, 含量

为99.8%), 沙丁胺醇(批号为100204 - 201103, 含量为100.0%), 茶碱(批号为100121 - 201805, 含量为99.9%), 盐酸二氧丙嗪(批号为100299 - 201803, 含量为99.8%), 盐酸氨溴索(批号为100599 - 202307, 含量为100.0%), 二羟丙茶碱(批号为100417 - 201603, 含量为100.0%), 硫酸特布他林(批号为100273 - 202404, 含量为99.4%), 盐酸丙卡特罗(批号为100275 - 202405, 含量为96.9%), 盐酸异丙嗪(批号为100422 - 202004, 含量为99.5%), 氢溴酸右美沙芬(批号为100201 - 202205, 含量为94.8%), 枸橼酸喷托维林(批号为100432 - 201803, 含量为99.8%), 磷酸苯丙哌林(批号为100237 - 201804, 含量为99.8%), 盐酸溴己新(批号为100427 - 202204, 含量为100.0%), 多索茶碱(批号为100625 - 202003, 含量为99.9%), 醋酸泼尼松(批号为100012 - 202108, 含量为99.7%), 磺胺甲噁唑(批号为100025 - 201906, 含量为99.8%), 富马酸酮替芬(批号为100230 - 201904, 含量为99.8%), 马来酸氯苯那敏(批号为100047 - 202008, 含量为99.7%), 均购自中国食品药品检定研究院; 西马特罗对照品(坛墨质检国家标准物质中心, 批号为24070217, 含量为99.9%); 乙腈(质谱纯), 甲醇、甲酸、乙酸(色谱纯), 甲酸铵, 均购自默克化工有限公司; 12批样品均为银川市零售药店在售儿童用中成药, 包括小儿止咳糖浆3批(L01公司, 批号分别为2405006GN, 2405007GN, 2405008GN), 小儿咳喘灵口服液3批(L02公司, 批号分别为2401029 - 0, 2401030 - 0, 2401031 - 0), 小儿咳喘灵颗粒3批(L03公司, 批号分别为20231209, 20231211, 20241007), 小儿清肺化痰颗粒3批(L04公司, 批号分别为24020321, 24020322, 24020520); 4批阴性样品为经本方法预试验确认不含28种目标化合物的同剂型样品, 涵盖小儿咳喘灵颗粒、小儿咳喘灵口服液、小儿止咳糖浆、小儿清肺化痰颗粒4种剂型。

2 方法与结果

2.1 试验条件

1) 色谱条件。色谱柱: Waters UPLC BEH C_{18} 柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m); 流动相: 乙腈(A) - 含0.1%甲酸的5 mmol / L甲酸铵(B), 梯度洗脱(0 ~ 1.0 min时95%B, 1.0 ~ 5.0 min时95%B \rightarrow 5%B, 5.0 ~ 8.0 min时5%B); 流速: 0.3 mL / min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 2 μ L。

2) 质谱条件。监测模式: MRM; 载气(N_2)压力: (0.4 \pm 0.02) MPa; 离子源温度: (400 \pm 5) $^{\circ}$ C; 喷射电压:

(5 500 ± 50) V; 气帘气(CUR): (35 ± 1) psi; 喷雾气(GS1 / GS2): (55 ± 2) psi; 电离方式: 电喷雾电离正离子模式(ESI⁺)。各化合物的监测离子对、去簇电压(DP)及碰撞能量(CE)参数见表1, MRM 色谱图见图1。

表1 28种化学成分的质谱参数

Tab. 1 MS parameters of 28 chemical components

序号	化学成分	保留时间 (min)	母离子 MS1(<i>m/z</i>)	子离子 MS2(<i>m/z</i>)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (V)
1	西马特罗	2.16	220.0	202.0 [*] , 160.0	65	13, 22
2	硫酸特布他林	2.23	226.2	152.0 [*] , 107.1	70	21, 36
3	沙丁胺醇	2.30	240.2	148.1 [*] , 222.1	68	24, 14
4	盐酸丙卡特罗	2.52	291.0	231.0 [*] , 162.0	50	27, 33
5	对乙酰氨基酚	2.53	152.1	110.0 [*] , 93.0	76	23, 31
6	二羟丙茶碱	2.85	255.0	180.9 [*] , 124.0	76	27, 41
7	茶碱	2.89	181.1	124.1 [*] , 96.0	80	26, 32
8	甲氧苄啶	2.92	291.1	230.1 [*] , 123.1	60	33, 34
9	咖啡因	3.23	195.0	110.0 [*] , 138.0	50	32, 29
10	磺胺甲噁唑	3.51	254.1	156.0 [*] , 92.0	76	23, 33
11	多索茶碱	3.52	267.0	223.0 [*] , 181.0	70	24, 27
12	盐酸二氧丙嗪	3.61	317.1	86.0 [*] , 272.0	60	32, 28
13	富马酸酮替芬	3.91	310.2	96.3 [*] , 213.0	90	36, 36
14	盐酸氨溴索	4.03	379.1	264.1 [*] , 116.2	80	22, 24
15	马来酸氯苯那敏	4.11	275.1	230.1 [*] , 167.1	70	38, 52
16	氢溴酸右美沙芬	4.25	272.2	171.1 [*] , 147.1	100	52, 43
17	盐酸苯海拉明	4.29	256.1	167.0 [*] , 164.9	56	21, 63
18	盐酸异丙嗪	4.53	285.2	86.1 [*] , 198.1	55	25, 31
19	盐酸溴己新	4.58	377.0	114.2 [*] , 263.7	58	29, 42
20	枸橼酸喷托维林	4.66	334.3	100.1 [*] , 145.1	70	32, 34
21	磷酸苯丙哌林	4.78	310.2	126.2 [*] , 106.9	85	33, 33
22	氢化可的松	4.87	363.2	121.1 [*] , 105.0	80	31, 68
23	地塞米松	5.07	393.2	373.4 [*] , 355.2	80	15, 15
24	醋酸泼尼松	5.08	401.2	295.2 [*] , 147.2	80	23, 40
25	曲安奈德	5.12	435.2	415.2 [*] , 397.2	80	15, 15
26	地西洋	5.44	285.1	193.0 [*] , 154.0	80	40, 36
27	双氯芬酸钠	5.79	296.2	215.0 [*] , 250.0	32	26, 19
28	甲芬那酸	6.13	242.1	224.1 [*] , 209.0	40	21, 39

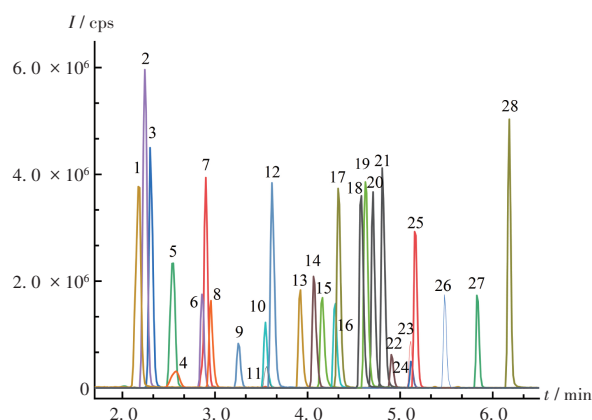
注: *为定量离子, *m/z*为质荷比。

Note: * refers to quantitative ions, *m/z* refers to mass - to - charge ratio.

2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取经纯度校正的28种对照品各10 mg, 精密称定, 置不同10 mL棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 制成质量浓度均为1 mg/mL的单一对照品贮备液。精密量取上述单一对照品贮备液各1 mL, 置同一50 mL棕色容量瓶中, 加甲醇定容, 即得含28种化学成分的混合对照品溶液。临用现配。

供试品溶液: 取固体样品适量, 置研钵中研磨成均



注: 峰号1 - 28分别对应表1中相应序号的化学成分。

图1 28种化学成分的多反应监测色谱图

Note: Peak numbers 1 - 28 correspond to the corresponding chemical components in Tab. 1.

Fig. 1 MRM chromatograms of 28 chemical components

匀的粉末, 取0.5 g, 精密称定, 置25 mL容量瓶中, 加甲醇溶解, 超声提取(功率为200 W, 频率为40 kHz) 20 min, 放冷至室温, 用甲醇定容, 摇匀, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 取滤液, 即得固体样品供试品溶液。取液体样品适量, 摇匀, 精密量取2 mL, 自固体样品供试品溶液制备方法中“置25 mL容量瓶中”后同法制备, 即得液体样品供试品溶液。

阴性对照品溶液: 取各剂型阴性样品适量, 按供试品溶液制备方法分别制备固体和液体阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验: 取2.2项下固体和液体阴性对照品溶液各适量, 按2.1项下试验条件进样测定, 记录色谱图。结果所有阴性样品在28种目标化合物的保留时间处均未见明显色谱峰[信噪比(*S/N*) < 3], 样品基质不干扰目标化合物的测定, 表明方法专属性强, 无假阳性干扰。

线性关系考察与检测限(LOD)和定量限(LOQ)确定: 取2.2项下混合对照品溶液适量, 用甲醇逐级稀释成28种目标化合物的质量浓度分别为0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0, 200.0, 500.0 ng/mL的系列混合对照品溶液, 精密量取2 μL, 按2.1项下试验条件进样测定, 以进样质量浓度(*X*, ng/mL)为横坐标、对应目标物定量离子对峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归。结果见表2, 表明这28种目标化合物均在各自质量浓度范围内与离子对峰面积线性关系良好。取系列混合对照品溶液各适量, 按2.1项下试验条件进样测定, 以*S/N*为3:1时对应的进样量为LOD, 以*S/N*为10:1时对应的进样量为LOQ。结果见表2。

精密度试验: 精密量取2.2项下混合对照品溶液(各组分质量浓度均为50 ng/mL)适量, 按2.1项下试验条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果28种化学

表2 28种化学成分的线性关系考察及检出限和定量限确定结果($n = 11$)

Tab. 2 Results of the linear relation test, limits of detection and limits of quantification of 28 chemical components ($n = 11$)

化学成分	回归方程	R^2	线性范围 (ng/mL)	检测限 (μg)	定量限 (μg)
西马特罗	$Y = 2.32 \times 10^4 X + 2.07 \times 10^4$	0.998 5	5.0~500.0	0.010	0.050
硫酸特布他林	$Y = 2.45 \times 10^4 X + 1.05 \times 10^4$	0.999 5	5.0~500.0	0.010	0.050
沙丁胺醇	$Y = 1.92 \times 10^4 X + 7.79 \times 10^3$	0.999 6	5.0~500.0	0.010	0.050
盐酸丙卡特罗	$Y = 1.87 \times 10^4 X + 7.85 \times 10^3$	0.999 3	5.0~500.0	0.010	0.050
对乙酰氨基酚	$Y = 4.85 \times 10^4 X + 8.59 \times 10^4$	0.996 7	5.0~500.0	0.010	0.050
二羟丙茶碱	$Y = 1.55 \times 10^4 X + 1.62 \times 10^4$	0.999 5	5.0~500.0	0.010	0.050
茶碱	$Y = 4.89 \times 10^4 X + 3.62 \times 10^4$	0.998 7	5.0~500.0	0.010	0.050
甲氧苄啶	$Y = 2.96 \times 10^4 X + 5.31 \times 10^4$	0.999 1	2.0~500.0	0.008	0.025
咖啡因	$Y = 1.88 \times 10^4 X + 2.09 \times 10^4$	0.997 8	3.0~500.0	0.010	0.035
磺胺甲噁唑	$Y = 2.55 \times 10^4 X + 3.03 \times 10^4$	0.997 8	3.0~500.0	0.010	0.035
多索茶碱	$Y = 2.55 \times 10^4 X + 3.03 \times 10^4$	0.997 8	5.0~500.0	0.010	0.050
盐酸二氧丙嗪	$Y = 4.55 \times 10^4 X + 2.86 \times 10^4$	0.997 8	3.0~500.0	0.010	0.035
富马酸酮替芬	$Y = 4.21 \times 10^4 X + 4.19 \times 10^4$	0.999 0	1.0~500.0	0.005	0.015
盐酸氨溴索	$Y = 4.29 \times 10^4 X + 5.26 \times 10^4$	0.996 8	1.0~500.0	0.005	0.015
马来酸氯苯那敏	$Y = 4.71 \times 10^4 X + 6.10 \times 10^4$	0.999 5	1.0~500.0	0.005	0.015
氢溴酸右美沙芬	$Y = 3.87 \times 10^4 X + 2.93 \times 10^4$	0.999 3	1.0~500.0	0.005	0.015
盐酸苯海拉明	$Y = 7.53 \times 10^4 X + 6.69 \times 10^4$	0.995 7	2.0~500.0	0.008	0.025
盐酸异丙嗪	$Y = 6.76 \times 10^4 X + 6.41 \times 10^4$	0.998 3	1.0~500.0	0.005	0.015
盐酸溴己新	$Y = 8.02 \times 10^4 X + 6.50 \times 10^4$	0.998 5	1.0~500.0	0.005	0.015
枸橼酸喷托维林	$Y = 6.62 \times 10^4 X + 4.46 \times 10^4$	0.999 2	1.0~500.0	0.005	0.015
磷酸苯丙哌林	$Y = 7.36 \times 10^4 X + 5.49 \times 10^4$	0.998 5	2.0~500.0	0.008	0.025
氯化可的松	$Y = 1.39 \times 10^4 X + 1.82 \times 10^4$	0.999 7	5.0~500.0	0.010	0.050
地塞米松	$Y = 1.72 \times 10^4 X + 8.27 \times 10^3$	0.999 7	2.0~500.0	0.008	0.025
醋酸泼尼松	$Y = 1.10 \times 10^4 X + 3.42 \times 10^3$	0.999 8	5.0~500.0	0.010	0.050
曲安奈德	$Y = 5.12 \times 10^4 X + 5.17 \times 10^4$	0.998 3	1.0~500.0	0.005	0.015
地西洋	$Y = 2.34 \times 10^4 X + 4.55 \times 10^4$	0.995 2	2.0~500.0	0.008	0.025
双氯芬酸钠	$Y = 3.49 \times 10^4 X + 1.69 \times 10^4$	0.999 1	2.0~500.0	0.008	0.025
甲芬那酸	$Y = 7.35 \times 10^4 X + 8.27 \times 10^4$	0.997 8	3.0~500.0	0.010	0.035

成分峰面积的RSD为0.91%~3.52%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(加标浓度0.1 mg/kg)适量,分别于室温放置0,4,8,12,24,48 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果28种化学成分峰面积的RSD为1.15%~5.24%($n = 6$),表明供试品溶液室温放置48 h内稳定性良好。

重复性试验:取2.2项下供试品溶液(加标浓度0.1 mg/kg)适量,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果28种化学成分的RSD为0.82%~7.71%($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取阴性样品各适量,平行6份,分别加28种化学成分的(低(各组分定量限)、中(0.1 mg/kg)、

表3 28种化学成分加样回收试验结果($\%, n = 6$)

Tab. 3 Results of the recovery test of 28 chemical components ($\%, n = 6$)

化学成分	加标量LOQ		加标量0.15 μg		加标量0.5 μg	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
西马特罗	85.31	5.62	88.70	6.29	86.82	4.19
硫酸特布他林	88.91	4.03	90.19	2.80	92.31	3.28
沙丁胺醇	91.52	1.69	92.31	3.03	93.31	2.78
盐酸丙卡特罗	81.21	7.32	85.90	3.58	86.41	4.47
对乙酰氨基酚	91.22	2.97	88.71	5.82	93.52	2.69
二羟丙茶碱	87.98	3.30	84.58	3.12	87.23	3.41
茶碱	88.44	3.57	89.23	4.99	92.02	4.41
甲氧苄啶	83.93	3.21	86.99	2.12	85.41	1.87
咖啡因	82.28	4.42	84.51	2.88	83.12	3.12
磺胺甲噁唑	83.54	3.33	87.69	2.52	90.39	2.16
多索茶碱	82.17	5.51	84.82	5.01	87.54	5.46
盐酸二氧丙嗪	87.87	3.02	91.17	2.23	84.40	1.71
富马酸酮替芬	100.22	4.70	95.67	4.67	94.41	5.01
盐酸氨溴索	85.62	4.67	91.20	4.03	89.03	5.52
马来酸氯苯那敏	109.87	4.23	114.02	5.89	99.89	5.01
氢溴酸右美沙芬	87.21	2.48	93.21	0.82	91.58	1.12
盐酸苯海拉明	87.53	3.31	92.01	1.89	93.31	1.41
盐酸异丙嗪	91.18	2.82	94.72	2.02	93.92	1.53
盐酸溴己新	92.31	3.91	95.49	4.31	91.38	3.26
枸橼酸喷托维林	102.57	6.37	107.87	5.22	93.47	3.31
磷酸苯丙哌林	104.51	7.71	110.62	4.32	96.67	6.51
氯化可的松	92.52	5.38	99.71	3.04	98.03	2.89
地塞米松	111.68	4.37	109.61	4.92	101.71	3.31
醋酸泼尼松	88.60	1.81	94.48	2.22	94.42	1.04
曲安奈德	89.32	4.71	94.49	3.60	93.32	3.34
地西洋	95.47	7.27	101.32	5.21	91.68	4.33
双氯芬酸钠	86.53	2.82	89.41	2.66	88.67	1.53
甲芬那酸	80.23	5.47	82.32	3.28	82.04	3.41

高(0.5 mg/kg)浓度的混合对照品溶液,按2.2项下供试品溶液制备方法制备阴性加标溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表3,表明方法准确度良好。

2.4 样品含量测定

取12批儿童用中成药样品(小儿止咳糖浆3批,小儿咳喘灵口服液3批,小儿咳喘灵颗粒3批,小儿清肺化痰颗粒3批)各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算含量。结果有2批小儿咳喘灵颗粒样品中检出咖啡因,其含量分别为2.75,2.98 mg/kg,其余27种成分均未被检出,综合检出率为16.67%(2/12)。但其处方组成并不含该成分,表明检测样品存在非法添加咖啡因成分的风险。

3 讨论

3.1 质谱条件优化

前期试验中,在针泵模式下,分别将28种化合物的单一对照品溶液注入质谱仪,依据各化合物分子量,Q1全扫描调节参数,以确定准分子离子峰;再对确定的准分子离子峰进行MS2全扫描,选择相对丰度最高的碎片离子作为定量离子,以次高丰度碎片离子作为定性离子。在MRM模式下进一步优化对应DP和CE。最终确定2.1项下质谱条件。

3.2 色谱条件优化

前期试验中,分别考察了3种常用类型色谱柱[Waters Atlantis T₃柱(100 mm × 2.1 mm, 3 μm), Waters UPLC BEH HILIC柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), Waters UPLC BEH C₁₈柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)],因涉及多组分分离,综合考虑峰形、分离效果及响应情况,色谱柱最终选择Waters UPLC BEH C₁₈柱。

UPLC-MS/MS法通常选用甲醇/乙腈-水为流动相,并通过添加低浓度的有机酸、氨水及胺类试剂以达到调节酸碱度、改善峰形、提高离子化效率的作用^[12-13]。双氯酚酸钠含有羧基,在酸性溶液中将失去1个Na⁺,增加1个H⁺,故可用正离子模式检测。本研究中基于溶剂洗脱能力及基质干扰评估,首选乙腈作为有机相溶剂。另外分别考察了以下3种流动相体系的色谱分离等性能,即乙腈-0.1%甲酸,乙腈-含0.1%甲酸的5 mmol/L甲酸铵,乙腈-含0.1%甲酸的10 mmol/L甲酸铵。综合评估响应程度、峰形、分离度等,流动相最终选择乙腈-含0.1%甲酸的5 mmol/L甲酸铵。

3.3 提取条件优化

前期试验中,以阴性样品为基质(加标量为2.5 mg/kg),分别比较了甲醇、乙腈及1%乙酸甲醇的提取效果,结果显示,甲醇较乙腈具有背景噪音小、试剂毒性低、价格低的优势,而酸化甲醇未见有明显提高回收率的表现;进一步比较了超声提取和振摇提取2种提取方式,结果显示,超声提取的效果显著优于振摇提取;还比较了不同提取时间对回收率的影响,结果显示,超声提取20 min后的回收率无明显差异。故本研究中的提取条件最终确定为以甲醇为提取溶剂,超声提取20 min。

3.4 方法评价

本研究中建立了1种高灵敏度、高选择性的UPLC-MS/MS检测系统,可用于同时筛查小儿止咳平喘类中成药中28种典型非法添加化学成分(含西马特罗等)。该方法弥补了现行标准的局限性,以应对非法添加手段隐蔽化、多样化的新趋势。已有报道多针对成人中成药或单一类别添加物(如仅检测糖皮质激素),而本研究中聚焦于小儿止咳平喘类中成药这类因儿童特殊生

理需求而备受关注的药品。此前的研究较少,且部分报道的多组分检测方法存在前处理复杂、回收率不稳定等问题^[14-15]。本研究中通过优化色谱分离条件与质谱参数,显著提升了目标物的检测效率与准确性,实现了快速同步定量分析,为建立非法添加快速筛查数据库、小儿用药安全综合评估及监管提供了数据支持。

参考文献

- [1] 马礼俊,姜紫薇,冉春浪. 2020年版《中国药典(一部)》儿童中成药收载情况分析[J]. 中国药业,2021,30(24):6-8.
- [2] ANTOON JW, FEINSTEIN JA, GOLDMAN JL. Advancing pediatric medication safety using real-world data: Current problems and potential solutions [J]. J Hosp Med, 2023, 9(18): 865-869.
- [3] 石了,魏亚南,赵艳蛟. 中国呼吸系统儿童专用药可及性研究[J]. 农药,2024,41(22):3202-3209.
- [4] 覃蓝,王华,杨梓莹. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定中成药中的19种非法添加化学药物[J]. 分析仪器,2024,6(17):17-23.
- [5] GAO JM, MA CY, DUAN Q. Simultaneous Determination of 16 Illegally Added Drugs in Capsule Dietary Supplements Using a QuEChERS Method and HPLC-MS/MS [J]. Chromatographia, 2021, 11(84):1009-1023.
- [6] 刘延忠,刘东升,朱旭江. 超高效液相色谱-串联质谱法检测中药饮片中的8种黄色素染色剂[J]. 中国药业,2021,17(30):85-88.
- [7] ZENG WJ, QIU YQ, HUANG YT, et al. Quantitative structure-retention relationship by databases of illegal additives [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 122:105500.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 药品检验补充检验方法和检验项目批准件(编号2009031) [EB/OL]. (2009-12-04) [2026-05-05]. <https://www.sdtdata.com/fx/fmfd/statuteLibcard/304583.html>.
- [9] 杨晓广. 超高效液相色谱-串联质谱在食品农药残留和兽药残留及添加剂检测分析中的应用[J]. 食品安全导刊, 2021(12):170-172.
- [10] 张居舟,李静,章萍萍,等. 超高效液相色谱-串联质谱法准确测定食品中非法添加的3种新型降压药[J]. 色谱, 2024,10(42):954-962.
- [11] 胡青,孙健,季申. 中药和食品中非法添加化学药品新趋势及监管对策[J]. 中国食品药品监管,2022,2(3):88-95.
- [12] 马之攀,任理顺,侯军. 液质联用仪最佳校准条件选择分析[J]. 品牌与标准化,2021(6):25-29.
- [13] 马维伟,张德芹,张雨薇. 基于高效液相色谱(HPLC)的常见饮料里咖啡因定量分析检测方法优化及应用研究[J]. 中外食品工业,2025,4(22):64-66.
- [14] 汤慧,张萍,吴静. HPLC-DAD测定止咳平喘类中成药中12种化学药物[J]. 中南药学,2023,7(21):1917-1920.
- [15] 邢征宇,刘斌,周敏. 平喘镇咳中成药中4种非法添加化学药品检验研究[J]. 化工管理,2024,10(28):40-43.

(收稿日期:2025-06-04;修回日期:2026-05-06)