

蟾皮提取物固体脂质纳米粒的冻干工艺研究

张磊^{1a}, 蔡晓瑶², 张莉³, 向晓辉^{1b}, 徐学君⁴

作者单位:¹武警特色医学中心,^a药剂科,^b肝胆胰脾中心,天津 300162;

²武警第一机动总队,河北 石家庄 050800;³武警后勤学院,天津 300162;

⁴武警安徽总队医院药剂科,安徽 合肥 230000

通信作者:向晓辉,男,副教授,硕士生导师,研究方向为胰腺纤维化的发生机制与临床治疗, E-mail:xiaohuixiang@163.com

基金项目:天津市自然科学基金(17JCYBJC26700)

摘要:目的 对蟾皮提取物固体脂质纳米粒冻干工艺进行考察。方法 以外观、复溶性、颗粒形态为指标,筛选最佳的冻干保护剂和冻干工艺。结果 选择乳糖、甘露醇、蔗糖、磷脂(300 mg)比例为 1.5:2:1.5:1 作为混合保护剂,优化后的冻干工艺为-40℃下预冻 8 h,-45℃下升华干燥 20 h,25℃下解析干燥 4 h。结论 通过优化保护剂和冻干工艺,制备的冻干固体脂质纳米粒外观饱满,复溶性好,稳定性得到显著提高。

关键词:华蟾蜍毒素/分离和提纯; 纳米球; 冷冻干燥法; 药物稳定性; 包封率; 冻干保护剂; 正交试验

Study on the freeze-drying technology of solid lipid nanoparticles from toad skin extract

ZHANG Lei^{1a}, CAI Xiaoyao², ZHANG Li³, XIANG Xiaohui^{1b}, XU Xuejun⁴

Author Affiliations: ^{1a}Department of Pharmacy, ^{1b}Department of Hepatopancreatobiliary and Splenic Medicine, Armed Police Characteristic Medical Center, Tianjin 300162, China; ²The First Mobile Command of PAP, Shijiazhuang, Hebei 050800; ³Logistics University of PAP, Tianjin 300162, China; ⁴Department of Pharmacy, Anhui Provincial Corps Hospital of PAP, Hefei, Anhui 230000, China

Abstract: Objective To optimize solid lipid nanoparticles freeze-drying technology and prescription. **Method** The freeze-drying technology and types of freeze-drying protective additive were selected based on appearance, re-dissolution and microparticles morphology. **Results** The optimal freeze-drying protective additive was mixed by lactose, mannitol, sucrose, phospholipid (300mg) at 1.5:2:1.5:1 ratio. After optimized, the freeze-drying process was prefreezing 8h under -40℃, sublimation-drying 20h under -45℃, desorption drying 4h under 25℃. **Conclusion** By optimizing the protective agent and lyophilization process, the freeze-drying solid lipid nanoparticles were prepared with plump appearance, a good re-dissolution and significantly improved stability.

Key words: Cinobufagin/isolation & purification; Nanospheres; Freeze drying; Drug stability; Drug entrapment efficiency; Freeze-drying protective additive; Orthogonal test

蟾皮提取物是中华大蟾蜍的干燥表皮经过煎煮得到的产物,其内含有华蟾酥毒基(Cinobufagin, CBG)、酯蟾毒配基(Resibufogenin, RBG)等多种脂溶性成分,具有抗癌、强心利尿、麻醉、提高机体免疫力等功效^[1-2]。其临床应用注射液剂型存在局部刺激性和治疗窗窄等副作用^[3-4]。因此前期将蟾皮提取物^[5]制成固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticle, SLN)^[6],所得SLN表现出良好的缓释作用^[7]。但固体脂质纳米粒的混悬液在长期存储过程中易发生聚集、沉淀、水解以及磷脂氧化等现象。文献表明真空冷冻干燥、喷雾干燥、超临界流体技术^[8-10]等都可以提高SLN的稳定性。因此,本试验采用真

空冷冻干燥法制备冻干蟾皮提取物SLN,通过正交试验等方法优化冻干保护剂及工艺,并以蟾皮提取物中有效成分CBG、RBG的包封率为指标,评价冻干工艺对SLN稳定性的影响。本研究起止时间为2011年4月至2017年12月。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验仪器 LC-20AT液相色谱仪(LC-20AT二元泵,SPD-20A型紫外检测器,CTO-10AS型柱温箱,日本shimadzu公司);AT250分析天平(1/100000,瑞士METTLER TOLEDO公司);JY92-2D型超声波细胞破碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);

EYELA 冷冻干燥机(FDU-1200, 东京理化公司)。

1.1.2 试验试剂 华蟾酥毒基对照品(CBG, 中国药品生物制品检定所, 110803-200504); 酯蟾毒配基对照品(RBG, 中国药品生物制品检定所, 110718-200507); 蟾皮(批号 090310)购自安徽亳州千草药业饮片厂, 蟾皮提取物浸膏(自制, 含 CBG 和 RBG 分别为: 1.824 mg/g 和 1.347 mg/g); 注射用卵磷脂(批号 201403012, 上海太伟药业有限公司); 山嵛酸甘油酯(上海卡乐康公司); 甲醇(色谱纯, 批号 20150603, 天津市康科德科技有限公司); 乙腈(色谱纯, 批号 20140311, 天津市康科德科技有限公司); 甘露醇(批号 20150812 北京奥博星生物科技责任技术有限公司), 蔗糖(批号 20150923, 天津市东丽区天大化学试剂厂), 乳糖(批号 20150412, 天津市化学试剂一厂), 葡萄糖(批号 20151001, 天津市东丽区天大化学试剂厂)。

1.2 蟾皮提取物 SLN 包封率测定方法的建立

1.2.1 色谱条件的确立 色谱柱为 ODS-SP 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-三氟乙酸(60:40:0.1), 柱温为 50 ℃, 流速为 0.5 mL/min, 检测波长 296 nm, 进样量 20 μL。

1.2.2 对照品溶液制备 精密称取 CBG、RBG 标准品 86 mg 和 78 mg, 甲醇定容至 100 mL, 制得浓度分别为 860.00 和 780.00 μg/mL, 而后精密吸取 1 mL 至 10 mL 量瓶, 甲醇定容制得浓度分别为 86.00 和 78.00 μg/mL 的 CBG、RBG 对照品溶液。

1.2.3 标准曲线 分别精密吸取 50、100、150、200、250、300 μL 对照品溶液, 置于 10 mL 量瓶, 用甲醇定容, 浓度为 0.43、0.86、1.29、1.72、2.15、2.58 μg/mL, 按照“1.2.2”项下色谱条件测定 CBG 与 RBG 峰面积, 分别绘制标准曲线并做线性回归。

1.2.4 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 200 μL 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 得 CBG 和 RBG 的质量浓度分别为 1.72 μg/mL 和 1.56 μg/mL 的溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 计算 CBG 和 RBG 峰面积的 RSD 值。

1.2.5 精密度试验 吸取“1.2.5”项下 CBG、RBG 浓度为 1.72 μg/mL 和 1.56 μg/mL 的溶液一天内连续进样 6 次, 计算 CBG 和 RBG 峰面积的 RSD 值; 另将上述混合对照品溶液, 室温避光保存, 隔天进样, 连续 6 d, 计算 CBG 和 RBG 峰面积的 RSD 值。

1.2.6 蟾皮提取物 SLN 的制备 参照前期试验文献^[11]方法: 精密称取 300 mg 卵磷脂、100 mg 山嵛酸甘油酯、300 mg 浸膏溶于 10 mL 乙醇中, 加热至 80 ℃ 溶解形成油相; 同时将 42 mL 5% P188 以及 8

mL 0.5% Tween 80 水溶液加热至同温度, 将油相缓慢滴入其中, 100 r/min 高速搅拌乳化 150 min。随即用 400 W 探头超声分散 4 min(间歇 10 s、持续 20 s), 冰浴搅拌 15 min, 用超纯水定容至 60 mL, 得到淡黄色 SLN 混悬液。

1.2.7 蟾皮提取物 SLN 包封率的测定 取“1.2.1”项下制备的蟾皮提取物 SLN 混悬液 5 mL, 放入透析袋中, 而后置于 100 mL 的 PH 7.8 的 PBS 溶液中, 室温下 1 000 r/min 搅拌透析液, 于 4 h 吸取 1 mL 透析液进行 HPLC 分析, 测得透析液中 CBG 浓度为 c_1 , RBG 浓度为 c_2 , CBG 包封率(EE%) = (投药量_{CBG} - c_1 × 100)/投药量_{CBG} × 100%, RBG 包封率(EE%) = (投药量_{RBG} - c_2 × 100)/投药量_{RBG} × 100%。

1.3 冻干工艺的考察

1.3.1 预冻时间、温度的考察 取已制备好的蟾皮提取物 SLN 混悬液 60 mL, 加入 600 mg 甘露醇, 混匀后于 -40 ℃ 条件下, 以外观、复溶时间、颗粒形态为指标, 考察预冻时间分别为 4、6、8、12、24 h 对冻干 SLN 的影响; 另取已制备好蟾皮提取物 SLN 混悬液 60 mL, 加入 600 mg 甘露醇, 混匀后考察在 -20 ℃、-40 ℃、-60 ℃^[12] 下预冻 8 h 对冻干 SLN 的影响。

1.3.2 升华干燥时间的考察 本试验设定升华干燥温度 -45 ℃, 取已制备好的蟾皮提取物 SLN 混悬液 60 mL, 加入 600 mg 甘露醇, -40 ℃ 下预冻 8 h 后, 考察升华干燥 12、16、20、24 h 对冻干 SLN 的影响。

1.3.3 解析干燥时间的考察 本试验设定解析干燥温度 20 ℃, 取已制备好的蟾皮提取物 SLN 混悬液 60 mL, 600 mg 甘露醇, -40 ℃ 下预冻 8 h、-45 ℃ 下升华干燥 20 h 后, 考察解析干燥 3、4、5、6 h 对冻干 SLN 的影响。

1.4 冻干保护剂的考察

1.4.1 冻干保护剂种类的考察 取已制备好的蟾皮提取物 SLN 混悬液 60 mL, 分别加入 600 mg(与磷脂质量比为 2:1)的甘露醇、蔗糖、乳糖、葡萄糖, 考察其对 SLN 的保护作用。

1.4.2 正交试验设计优选保护剂处方 为了达到最佳保护效果, 将表现较好的甘露醇、乳糖、蔗糖三种混合用作保护剂。做正交设计, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表, 以乳糖、甘露醇、蔗糖与磷脂(300 mg)质量比作为考察因素, 每个因素设 1.5:1, 2:1, 4:1 三水平, 实验安排见表 1。将外观、复溶性、颗粒形态作为考察指标, 每个指标采用百分制, 具体标准如下: 外观 = 体积(≤40) + 质地(≤30) + 色泽(≤30), 体积饱满 30~40 分、略皱缩 20~30 分、皱缩 10~20 分、塌陷 0~10 分, 质地疏松 20~30 分、略致密 10~20 分、致密 0~10

分,色泽均匀 20~30分、分层不明显 10~20分、分层明显 0~10分,外观得分为三项分数相加;复溶性得分 = 100-颗粒溶解时间(s),大于 100 s 记为零分;颗粒形态得分:颗粒不聚集 70~100分、略聚集 40~70分、聚集 10~40分、聚集严重有结晶 0~10分。

表1 乳糖、甘露醇、蔗糖质量比的因素水平安排

水平	因素		
	A(乳糖)	B(甘露醇)	C(蔗糖)
1	1.5:1	1.5:1	1.5:1
2	2:1	2:1	2:1
3	4:1	4:1	4:1

1.5 冻干蟾皮提取物 SLN 质量评价 室温下,取优化后的冻干蟾皮提取物 SLN, 60 mL 生理盐水复溶后,采用“1.2.7”项方法测定 CBG 与 RBG 的包封率;取适量制备的蟾皮提取物冻干 SLN 于激光散射仪中,测定 SLN 的大小及粒径分布,用透射电镜观察形态。

1.6 冻干工艺对蟾皮提取物 SLN 稳定性的影响 分别取蟾皮提取物 SLN 混悬液和冻干蟾皮提取物 SLN,在 4 ℃、避光条件下放置,于第 0、1、5、10、20、30 天后取样,测定并比较两者包封率。

2 结果

2.1 包封率测定方法的建立 在所建立的色谱条件下,SLN 中的辅料对药物的检测无干扰,CBG、RBG 与其他成分的峰分离度均大 1.5,分离较好,检测限(LOD)为 0.032 μg/mL,定量限(LOQ)为 0.098 μg/mL,如图 1。

标准曲线方程:CBG: $Y=32\ 019X-3\ 169.3$ ($r=0.999\ 2$),RBG: $Y=39\ 789X-2\ 753.9$ ($r=0.999\ 9$),表明 CBG 和 RBG 在 0.43~2.58 μg/mL 范围内线性关系良好;稳定性试验结果显示 CBG 和 RBG 峰面积的 RSD 值分别为 0.52% 和 0.65%,表明待测样品在 24 h 内稳定;日内、日间精密度试验结果显示 CBG 和 RBG 峰面积的 RSD 分别为 0.82% 和 0.90%、1.11% 和 0.81%。表明日内、日间精密度良好。以上结果表明该色谱方法可准确检测 CBG 与 RBG,利用此方法测得 CBG 的包封率为 (91.01±0.75)%,RBG 的包封率为 (89.91±0.54)%。

2.2 冻干工艺的优化 预冻温度考察结果:预冻温

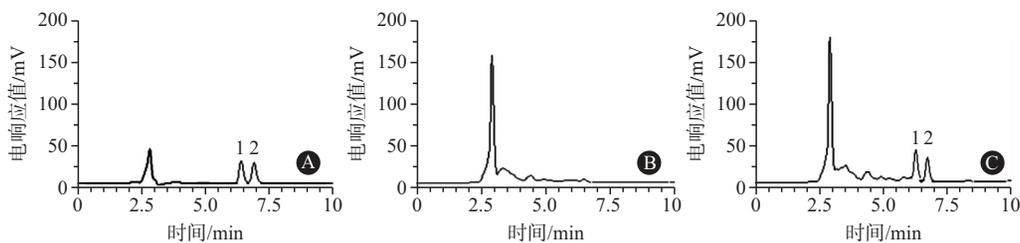
度为 -20 ℃ 时,样品未完全冻实,有喷瓶的现象发生,-40 ℃ 与 -60 ℃ 均可得到外观饱满的冻干 SLN,故选择 -40 ℃ 作为预冻温度;预冻时间考察结果:4 h、6 h 的样品存在喷瓶、破损、外观不平整的现象,8 h、12 h 的样品饱满,疏松,色泽均匀,24 h 样品出现皱缩,故选择 8 h 作为预冻时间;升华干燥时间考察结果:当时间小于 20 h,样品未完全干燥,室温下放置后内部融化,使样品产生空腔,当干燥时间大于 20 h,所得冻干 SLN 饱满,疏松,色泽均匀、复溶性无明显差异,因此选择 20 h 作为升华干燥时间;解析干燥时间考察结果:解析干燥 3 h 的冻干 SLN 有水残留,室温放置后内部融化,解析干燥 4、5、6 h 所得冻干 SLN 外观良好,因此选择 4 h 作为解析干燥时间。

2.3 冻干保护剂的选择 冻干保护剂种类考察的结果:使用单一的冻干保护剂会分别出现冻干产品表面塌陷、色泽不均、颗粒聚集、复溶时间过长等现象,因此本实验将甘露醇、蔗糖、乳糖三者混合用做保护剂,以达到理想的冻干效果;正交试验优化冻干保护剂组成结果见表 2,比较各因素的极差可知 R_B 最大,故因素 B 对实验结果影响最大,其次是 C 和 A。由各个因素不同水平的综合平均值 k_1 、 k_2 、 k_3 可知, A_1 、 B_2 、 C_1 水平最优,因此最优处方为乳糖:甘露醇:蔗糖:磷脂(300 mg) = 1.5:2:1.5:1。

表2 甘露醇、蔗糖、乳糖三者混合用做保护剂的
正交试验结果($n=3$)

序号	因素A	因素B	因素C	外观	颗粒形态	复溶性	平均得分
1	1	1	1	85	85	90	85.5
2	1	2	2	89	80	88	86.7
3	1	3	3	60	78	58	74.2
4	2	1	1	65	77	70	80.6
5	2	2	2	69	75	60	78.0
6	2	3	3	71	62	85	82.0
7	3	1	1	40	60	41	66.1
8	3	2	2	88	79	81	88.7
9	3	3	3	90	85	85	91.3
k_1	82.136	77.393	84.934				
k_2	80.223	84.49	78.261				
k_3	82.026	82.501	81.189				
R_j	1.913	7.097	6.673				

注: K_{1-3} 为各个因素不同水平的综合平均值, R_j 为标准差



注:波 1 为华蟾酥毒基;波 2 为酯蟾毒配基

图1 华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的HPLC图:A为混合对照品;B为蟾皮提取物固体脂质纳米粒;C为空白固体脂质纳米粒

2.4 蟾皮提取物冻干SLN的质量评价 经过试验考察,确定乳糖:甘露醇:蔗糖:磷脂(300 mg) = 1.5:2:1.5:1作为保护剂,-40℃下预冻8h,-45℃下升华干燥20h、25℃下解析干燥4h,得到蟾皮提取物冻干SLN。蟾皮提取物冻干SLN复溶样品的CBG包封率为(88.96±1.50)%、RBG包封率为(89.65±0.78)%;激光散射仪中,测得SLN的大小及粒径分布结果:样品的平均粒径(152±6.1)nm,90%粒径小于(209.1±28.9)nm,多分散性指数为0.153±0.023,用透射电镜观察形态,见图2。

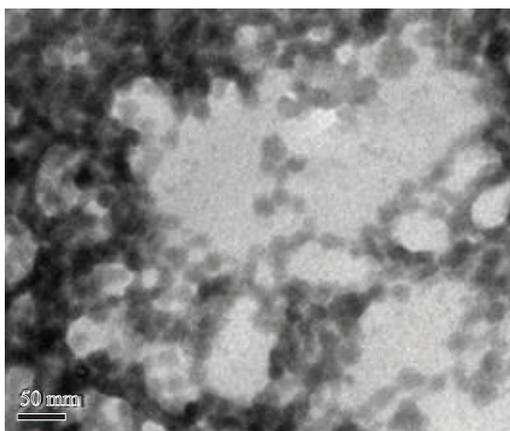


图2 蟾皮提取物脂质纳米粒透射电镜图(×50 000)

2.5 冻干工艺对SLN稳定性的影响 蟾皮提取物SLN放置第0、1、5、10、20、30d后测得CBG的包封率分别为91.1%、88.2%、84.8%、79.6%、73.5%、68.1%,RBG的包封率分别为90.2%、87.4%、82.5%、75.3%、70.1%、65.9%;冻干蟾皮提取物SLN放置第0、1、5、10、20、30d后复溶测得CBG的包封率分别为89.5%、87.3%、88.1%、87.9%、89.9%、88.7%,RBG的包封率分别为89.9%、88.4%、86.8%、87.4%、87.2%、88.6%。结果表明:长期贮存会导致SLN中有效成分CBG、RBG包封率降低,冻干工艺可显著提高蟾皮提取物SLN的稳定性。

3 讨论

理想的冻干产品应具有外形饱满、色泽均匀、表面平整、复溶时间短等性质,冻干保护剂、预冻温度和时间、干燥时间都对冻干产品的性质产生了重要的影响。在SLN混悬液中,氢键作用可使固体脂质纳米粒的脂质双分子层外部包裹着一层水化膜,可防止SLN发生聚集融合,提高稳定性。但冻干过程会破坏SLN外部的的水化层,使膜稳定性降低,发生聚集、破裂^[13]。加入冻干保护剂可在冷冻干燥过程代替水分子与SLN形成氢键,提高脂质双分子层稳定性^[14]。在筛选保护剂种类时发现应用一种保护剂效果并不理想,因此采用混合保护剂。通过比

较确定了甘露醇、乳糖、蔗糖三种保护剂,采用正交试验,以外观、复溶时间、颗粒形态为指标,筛选出复合冻干保护剂,对SLN表现出较好的保护作用,克服了单种保护剂出现的外观塌陷,颗粒聚集等问题。

预冻过程需将样品中的水全部冻实,实验中发现预冻时间短、预冻温度高均会使升华干燥时出现喷瓶的现象,而预冻时间过长会导致实验仪器浪费。因此通过考察最终确定-40℃下冷冻8h的方式。干燥过程分为升华干燥和解析干燥。升华干燥的过程是通过减压降温的方式将样品中冻结的自由水以固态形式升华除去^[15],解析干燥则需要适当升高温度来去除样品中的结晶水。实验发现若升华干燥时间短、水分去除不完全,会导致冻干产品出箱后内部出现空洞、碎块。因此本试验通过单因素考察升华干燥、解析干燥对冻干产品的影响,确定了-45℃下升华干燥20h、25℃下解析干燥4h的干燥方式。

包封率是评价SLN稳定性的重要指标^[16-17],长期存放会导致磷脂氧化变性,脂质双分子层稳定性下降,最终使药物泄露。因此本试验采用透析法测定贮存不同时间后SLN混悬液与冻干SLN的包封率。结果显示未冻干SLN包封率明显降低,SLN出现泄漏,而冻干后的SLN包封率未见明显降低。该结果表明冷冻干燥是提高蟾皮提取物SLN的物理化学稳定性的可行办法,解决了蟾皮提取物SLN混悬液不稳定的关键难题。

参考文献

- [1] CHEN L, MAI W, CHEN M, et al. Arenobufagin inhibits prostate cancer epithelial-mesenchymal transition and metastasis by down-regulating β -catenin[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 123: 130-142.
- [2] WANG T, ZHUANG Z, ZHANG P, et al. Effect of arenobufagin on human pancreatic carcinoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4): 4971-4976.
- [3] 李宗云, 曲婷, 王鹏飞, 等. 毒性中药蟾酥质量研究现状及关键影响因素分析[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(5): 863-869.
- [4] 张佳洁. 蟾酥注射液治疗晚期卵巢癌临床研究[J]. *河南中医*, 2017, 37(5): 869-871.
- [5] 严子平, 彭国宇, 张莉, 等. 多指标综合评价优选蟾皮脂溶性成分提取工艺[J]. *解放军药学学报*, 2012, 28(5): 400-403.
- [6] 严子平. 蟾皮提取物固体脂质纳米粒的制备及质量评价[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [7] 张磊, 严子平, 张莉. 蟾皮提取物固体脂质纳米粒的质量评价[J]. *中国药房*, 2016, 27(10): 1400-1403.
- [8] 高金芝, 焦安妮, 于敏, 等. 人参皂苷Re冻干脂质体的制备及贮存稳定性研究[J]. *中草药*, 2018, 49(2): 330-336.
- [9] 郑钦. PEG修饰的盐酸吉西他滨脂质体的制备及质量研究[D].

- 成都:成都学院, 2017.
- [10] 杨勇, 奉建芳, 祝林, 等. 蟾酥固体脂质纳米粒冻干工艺及其表征[J]. 中南药学, 2006, 4(3): 163-166.
- [11] 蔡晓瑶, 张莉, 任翔, 等. 离心法和透析法测定蟾皮提取物固体脂质纳米粒包封率的比较[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(4): 744-747.
- [12] 邓礼荷, 韦敏燕, 汤晨懿, 等. 冻干工艺及保护剂对羟基喜树碱脂质体质量的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(1): 30-34.
- [13] 唐文雅, 宋艳志, 邓意辉. 脂质体冻干保护剂的种类及其作用机制研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(7): 560-569.
- [14] 薛菲, 王凤山. 蛋白质的冻干保护剂及其保护机制研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(10): 765-770.
- [15] 陈佳宝, 王古月. 冷冻干燥技术在制药生产中的应用分析[J]. 东方食疗与保健, 2016, 4: 114.
- [16] 高金芝, 焦安妮, 于敏, 等. 人参皂苷Re冻干脂质体的制备及贮存稳定性研究[J]. 中草药, 2018, 49(2): 330-336.
- [17] 张素娟, 张永太, 申利娜, 等. 蟾酥固体脂质纳米粒包封率测定[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(12): 1465-1468.

(收稿日期: 2018-08-15, 修回日期: 2018-12-20)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.01.021

◇ 药物分析 ◇

超高效液相色谱-串联质谱法定性定量检测中成药及保健食品中非法添加的 17 种化学药物

刘云, 杨玉忠

作者单位: 新乡市食品药品检验所, 河南 新乡 453000

摘要: **目的** 建立一种快速、准确检测中成药及保健品中非法添加 17 种抗消化性溃疡化学药物(丙谷胺、米索前列醇、西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁、尼扎替丁、奥美拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑、雷贝拉唑、阿托品、山莨菪碱、东莨菪碱、溴丙胺太林、甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林)的方法。**方法** 采用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱仪(UPLC-MS/MS), 色谱条件: Shim-pack XR-ODS II (2.0 mm×75 mm, 2.2 μm) 色谱柱, 柱温 20 ℃, 以乙腈-0.1% 甲酸溶液(含 7 mmol/L 的乙酸铵)为流动相梯度洗脱(ESI⁺)或乙腈-15mmol/L 的乙酸铵为流动相等度洗脱(ESI⁻), 流速 0.25 ml/min。质谱条件: ESI 源, 多反应检测(MRM)模式, 以保留时间和定性离子对之间的相对丰度定性, 以定量离子对峰面积定量。**结果** 在上述色谱及质谱条件下, 17 种化学药物分离度良好并在一定检测范围内呈现良好的线性关系($r > 0.9951$), 平均加样回收率在 81.5%~102.7%, 17 种化学药物含量重复性试验 RSD < 3.0%。**结论** 该方法简便准确, 灵敏度高, 可作为抗消化性溃疡类中成药及保健食品中非法添加化学药物的定性定量测定方法。**关键词:** 中成药/分析; 健康食品/分析; 抗溃疡病药; 定性研究; 化学, 药物; 超高效液相色谱-质谱; 非法添加; 定量

Qualitative and quantitative determination of 17 added into Chinese patent medicine and health food by UPLC-MS/MS

LIU Yun, YANG Yuzhong

Author Affiliation: Xinxiang Institute for Food and Drug Control, Xinxiang, Henan 453000, China

Abstract: Objective To establish a rapid and accurate method for the determination of 17 anti-peptic ulcer chemicals (proglutamine, misoprostol, cimetidine, ranitidine, famotidine, nizatidine, omeprazole, lansoprazole, pantoprazole, rabeprazole, atropine, anisodamine, scopolamine, propantheline bromide, metronidazole, clarithromycin, amoxicillin) which were illegally added into the Chinese patent medicines (CPM) and health food. **Method** Ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole mass spectrometer was adopted. LC condition: A Shim-pack XR-ODS II (2.0 mm×75 mm, 2.2 μm) column was used with acetonitrile and 0.1% formic acid containing 7 mmol/L ammonium acetate as the mobile phase for gradient elution (ESI⁺) or acetonitrile and 15 mmol/L ammonium acetate as the mobile phase for isocratic elution (ESI⁻). The flow rate was 0.25ml/min. MS condition: adopted electrospray ionization (ESI), and multiple reaction monitoring (MRM); The retention time and relative intensities of the detected qualitative ion pairs was adopted for qualitative analysis, while integrating the signals of the detected quantitative ion pairs was used for quantitative analysis. **Results** The 17 chemicals were well separated and showed a good linearity within a certain range of detection (correlation coefficient > 0.995 1) under this UPLC and MS/MS condition. The average recoveries were 81.5%-102.7%. Repeatability ex-