

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 种非法添加降血压药物

申一鸣^{1,2,3}, 冯峰^{2,3}, 金敏^{2,3,4}, 刘通^{2,3}, 国伟^{2,3}, 张峰^{2,3}, 李磊^{1*}

(1. 沈阳化工大学制药与生物工程学院, 沈阳 110142; 2. 中国检验检疫科学研究院, 食品安全研究所, 北京 100176; 3. 国家市场监督管理总局重点实验室(食品质量与安全), 北京 100176; 4. 中国医科大学药学院, 沈阳 110122)

摘要: 目的 建立一种无需标准品即可快速检测保健品中 136 种非法添加降血压药物的超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱分析方法。**方法** 样品经甲醇溶液适当稀释, 超声处理后, 经 Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 以 0.1% (V/V) 甲酸水溶液-乙腈作为流动相, 进行梯度洗脱。将采集的样品质谱信息与自建立的 136 种非法添加降血压物质谱信息库通过分子离子精准质量数比对、同位素分布比对进行初筛, 初筛出的阳性化合物通过二级碎片离子解析进行进一步确证。**结果** 该方法能够在没有标准品的情况下, 在 20 min 内对保健食品中 136 种非法添加降血压药物同时进行精准筛查, 14 种降血压药物的添加回收实验表明实际样品的检出限在 2.0~3.0 μg/kg, 采用本方法对市售实际样品进行检验, 1 款声称具有降血脂的保健食品中有坎地沙坦酯检出。**结论** 该方法通量高、速度快、成本低, 可用于保健食品中非法添加降血压药物的快速筛查。

关键词: 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; 降血压药物; 非法添加

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

SHEN Yi-Ming^{1,2,3}, FENG Feng^{2,3}, JIN Min^{2,3,4}, LIU Tong^{2,3}, GUO Wei^{2,3}, ZHANG Feng^{2,3}, LI Lei^{1*}

(1. School of Pharmaceutical and Biological Engineering, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142, China; 2. Institute of Food Safety, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 3. Key Laboratory of Food Quality and Safety for State Market Regulation, Beijing 100176, China; 4. School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110122, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid determination of 136 kinds of illegally added antihypertensive drugs in health food without standards by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods** Samples were diluted and extracted by

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1606500)、中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(2022JK01)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1606500), and the Basic Research Fund for Central Public Interest Institutes (2022JK01)

*通信作者: 李磊, 博士, 副教授, 主要研究方向为药物新剂型及药品安全检测。E-mail: lilei@syuct.edu.cn

*Corresponding author: LI Lei, Ph.D, Associate Professor, Shenyang University of Chemical Technology, No.11 Street, Shenyang Economic and Technological Development Zone, Shenyang 110142, China. E-mail: lilei@syuct.edu.cn

ultrasound extraction with methanol solvent, separated on Waters Acquity BEH C₁₈ chromatographic column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). Gradient elution was carried out with 0.1% (V/V) formic acid aqueous solution and acetonitrile as mobile phase. The acquired sample information and the self-established mass spectrometry information database of 136 kinds of illegally added antihypertensive drugs were preliminarily screened through accurate mass comparison and isotope distribution comparison. The positive compounds initially screened were further confirmed by secondary fragment ion analysis. **Results** This method could accurately screen 136 kinds of illegally added antihypertensive drugs in health food within 20 minutes without standards. The addition and recovery experiments of 14 kinds of antihypertensive drugs showed that the limit of detection of actual samples was 2.0–3.0 μg/kg. This method was used to test the actual samples on the market, and candesartan ester was detected in one health food claimed to have blood lipid reduction. **Conclusion** The method has high throughput, high speed and low cost, and can be used for rapid screening of illegal blood pressure lowering drugs in health food.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry; rapid screening; antihypertensive drugs; illegal addition

0 引言

高血压是我国常见的慢性非传染性疾病之一,也是冠状动脉粥样硬化、脑卒中等多种心脑血管疾病的危险因素^[1-2]。随着人们健康意识的增强,人们更倾向于通过饮食来达到降血压的目的,许多声称具有降血压功能的保健食品也不断涌向市场^[3]。然而,为了追求利益,部分不法生产者会在一些保健食品中非法添加各种降血压药物以吸引消费者购买^[4],长期食用这种食品,可能会给消费者造成严重的身体健康问题^[5-7]。因此,非常需要一种灵敏、高效的检测方法对其进行检测。

当前,常用的降高血压药物超过上百种,包括血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素受体II阻滞剂、β受体阻滞剂、钙通道阻滞剂和利尿剂^[8-9]等。对于这些药物的检测,报道的方法主要有拉曼法^[10-11]、毛细管电泳法^[12-13]、荧光光谱法^[14-15]、近红外光谱法^[16-18]、气相色谱-串联质谱法^[19-21]、高效薄层色谱法^[22-23]、高效液相色谱法^[24-25]和液相色谱-串联质谱法^[26-30]等。如果使用这些方法对上百种降血压药物同时进行检测,都需要首先购买标准品才能建立相关分析方法,成本高、效率低。近些年,使用液相色谱-高分辨质谱法对食品中未知有害物进行高通量检测的方法已有大量报道,但在不使用标准品的情况下对食品中降血压药物进行高通量检测的方法尚未见报道。赵孔祥等^[31]报道了一种使用液相色谱-高分辨质谱法测定食品中 11 种降高血压药的分析方法,但该方法需使用标准品且覆盖的种类少,无法满足实际检测的需要。

本研究基于自建立的 136 种降血压物质谱数据库,建立了一种不需要标准品即可对保健食品中 136 种降血压药物进行精准筛查的超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry,

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS),自建立的降压药物质谱信息数据库覆盖所有已知降血压药类别,数据信息,包括降压药物的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、理论质量数和加合方式等信息。通过综合运用分子离子精准质量数比对、同位素分布比对、以及二级碎片离子解析等方式,在没有标准品的情况下实现真实食品样品中非法添加的降压药物的精准筛查。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、Q-Exactive 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱系统及 Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); XP 105 分析天平(精度 0.1 mg, 瑞士梅特勒托利多公司); VORTEX KB-3 涡旋振荡器(其林贝尔仪器制造有限公司); Allegra X-22R 冷冻离心机(美国贝克库曼库尔有限公司); Milli-Q Advantage A 10 超纯水机(美国 Millipore 公司);

甲醇中纳多洛尔溶液(100 μg/mL)、奥美沙坦(纯度 98.3%)、盐酸普萘洛尔(纯度 99.0%)、托拉塞米(纯度 99.9%)、雷米普利(纯度 99.9%)、厄贝沙坦(纯度 98.0%)、坎地沙坦(纯度 99.4%)、盐酸地拉普利(纯度 98.0%)、氯沙坦羧酸(纯度 99.4%)、甲醇中硝苯地平溶液(1000 μg/mL)、布美他尼(纯度 99.9%)、缬沙坦(纯度 98.0%)、尼索地平(纯度 99.4%)、坎地沙坦酯(纯度 98.0%)(天津阿尔塔科技有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 甲酸(色谱纯,德国默克公司); 超纯水(实验室一级水)由 Milli-Q 超纯水机制备。

片剂和药酒样品(声称具有降血压功效的保健品)均购自于电商平台。

1.2 溶液制备

标准储备液: 精确称取适量纳多洛尔、奥美沙坦、普萘洛尔、托拉噻米、雷米普利、厄贝沙坦、坎地沙坦、地拉普利、氯沙坦羧酸、硝苯地平、布美他尼、缬沙坦、尼索地平 and 坎地沙坦酯对照品, 用甲醇溶解配制成 1000 mg/L 的储备液, 于 -20°C 储存。

混合标准中间液: 分别取 14 种降压药对照品的储备液, 用同样的溶剂甲醇配制成 10 mg/L 混合标准溶液; 于 -20°C 储存, 使用时根据需要用甲醇溶剂或空白基质溶液稀释到所需浓度, 临用前恢复至室温现用现配。

1.3 样品前处理

对于片剂样品, 研磨后, 精确称重片剂食品样品粉末(0.5 g)置于 50 mL 具塞离心管中, 加甲醇 30 mL, 涡旋 1 min 使其混合均匀, 在 25°C 下通过超声波(40 kHz, 250 W)提取 30 min。提取后, 用甲醇定容至 50 mL 摇匀, 混合物以 7000 r/min 离心 5 min, 收集离完心的样品溶液上清液。过 0.2 μm 尼龙滤膜, 滤液作为供试品溶液。供 UPLC-Q-Orbitrap-HRMS 分析测定。对于液体样品, 用移液枪精确吸取 0.5 mL 置于 50 mL 具塞离心管中, 后续步骤与片剂样品前处理过程一致。

1.4 色谱条件

色谱柱: Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相由 0.1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B)组成。梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 95% A; 2.0~12.0 min, 95%~5% A; 12.0~15.0 min, 5% A; 15.0~15.1 min, 5%~95% A; 15.1~20.0 min, 95% A; 流速和柱温分别设定为 0.3 mL/min 和 35°C。样品进样量为 3 μL, 自动进样器温度设定为 10°C。

1.5 质谱条件

离子源: 加热电喷雾离子源; 喷雾电压 3.5 kV (正离子模式), 喷雾电压 -3.0 kV (负离子模式); 透镜电压: 55.0 V; 以氮气为鞘气和辅助气, 鞘气压力 35 unit, 辅助气压力 10 unit; 离子传输管温度 350°C; 辅助气加热器温度 350°C; 扫描模式: 一级母离子全扫描和数据依赖的二级子离子扫描模式检测(Full MS/dd-MS²); 一级扫描范围 *m/z* 100~1200; 一级质谱扫描分辨率为 70000 半高峰宽(full width at half maxima, FWHM); 一级自动增益控制目标离子数: 1e⁶; 最大注入时间: 100 ms; 二级扫描分辨率为 35000 FWHM; 目标离子数: 2e⁵; 最大注入时间: 100 ms; 归一化碰撞能为 15、30、45 eV; 动态排除: 6.0 s。用于进行二级子离子扫描的降压药物清单见表 1。这些化合物的质谱信息也作为自建立的筛查数据库, 用于实际样品检测。

表 1 136 种降压药物名称、CAS 号、分子式、理论质量数和加合方式

序号	化合物名称	CAS 号	分子式	理论质量数	加合方式
1	醋丁洛尔	37517-30-9	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₄	337.2122	M+H
2	乙酰唑胺	59-66-5	C ₄ H ₆ N ₄ O ₃ S ₂	220.9809	M-H
3	阿拉普利	74258-86-9	C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O ₅ S	407.1635	M+H
4	阿普洛尔	13655-52-2	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	250.1802	M+H
5	阿米洛利	1428-95-1	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₇ O	312.1334	M+H
6	氨美啶	642-44-4	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₂	196.1081	M+H
7	胺碘酮	1951-25-3	C ₂₅ H ₂₉ I ₂ NO ₃	646.0310	M+H
8	阿米美啶	550-28-7	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₂	196.1081	M+H
9	氨氯地平	88150-42-9	C ₂₀ H ₂₅ ClN ₂ O ₅	409.1525	M+H
10	阿罗洛尔	68377-91-3	C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₃ S ₃	372.0869	M+H
11	阿替洛尔	29122-68-7	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	267.1703	M+H
12	阿奇沙坦	147403-03-0	C ₂₅ H ₂₀ N ₄ O ₅	457.1506	M+H
13	阿奇沙坦酯	863031-21-4	C ₃₀ H ₂₄ N ₄ O ₈	569.1667	M+H
14	阿佐塞米	27589-33-9	C ₁₂ H ₁₁ ClN ₆ O ₂ S ₂	369.0001	M-H
15	贝那普利	86541-75-5	C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₅	425.2071	M+H
16	地巴唑	621-72-7	C ₁₄ H ₁₂ N ₂	209.1073	M+H
17	苄氟噻嗪	73-48-3	C ₁₅ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₄ S ₂	420.0305	M-H
18	贝尼地平	105979-17-7	C ₂₈ H ₃₁ N ₃ O ₆	506.2286	M+H
19	倍他洛尔	63659-18-7	C ₁₈ H ₂₉ NO ₃	308.2220	M+H
20	贝凡洛尔	59170-23-9	C ₂₀ H ₂₇ NO ₄	346.2013	M+H
21	比索洛尔	66722-44-9	C ₁₈ H ₃₁ NO ₄	326.2326	M+H
22	布库洛尔	58409-59-9	C ₁₇ H ₂₃ NO ₄	306.1700	M+H
23	布屈嗪	36798-79-5	C ₁₄ H ₁₆ N ₄	241.1448	M+H
24	丁咪洛尔	54340-62-4	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	262.1802	M+H
25	布美他尼	28395-03-1	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₅ S	363.1020	M-H
26	布托洛尔	55165-22-5	C ₁₉ H ₂₃ NO ₆	362.1598	M+H
27	坎地沙坦	139481-59-7	C ₂₄ H ₂₀ N ₆ O ₃	441.1670	M+H
28	坎地沙坦酯	145040-37-5	C ₃₃ H ₃₄ N ₆ O ₆	611.2613	M+H
29	卡托普利	62571-86-2	C ₉ H ₁₅ NO ₃ S	218.0845	M+H
30	卡拉洛尔	57775-29-8	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂	299.1754	M+H
31	卡替洛尔	51781-06-7	C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₃	293.1860	M+H
32	卡维地洛	72956-09-3	C ₂₄ H ₂₆ N ₂ O ₄	407.1965	M+H
33	塞利洛尔	56980-93-9	C ₂₀ H ₃₃ N ₃ O ₄	380.2544	M+H
34	氯噻嗪	58-94-6	C ₇ H ₆ ClN ₃ O ₄ S ₂	293.941	M-H
35	氯噻酮	77-36-1	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₄ S	337.0055	M-H
36	西拉普利	88768-40-5	C ₂₂ H ₃₁ N ₃ O ₅	418.2336	M+H
37	西尼地平	132203-70-4	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₇	493.1969	M+H
38	氯维地平	166432-28-6	C ₂₁ H ₂₃ Cl ₂ NO ₆	456.0975	M+H
39	可乐定	4205-90-7	C ₉ H ₉ Cl ₂ N ₃	230.0246	M+H
40	地拉普利	83435-66-9	C ₂₆ H ₃₂ N ₂ O ₅	453.2384	M+H
41	去乙酰美替洛尔	57193-14-3	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	268.1907	M+H
42	二氮嗪	364-98-7	C ₈ H ₇ ClN ₂ O ₂ S	230.9990	M+H
43	双胍屈嗪	484-23-1	C ₈ H ₈ N ₄	161.0822	M+H
44	6,7-二氢螺内酯 A	72959-46-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	329.2111	M+H
45	地尔硫卓	42399-41-7	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄ S	415.1686	M+H

表 1(续)

序号	化合物名称	CAS 号	分子式	理论质量数	加合方式
46	多沙唑嗪	74191-85-8	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₅	452.1928	M+H
47	依那普利	75847-73-3	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₅	377.2071	M+H
48	依那普利拉	76420-72-9	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₇	385.1969	M+H
49	依普利酮	107724-20-9	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	415.2115	M+H
50	依普沙坦	144143-96-4	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₄ S	425.1530	M+H
51	艾司洛尔	81147-92-4	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	296.1856	M+H
52	依他尼酸	58-54-8	C ₁₃ H ₁₂ Cl ₂ O ₄	301.0040	M-H
53	依索唑胺	452-35-7	C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₃ S ₂	257.0060	M-H
54	依托唑啉	73-9-6	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	285.1267	M+H
55	非洛地平	86189-69-7	C ₁₈ H ₁₉ Cl ₂ NO ₄	384.0764	M+H
56	非诺多泮	67227-56-9	C ₁₆ H ₁₆ ClNO ₃	306.0891	M+H
57	氟司洛尔	87721-62-8	C ₁₅ H ₂₂ FN ₃ O ₄	328.1667	M+H
58	福辛普利	98048-97-6	C ₃₀ H ₄₆ NO ₇ P	564.3085	M+H
59	呋塞米	54-31-9	C ₁₂ H ₁₁ ClN ₂ O ₅ S	329.0004	M-H
60	戈洛帕米	16662-47-8	C ₂₈ H ₄₀ N ₂ O ₅	485.3010	M+H
61	氢氯噻嗪	58-93-5	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	297.9718	M+H
62	咪哒普利	89371-37-9	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₆	406.1973	M+H
63	呋达帕胺	26807-65-8	C ₁₆ H ₁₆ O ₃ N ₃ ClS	366.0674	M+H
64	吲哚拉明	26844-12-2	C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O	348.2070	M+H
65	厄贝沙坦	138402-11-6	C ₂₅ H ₂₈ N ₆ O	429.2397	M+H
66	伊拉地平	75695-93-1	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O ₅	372.1554	M+H
67	拉贝洛尔	36894-69-6	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃	329.1860	M+H
68	拉西地平	103890-78-4	C ₂₆ H ₃₃ NO ₆	456.2381	M+H
69	兰地洛尔	133242-30-5	C ₂₅ H ₃₉ N ₃ O ₈	510.2810	M+H
70	乐卡地平	100427-26-7	C ₃₆ H ₄₁ N ₃ O ₆	612.3068	M+H
71	赖诺普利	76547-98-3	C ₂₁ H ₃₁ N ₃ O ₅	406.2336	M+H
72	氯沙坦	124750-92-1	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₆ O	423.1695	M+H
73	甲吲洛尔	23694-81-7	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂	263.1754	M+H
74	醋甲唑胺	554-57-4	C ₅ H ₈ N ₄ O ₃ S ₂	234.9965	M-H
75	甲基多巴	555-30-6	C ₁₀ H ₁₃ NO ₄	212.0917	M+H
76	美替洛尔	22664-55-7	C ₁₇ H ₂₇ NO ₄	310.2013	M+H
77	美拉托宗	17560-51-9	C ₁₆ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ S	364.0528	M-H
78	美托洛尔	81024-43-3	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	268.1907	M+H
79	米诺地尔	38304-91-5	C ₉ H ₁₅ N ₅ O	210.1349	M+H
80	莫昔普利	103775-10-6	C ₂₇ H ₃₄ N ₂ O ₇	499.2439	M+H
81	莫索尼定	75438-57-2	C ₉ H ₁₂ ClN ₅ O	242.0803	M+H
82	莫唑胺	55294-15-0	C ₁₁ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O	272.0352	M+H
83	纳多洛尔	42200-33-9	C ₁₇ H ₂₇ NO ₄	310.2013	M+H
84	奈必洛尔	99200-09-6	C ₂₂ H ₂₅ F ₂ NO ₄	406.1824	M+H
85	尼卡地平	55985-32-5	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₆	480.2129	M+H
86	烟酸	59-67-6	C ₆ H ₅ NO ₂	122.0248	M-H
87	硝苯地平	21829-25-4	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₆	347.1238	M+H
88	尼莫地平	66085-59-4	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₇	419.1813	M+H
89	尼索地平	63675-72-9	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₆	389.1707	M+H
90	尼群地平	39562-70-4	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₆	361.1394	M+H
91	奥美沙坦	144689-24-7	C ₂₄ H ₂₆ N ₆ O ₃	447.2139	M+H
92	奥美沙坦酯	144689-63-4	C ₂₉ H ₃₀ N ₆ O ₆	559.2300	M+H
93	双胍酞嗪	484-23-1	C ₈ H ₁₀ N ₆	191.1040	M+H
94	氧烯洛尔	6452-71-7	C ₁₅ H ₂₃ NO ₃	266.1751	M+H

表 1(续)

序号	化合物名称	CAS 号	分子式	理论质量数	加合方式
95	喷布洛尔	38363-40-5	C ₁₈ H ₂₉ NO ₂	292.2271	M+H
96	培哚普利	107133-36-8	C ₁₉ H ₃₂ N ₂ O ₅	369.2384	M+H
97	酚苄明	59-96-1	C ₁₈ H ₂₂ ClNO	304.1463	M+H
98	酚妥拉明	50-60-2	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O	282.1601	M+H
99	吲哚洛尔	13523-86-9	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O ₂	249.1598	M+H
100	泊利噻嗪	346-18-9	C ₁₁ H ₁₃ ClF ₃ N ₃ O ₄ S ₃	437.9636	M-H
101	普拉洛尔	6673-35-4	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	267.1703	M+H
102	派唑嗪	19216-56-9	C ₁₉ H ₂₁ N ₅ O ₄	384.1666	M+H
103	普罗帕酮	54063-53-5	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃	342.2064	M+H
104	普萘洛尔	525-66-6	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	260.1645	M+H
105	依前列醇钠	61849-14-7	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	353.2323	M+H
106	前列腺素 A1	14152-28-4	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	337.2373	M+H
107	前列腺素 E2	363-24-6	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	353.2323	M+H
108	喹那普利	85441-61-8	C ₂₅ H ₃₀ N ₂ O ₅	439.2227	M+H
109	喹乙宗	73-49-4	C ₁₀ H ₁₂ ClN ₃ O ₃ S	290.0361	M+H
110	雷米普利	87333-19-5	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅	417.2384	M+H
111	利血平	50-55-5	C ₃₃ H ₄₀ N ₂ O ₉	609.2807	M+H
112	利美尼定	54187-04-1	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O	181.1335	M+H
113	硝普钠	13755-38-9	C ₅ H ₂ FeN ₆ O	216.9759	M+H
114	索他洛尔	3930-20-9	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	273.1267	M+H
115	螺普利	83647-97-6	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₅ S ₂	467.1669	M+H
116	螺内酯	52-1-7	C ₂₄ H ₃₂ O ₄ S	417.2094	M+H
117	螺利酮	74220-07-8	C ₂₄ H ₂₈ O ₃	365.2111	M+H
118	他林洛尔	57460-41-0	C ₂₀ H ₃₃ N ₃ O ₃	364.2595	M+H
119	替米沙坦	144701-48-4	C ₃₃ H ₃₀ N ₄ O ₂	515.2442	M+H
120	替米沙坦甲酯	528560-93-2	C ₃₄ H ₃₂ N ₄ O ₂	529.2598	M+H
121	特拉唑嗪	63590-64-7	C ₁₉ H ₂₅ N ₅ O ₄	388.1979	M+H
122	噻帕米	57010-31-8	C ₂₆ H ₃₇ NO ₅ S ₂	556.2033	M+H
123	替尼酸	40180-04-9	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ O ₄ S	330.9593	M+H
124	噻马洛尔	26839-75-8	C ₁₃ H ₂₄ N ₄ O ₃ S	317.1642	M+H
125	妥拉唑林	59-98-3	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	161.1073	M+H
126	托拉塞米	56211-40-6	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	347.1183	M-H
127	群多普利	87679-37-6	C ₂₄ H ₃₄ N ₂ O ₅	431.2540	M+H
128	氨苯蝶啶	396-01-0	C ₁₂ H ₁₁ N ₇	254.1149	M+H
129	三氯噻嗪	133-67-5	C ₈ H ₆ Cl ₃ N ₃ O ₄ S ₂	377.8949	M-H
130	曲克芦丁	7085-55-4	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₉	743.2393	M+H
131	血栓素 A2	57576-52-0	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	353.2323	M+H
132	乌拉地尔	34661-75-1	C ₂₀ H ₂₉ N ₅ O ₃	388.2343	M+H
133	缬沙坦	137862-53-4	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	436.2343	M+H
134	维拉帕米	52-53-9	C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄	455.2904	M+H
135	希帕胺	14293-44-8	C ₁₅ H ₁₅ ClN ₂ O ₄ S	353.0368	M-H
136	γ-氨基丁酸	56-12-2	C ₄ H ₉ NO ₂	104.0706	M+H

1.6 数据检索条件

通过 Full MS-ddMS² 模式对从实际样品采集到的数据导入 TraceFinder (美国 Thermo Fisher Scientific 公司) 软件中进行筛查分析, 筛查参数设置为: 一级母离子目标峰面阔阈值强度设置为 1×10^5 , 前体离子精确质量数偏差设置

为 5×10^{-6} , 信噪比(S/N)设置为 5; 同位素分布判定模式选择为 confirm, 其中同位素峰匹配度阈值设置为 90%, 精确质量数偏差设置为 1×10^{-6} , 强度偏差设置为 10%。在此条件下将样品中提取的化合物与自建立的数据库中 136 种降压药进行自动匹配, 如果匹配信息高于特定阈值, 则作为初步筛查检出化合物。对于检出阳性的样品, 通过对样品中检出化合物的二级子离子扫描结果进行分析, 以其碎裂片段与标准品结构式是否吻合作为是否是降压药物的进一步鉴定手段。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

为了能在没有标准品的情况下快速筛查出样品中所有可能添加的降压类药物, 本研究采用静电场轨道阱高分辨质谱以 Full MS/dd-MS² 的模式对降压药化合物进行分析, 考虑到不同降压药物的电离方式不同, 所以本研究选择了正负离子模式同时扫描的方式进行分析。此外, 为了确保所有的降压类药物都在侦查范围内, 同时提升仪器的分析效率, 设定母离子的扫描范围为 m/z 100~1200, 在此条件下, 可以涵盖表 1 中所有的 136 种降压药化合物的分子离子质量范围。离子源的其他相应参数则参考相关文献进行了优化, 具体参数设置情况见 1.5 质谱条件部分。

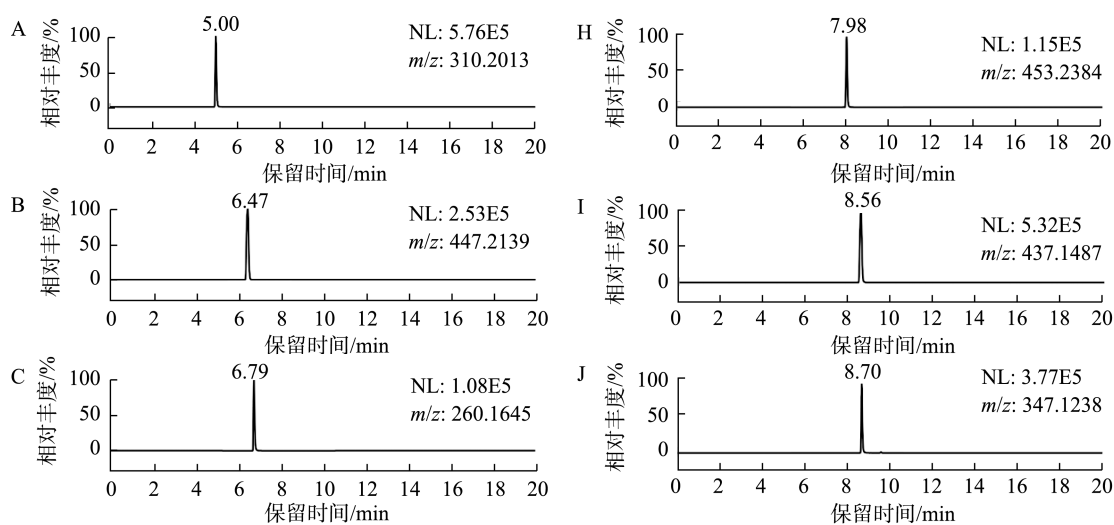
2.2 数据检索条件优化

对于样品中未知降压药物的快速识别, 本研究通过基于自建立的 136 种降压药化合物质谱数据库, 并将实际样品采集获得的 raw 原始文件, 导入 TraceFinder 软件进行数据检索而实现。研究表明, 数据检索条件的合理设置

对筛查结果的准确性也会有重要影响, 本研究通过对一级母离子峰面积阈值、同位素峰匹配度阈值、同位素精确质量数偏差等分别进行了优化。结果表明, 当一级母离子峰面积阈值强度设置小于 5×10^4 时, 会将一些基线噪音也误判为分析物, 而当一级母离子峰面积阈值强度设置大于 5×10^5 时会无法提取一些含量较低的目标化合物, 为此, 本研究将一级母离子峰面积阈值强度设置参数设置为 1×10^5 。类似, 将同位素峰匹配度及精确质量数偏差经过一系列优化后表明, 同位素峰匹配度阈值为 90%、同位素精确质量数偏差设置为 1×10^{-6} 可以确保筛查结果的准确度。

2.3 灵敏度及准确度考察

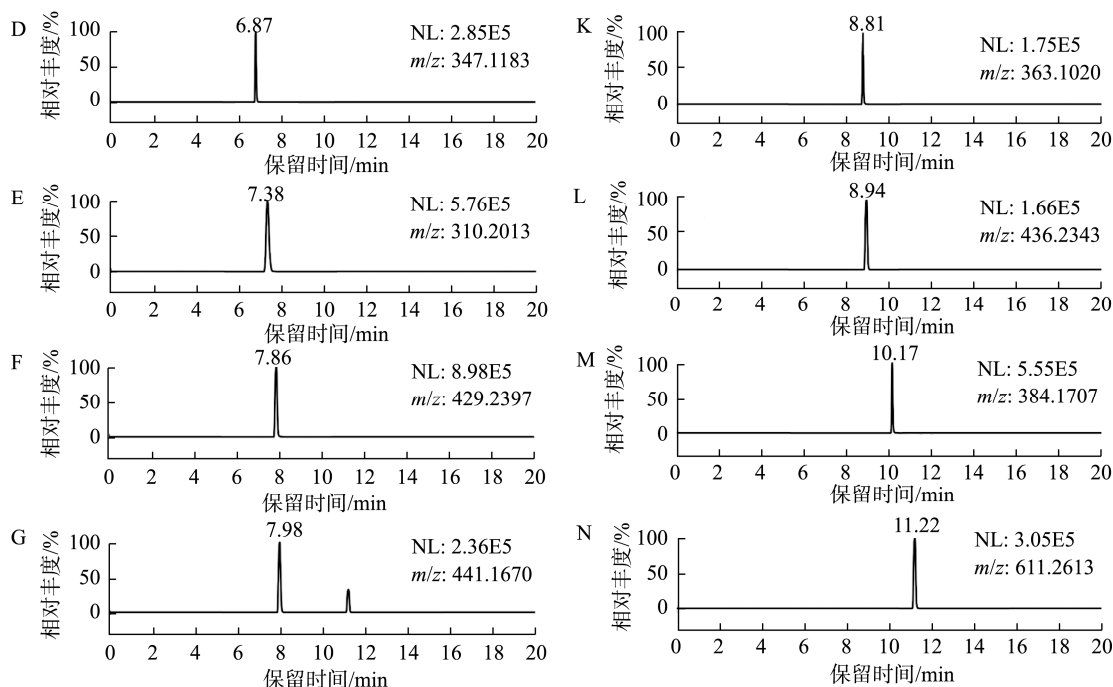
为了评价所建立的方法的灵敏度及准确度, 本研究选择 6 种沙坦类化合物(奥美沙坦、厄贝沙坦、坎地沙坦、氯沙坦羧酸、缬沙坦和坎地沙坦酯)、2 种血管紧张素转化酶抑制剂化合物(雷米普利和地拉普利)、2 种芳氧基丙醇胺类化合物(纳多洛尔和普萘洛尔)、2 种二氢吡啶类化合物(硝苯地平 and 尼索地平)和 2 种噻嗪类化合物(布美他尼和托拉塞米)作为质量控制化合物进行分析。判定方法为将 14 种不同浓度混标加入样品中, 样品经适当处理后进行上机分析, 对有信号检出的最低浓度加标样品重复进样 3 次, 用 3 次响应的信噪比(S/N)均大于 3 来确定为检出限, 检出限条件下 3 次进样峰面积的标准偏差与平均值的比值确定为准确度, 且准确度良好。结果表明 14 种降压药标准品的检出限(limits of detection, LOD)范围为 2.0~3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 在此条件下峰面积的标准偏差都小于 20%。结果表明, 该方法灵敏度高, 可以满足检测要求。14 种降压药化合物在 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度下的提取离子色谱图见图 1。



注: A: 纳多洛尔; B: 奥美沙坦; C: 普萘洛尔; D: 托拉塞米; E: 雷米普利; F: 厄贝沙坦; G: 坎地沙坦; H: 地拉普利; I: 氯沙坦羧酸; J: 硝苯地平; K: 布美他尼; L: 缬沙坦; M: 尼索地平; N: 坎地沙坦酯。

图 1 14 种降压药的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 提取离子色谱图

Fig.1 Extract ion chromatograms of the 14 kinds of antihypertensive drugs using UPLC-Q-Orbitrap HRMS



注: A: 纳多洛尔; B: 奥美沙坦; C: 普萘洛尔; D: 托拉噻米; E: 雷米普利; F: 厄贝沙坦; G: 坎地沙坦; H: 地拉普利; I: 氯沙坦羧酸; J: 硝苯地平; K: 布美他尼; L: 缬沙坦; M: 尼索地平; N: 坎地沙坦酯。

图 1(续) 14 种降压药的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 提取离子色谱图

Fig.1 Extract ion chromatograms of the 14 kinds of antihypertensive drugs using UPLC-Q-Orbitrap HRMS

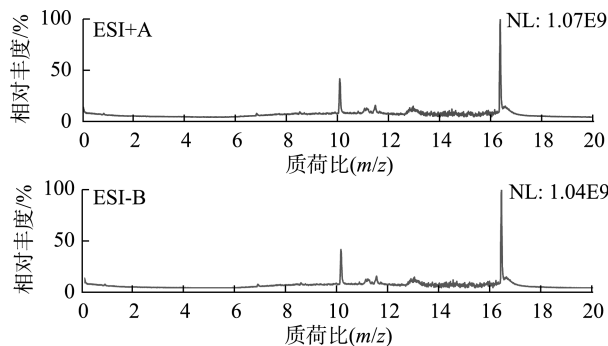
2.4 实际样品测定

基于上述方法, 本研究对从市场采购的 10 余批声称具有降血压功能的普通食品样品进行了测定, 典型样品的总离子流色谱图见图 2。将样品的总离子流信息通过 TraceFinder 按照 1.6 部分的分析方法进行检索后的结果表明, 有 1 批样品中检出了降压药坎地沙坦酯, 其余样品均未检出降血压药物。图 3、4 为检出的阳性样品的 m/z 611.2610 提取离子色谱图以及该化合物与数据库中坎地沙坦酯标准品的同位素比对结果, 可以看出该化合物色谱峰形锐利, 其同位素比例与坎地沙坦酯标准品同位素比例吻合较好。为了进一步判断该化合物是否为坎地沙坦酯, 本研究对样品中 m/z 611.2610 化合物的二级碎片离子谱以及对应的结构式进行了解析(图 5)。从图 5 可以看出, 该化合物的裂解方式完全符合坎地沙坦酯的预期裂解途径, 因此, 基本可以确认样品中检出的该化合物就是坎地沙坦酯。最后, 本研究又通过购买坎地沙坦酯化合物标准品对结果进行了验证, 样品中坎地沙坦酯二级质谱图与坎地沙坦酯标准品二级质谱图对比结果见图 6, 结果显示, 样品中坎地沙坦酯二级质谱图与坎地沙坦酯标准品二级质谱图匹配良好。最终确认了本研究结果的准确性。

3 结论

本研究采用液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质

谱技术, 通过分子离子精准质量数比对、同位素分布比对进行初筛, 阳性化合物二级碎片离子解析多重鉴别模式, 建立了一种不需要标准品即可对保健食品中 136 种降压药进行快速精准筛查的分析方法。本方法分析通量高, 速度快, 成本低, 可应用于实际样品中非法添加降压类药物的精准筛查。



注: A: 电喷雾电离源正离子模式; B: 电喷雾电离源负离子模式。

图 2 典型样品总离子流图

Fig.2 Total ion chromatograms of typical sample

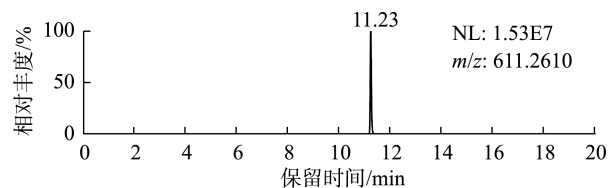
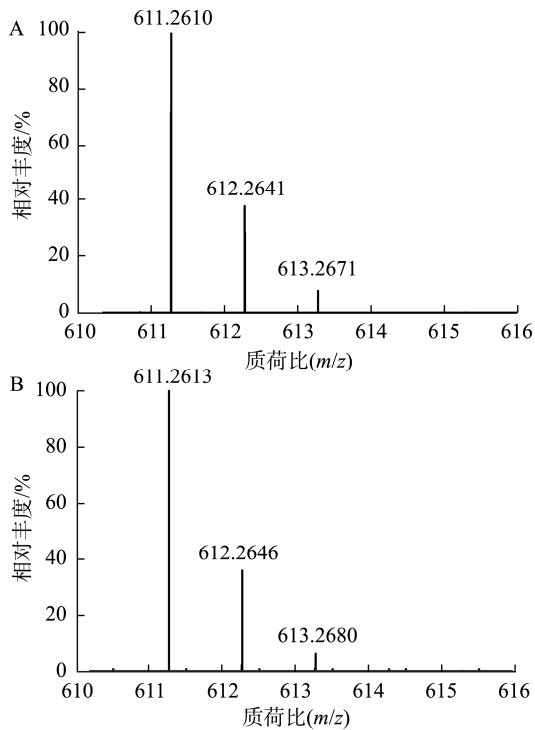


图 3 样品中 m/z 611.2610 的提取离子流色谱图

Fig.3 Extracted ion chromatogram of m/z 611.2610 in sample



注: A: 同位素模式; B: 坎地沙坦酯标准品同位素模式。

图4 样品中 m/z 611.2610 的质谱图

Fig.4 Mass spectroms of m/z 611.2610 in sample

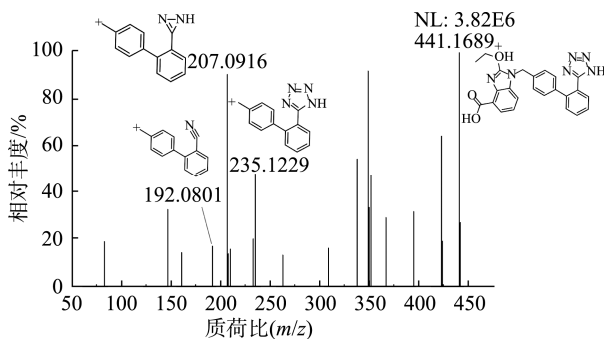
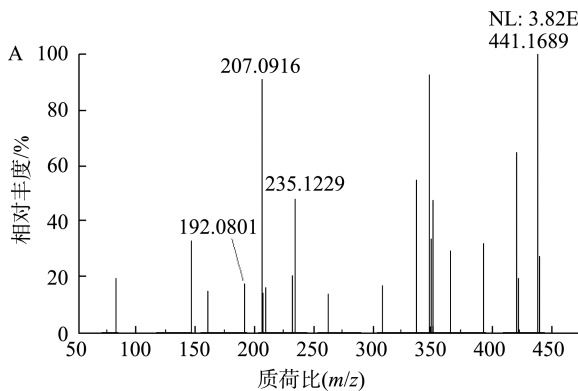


图5 样品中 m/z 611.2610 的二级碎片离子谱

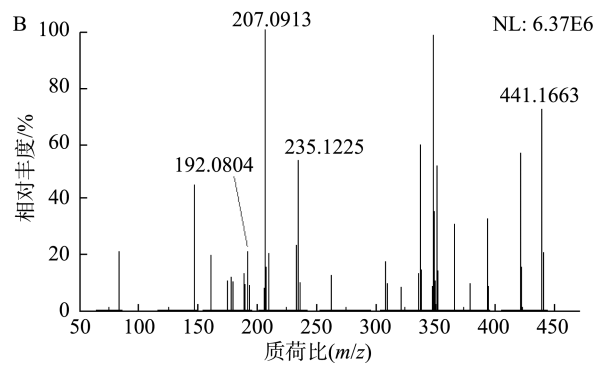
Fig.5 Secondary fragment ion spectroscopy of m/z 611.2610 in sample



注: A: 样品中坎地沙坦酯; B: 坎地沙坦酯标准品。

图6 二级质谱图

Fig.6 Secondary mass spectrometry



注: A: 样品中坎地沙坦酯; B: 坎地沙坦酯标准品。

图6(续) 二级质谱图

Fig.6 Secondary mass spectrometry

参考文献

- 马杰, 李婷, 张媛, 等. 海藻中活性物质抗高血压与抗肥胖作用的研究现状[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(6): 1711-1717.
MA J, LI T, ZHANG Y, *et al.* Research status of antihypertensive and anti-obesity effect of active substances in seaweed [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(6): 1711-1717.
- 谭艳辉. 维生素与防治高血压相关性的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(21): 7777-7783.
TAN YH. Research progress on the correlation between vitamin and prevention and treatment of hypertension [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(21): 7777-7783.
- 沈亮. 食品源性降血压活性肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(14): 390-394.
SHEN L. Research progress in food protein-derived antihypertensive peptides [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(14): 390-394.
- 宁霄, 张伟清, 王钢力, 等. 保健食品中非法添加药物的检测现状及筛查策略研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(5): 1876-1882.
NING X, ZHANG WQ, WANG GL, *et al.* Detection status and screening strategy of illegally added drugs in healthy food [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1876-1882.
- WLA B, FZA B, TCA B, *et al.* Nontargeted screening method for veterinary drugs and their metabolites based on fragmentation characteristics from ultrahigh-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2022, 369: 130928.
- 田甜, 覃艳淑, 赵德恩, 等. 食品和保健食品中非法添加药物的筛查探究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 1200-1208.
TIAN T, QIN YS, ZHAO DEN, *et al.* Research of screening of illegal added drugs in food and health food [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(3): 1200-1208.
- ROCHA T, AMARAL JS, OLIVEIRA MBP. Adulteration of dietary supplements by the illegal addition of synthetic drugs: A review [J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2016, 15(1): 43-62.
- HARDEMAN JH. Hypertension and the dental patient [J]. *Dent Today*, 2017, 36(1): 126-134.
- 陈梓云, 彭梦侠. 快速筛查降压类中成药中的二氢吡啶类拮抗降压药[J]. 嘉应学院学报, 2019, 37(6): 52-57.
CHEN ZY, PENG MX. Rapid screening of dihydropyridine calcium antagonists in Chinese patent antihypertensive drugs [J]. *J Jiaying Univ*, 2019, 37(6): 52-57.
- YUAN Y, CHEN N, WANG L, *et al.* Rapid detection of illegally added

- nifedipine in Chinese traditional patent medicine by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Anal Sci*, 2022, 38(2): 359–368.
- [11] DONG J, HAO X. Identification of hypotensive drugs illegally added to flower buds of *Panax notoginseng* by laser Raman spectroscopy [J]. *China Pharm*, 2017, 20(2): 391–393.
- [12] HILLAERT S, BOSSCHE W. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and several angiotensin-II-receptor antagonists by capillary electrophoresis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 31(2): 329–339.
- [13] ALNAJJAR AO. Validation of a capillary electrophoresis method for the simultaneous determination of amlodipine besylate and valsartan in pharmaceuticals and human plasma [J]. *J AOAC Int*, 2011, 94(2): 498–502.
- [14] ZEID AM, ABOSHABANA R, IBRAHIM FA. First-order derivative synchronous spectrofluorimetric determination of two antihypertensive drugs, metolazone and valsartan, in pharmaceutical and biological matrices [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, 267: 120591.
- [15] MOUSSA BA, HASHEM HMA, MAHROUSE MA, *et al.* Synchronized determination of the novel heart failure combination therapy containing sacubitril calcium and valsartan by a validated spectrofluorimetric method [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 253: 119613.
- [16] NUGROHO A, RITONGA FD. Rapid analysis of adulterated dexamethasone in joint-pain killer traditional herbal medicine (THM) using infrared spectroscopy [J]. *EKSakta: J Sci Data Anal*, 2018, 137–145.
- [17] ASSI S, ROBERTSON I, COOMBS T, *et al.* The use of portable near infrared spectroscopy for authenticating cardiovascular medicines [J]. *Spectroscopy-US*, 2019, 34(5): 46–54.
- [18] 饶金华, 何为, 刘志杰, 等. 应用近红外漫反射光谱法对缬沙坦胶囊进行一致性检验[J]. *首都食品与医药*, 2015, 22(12): 80–81.
- RAO JH, HE W, LIU ZI, *et al.* Conformity test of valsartan capsules by near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. *Cap Food Med*, 2015, 22(12): 80–81.
- [19] LI T, ZHU XH, LIN F. GC-MS determination of chemical drugs added illegally in Chinese patent medicine and health food [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2010, 30(11): 2212–2215.
- [20] 苏小川, 农时锋, 张瑞. 气相色谱-质谱联用法检测保健品中的违禁药物[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 10: 1739–1740.
- SU XC, NONG SF, ZHANG R. Qualitative analysis of some prohibited drugs in health food by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Heal Lab Technol*, 2007, 10: 1739–1740.
- [21] 李涛, 朱小红, 林芳. GC-MS 联用方法检测降压类中成药及保健品中非法添加的化学药物[J]. *药物分析杂志*, 2010, 30(11): 2212–2215.
- LI T, ZHU XH, LIN F. GC-MS determination of chemical drugs added illegally in Chinese patent medicine and health food [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2010, 30(11): 2212–2215.
- [22] FANG F, QI Y, LU F, *et al.* Highly sensitive on-site detection of drugs adulterated in botanical dietary supplements using thin layer chromatography combined with dynamic surface enhanced Raman spectroscopy [J]. *Talanta*, 2016, 146: 351–357.
- [23] XU F, LI X, LI L, *et al.* Rapid detection of three chemical components added illegally into antihypertensive health food by TLC concentration in situ combined with micro-Raman spectroscopy method [J]. *Chem J Chin Univ*, 2018, 39(6): 1172–1177.
- [24] 纪宏, 刘晶, 王威, 等. UPLC 法同时测定缬沙坦氢氯噻嗪片中缬沙坦和氢氯噻嗪的含量[J]. *中国药房*, 2017, 28(15): 2131–2133.
- JI H, LIU J, WANG W, *et al.* Simultaneous determination of valsartan and hydrochlorothiazide in valsartan hydrochlorothiazide tablets by UPLC [J]. *Chin Pharm*, 2017, 28(15): 2131–2133.
- [25] HEO S, CHOI J Y, YOO G J, *et al.* Simultaneous analysis of 35 specific antihypertensive adulterants in dietary supplements using LC/MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, 31(4): e3856.
- [26] ZHU HG, ZHAO Y, WU S, *et al.* Simultaneous determination of calcium antagonists in antihypertensive dietary supplements by HPLC-MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(7): 1141–1150.
- [27] 包懿, 刘斌, 赵洋, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定降压类保健食品中 5 种 α -受体阻断剂类非法添加药物的含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(6): 1565–1570.
- BAO Y, LIU B, ZHAO Y, *et al.* Simultaneous determination of 5 kinds of α -receptor antagonists in antihypertensive health foods by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(6): 1565–1570.
- [28] 周亚兰, 席彰, 康靖. 高效液相色谱-串联质谱法检测中成药/保健食品中非法添加的 49 种化学药物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(9): 2907–2915.
- ZHOU YL, XI Z, KANG J. Determination of 49 kinds of illegally added chemical drugs in Chinese patent medicines and health foods by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(9): 2907–2915.
- [29] 刘斌, 包懿, 郎乐, 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及定量分析保健品中 29 种非法添加物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(6): 1511–1518.
- LIU B, BAO Y, LANG L, *et al.* Rapid screening and quantitative analysis of 29 kinds of illegally added compounds in diet health foods by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(6): 1511–1518.
- [30] 袁利杰, 纵伟. 高分辨质谱法快速筛查功能性保健食品中 19 种特征性成分[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(20): 6518–6527.
- YUAN LJ, ZONG W. Rapid screening of 19 characteristic components in functional health food by high resolution mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(20): 6518–6527.
- [31] 赵孔祥, 柴铭骏, 宋旭, 等. 液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法测定保健食品中降压类药物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(11): 3481–3487.
- ZHAO KX, CHAI MJ, SONG X, *et al.* Determination of antihypotensive drugs in health food by liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(11): 3481–3487.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



申一鸣, 硕士, 主要研究方向为化学工程及食品检测。

E-mail: shenyiming1998@163.com



李磊, 博士, 副教授, 主要研究方向为药物新剂型及药品安全检测。

E-mail: lilei@syuct.edu.cn