

本文引文格式:黄忠亮,李树康,陆珊珊,等.基于液相色谱法快速筛查贴敷医疗器械产品中非法添加的糖皮质激素类药物[J].右江民族医学院学报,2024,46(4):601-605.

【论著与临床报道】

## 基于液相色谱法快速筛查贴敷医疗器械 产品中非法添加的糖皮质激素类药物

黄忠亮,李树康,陆珊珊,方珍文

(广西壮族自治区医疗器械检测中心,广西 南宁 530031)

**摘要:**目的 观察液相色谱法筛查贴敷医疗器械产品中非法添加糖皮质激素类药物的效果。方法 采用液相色谱法快速测定贴敷类医疗器械产品中非法添加的氢化可的松、地塞米松、醋酸泼尼松、醋酸可的松、醋酸地塞米松等5种糖皮质激素类化学物质。结果 5种化学药物的浓度在1~20 mg/L范围内,标准曲线线性良好( $r > 0.999$ ),5种物质最低检出限在0.008~0.042 mg/kg范围内,加标回收率为89.28%~107.50%,RSD为0.02%~0.29%;精密密度试验、稳定性试验结果良好。结论 建立的测定方法具有预处理时间短,精密密度、稳定性好的优势,可用于快速筛查贴敷类医疗器械产品中非法添加的5种化学物质。

**关键词:**贴敷类医疗器械产品;糖皮质激素;液相色谱法

中图分类号:R446.1

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2024)04-0601-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2024.04.025

### Rapid screening of illegally added glucocorticoid drugs in medical devices for application by liquid chromatography

HUANG Zhongliang, LI Shukang, LU Shanshan, FANG Zhenwen

(Guangxi Testing Center for Medical Devices, Nanning 530031, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the effectiveness of liquid chromatography in screening for illegally added glucocorticoid drugs in medical devices for application. **Methods** Liquid chromatography was used to rapidly determine the presence of five illegally added glucocorticoid chemicals in medical devices for application: hydrocortisone, dexamethasone, prednisone acetate, cortisone acetate, and dexamethasone acetate. **Results** The concentrations of the five chemicals ranged from 1 to 20 mg/L, with good linearity in the standard curves ( $r > 0.999$ ). The minimum detection limits for the five substances ranged from 0.008 to 0.042 mg/kg, with recovery rates between 89.28% and 107.50%, and RSDs from 0.02% to 0.29%. The precision and stability test results were satisfactory. **Conclusion** The established method has the advantages of short pretreatment time, good precision and stability, and can be used for rapid screening of five illegal chemicals added in the medical devices for application.

**Key words:** application medical devices products; glucocorticoids; liquid chromatography

基金项目:广西壮族自治区药品监督管理局2023年直属单位药品安全科研项目(桂药监科直属[2023]003号)

第一作者:黄忠亮,高级工程师,研究方向:医疗器械、食品、药品及化妆品检验检测技术研究及开发、质量监督、实验室管理,E-mail:632617448@qq.com

通讯作者:方珍文,硕士,副主任药师,研究方向:医疗器械检验和实验室管理工作,E-mail:570112285@qq.com

贴敷类医疗器械产品通过物理升温、物理退热、穴位压力刺激或者磁场辐射等作用促进血液循环、辅助消炎<sup>[1]</sup>,以达到消肿止痛和降温的疗效,因其使用方便、治疗效果好,在国内被广泛消费。得益于贴敷类产品盈利好、销量高,使得产品生产种类和数量激增,部分厂商为了提高产品医用效果和市场竞争力,擅自在生产过程中添加非法药物,特别是糖皮质激素(glucocorticoids, GCs)类化学药物,如氢化可的松、地塞米松、醋酸泼尼松、醋酸可的松、醋酸地塞米松等,而长期使用 GCs 会诱发依赖性皮炎、高血压、高血糖、发育畸形等健康风险<sup>[2]</sup>。因此,国家药监局发布了多个检测方法 with 监督抽检方案,以强化对贴敷类医疗器械产品中非法添加化学药物的监管。并在相关文件中通报了 21 家厂商,生产的多批次产品中均含有 GCs 类化学药物等非法添加物。由此可见,加强对该类非法添加激素药物的检测和监管迫在眉睫。当前,检测贴敷类非法添加 GCs 药物的方法主要有分光光度法、液相色谱法、气相色谱法和超高相液相色谱——串联质谱法等<sup>[3]</sup>,其中液相色谱法(LC)具有灵敏度高、检测准确和分析快速的优点,应用最为广泛<sup>[4-5]</sup>。市场上贴敷类产品种类繁多、构型多变、成分复杂、药物含量差异大,仅利用常规色谱仪快速、准确地检测出其中的激素类非法添加药物,仍是一个挑战<sup>[6]</sup>。本研究通过改良样

品制备方法、优化色谱测定参数等,建立适用于典型贴敷类医疗器械产品中 GCs 类化合物检测的色谱法,为快速筛查贴敷类医疗器械产品中的 GCs 类化学药物提供理论参考和技术支持,并为市场监管提供坚实保障。

## 1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-16 型液相色谱仪,配有紫外检测器[岛津仪器(苏州)有限公司];XSE205DU 电子天平(瑞士梅特勒托利多 METTLER TOLEDO);VM-600Max 旋涡振荡器(浙江群安科学仪器有限公司);KQ-300GVDV 超声清洗仪(昆山舒美超声仪器有限公司);ST8 离心机(赛默飞世尔科技公司)。

1.2 试剂 甲醇、乙腈为色谱级(德国默克公司);磷酸为色谱级(阿拉丁生化科技股份有限公司);纯化水用 Milli-Q 纯化系统制备(美国密理博公司)。氢化可的松对照品(批号:22100664,含量 $\geq 98.8\%$ ),地塞米松对照品(批号:23030973,含量 $\geq 99.5\%$ ),醋酸泼尼松对照品(批号:23090482,含量 $\geq 98.8\%$ ),醋酸可的松对照品(批号:G22030035,含量 $\geq 98.6\%$ ),醋酸地塞米松对照品(批号:A909C021,含量 $\geq 98\%$ )。

1.3 贴敷类样品 统计了购物网站上销售排名靠前的 24 种贴敷类医疗器械产品,按照医疗用途的不同,购买了 24 批产品,详细信息见表 1。

表 1 24 批贴敷类医疗器械产品信息

编号	名称	生产批号	编号	名称	生产批号
S1	远红外理疗贴	230406	S13	远红外小二止泻贴	20220701 10
S2	远红外理疗贴	23071107A	S14	医用退热贴	20230327
S3	远红外磁疗贴	23072018	S15	远红外小儿止咳贴	20230107
S4	远红外磁疗贴	23050801	S16	远红外小儿止咳贴	20230101
S5	穴位贴敷	20220702	S17	远红外小儿止咳贴	230215
S6	远红外理疗贴	20230425	S18	远红外小儿腹痛贴	20230306 011
S7	颈肩腰腿痛磁疗贴	20230503	S19	穴位贴敷治疗贴	22122401
S8	远红外消炎止痛贴	2023050302R	S20	穴位压力刺激贴	20230411
S9	远红外伤痛贴	20230609S3	S21	远红外小儿止咳贴	20221227 016
S10	颈肩腰腿痛磁疗贴	20230701	S22	远红外乳腺消痛贴	20230426R4
S11	远红外活血止痛贴	20220601	S23	小儿止咳贴	20230501
S12	远红外咳喘化痰贴	20230606K2	S24	远红外小儿腹痛贴	221215

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Shim-pack GIS C18 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m);流动相:乙腈-水(体积比 40%:60%);等度洗脱流速:1 mL/min;洗脱时间:30 min,检测波长为 240 nm,进样量为 10  $\mu$ L,色谱柱温度为 33  $^{\circ}$ C。

2.2 对照品储备液及标准液的配制 精密称取氢化可的松、地塞米松、醋酸泼尼松、醋酸可的松、醋酸地塞米松对照品 10.08 mg、10.09 mg、10.11 mg、10.19

mg、10.00 mg,分别置于 10 mL 容量瓶,甲醇定容至刻度,摇匀,即得氢化可的松、地塞米松、醋酸泼尼松、醋酸可的松、醋酸地塞米松对照品储备液。精密量取氢化可的松、地塞米松、醋酸泼尼松、醋酸可的松、醋酸地塞米松对照品储备液适量至 10 mL 容量瓶,甲醇定容至刻度,摇匀,即得浓度均为 20 mg/L 的 5 种物质混合标准溶液。取 5 种物质混合标准溶液逐级稀释,配制成浓度约为 20 mg/L、10 mg/L、5 mg/L、2.5 mg/L、1 mg/L 的 5 个浓度的系列混合标准溶液。

2.3 样品供试液的制备 取 S1 样品 4 贴,分别应用于 4 种样品预处理方法的评估。方法 1 参考了《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》的研究,具体过程:取 S1 样品 1 贴,撕开不粘层,并充分展开贴在定量滤纸上,用剪刀裁去多余滤纸,然后将样品裁剪成 0.5 cm×0.5 cm 大小,并置于 150 mL 烧瓶中,再加入甲醇溶液将样品完全浸没,然后将混合物转移至回流装置中,于 70 °C 下反复回流两次,每次回流时间为 2 h。接着,将浸提液转移至 100 mL 容量瓶中,同时用少量甲醇反复洗涤样品 3 次,并将洗涤液合并至容量瓶中,再用甲醇定容至 100 mL 并摇匀。最后将容量瓶中的浸提液过 0.2 μm 微孔滤膜,取过滤后滤液作为待测试样。

方法 2~方法 4 的预处理过程:取 S1 样品各 1 贴,撕开不粘层,并充分展开贴在定量滤纸上,用剪刀裁去

多余滤纸,然后将样品裁剪成 0.5 cm×0.5 cm 大小,分别置于 50 mL 离心管中,分别加入 40 mL 甲醇。之后 3 种方法区别为,方法 2 在 40 °C 下超声 10 min 后,置于 3 000 r/min 的条件下漩涡振荡 20 min,并在 8 000 r/min 离心 5 min。方法 3 是在 3 000 r/min 漩涡振荡 20 min,继而在 8 000 r/min 离心 5 min。方法 4 是在 3 000 r/min 转速下漩涡振荡 30 min,再 8 000 r/min 条件下离心 5 min。最后 3 种方法的离心液均利用 0.22 μm 微孔滤膜进行过滤,滤液作为最终供试液。

取 4 种方法预处理制配的供试液,分别取 3 份平行样品按 2.1 色谱条件进行分析。由表 2 显示结果可知,方法 3 较其他 3 种方法加标回收率高及样品前处理时间最短,因此,本文选用方法 3 作为样品前处理方法。

表 2 供试液不同制备方法与加标回收率

药物名称	方法 1		方法 2		方法 3		方法 4	
	回收率	均值	回收率	均值	回收率	均值	回收率	均值
氢化可的松	108.12	108.26	106.35	106.61	100.63	100.70	106.39	106.03
	108.21		106.66		100.70		105.21	
	108.44		106.83		100.78		106.48	
地塞米松	107.64	107.70	107.62	107.78	99.01	99.06	107.54	107.56
	107.64		107.78		99.18		107.59	
	107.81		107.93		99.00		107.54	
醋酸泼尼松	103.41	103.49	102.90	103.05	97.59	97.60	102.16	102.18
	103.51		103.10		97.66		102.23	
	103.56		103.14		97.55		102.16	
醋酸可的松	107.62	107.60	106.00	106.12	101.63	101.64	106.80	106.81
	107.54		106.11		101.80		106.87	
	107.64		106.25		101.50		106.77	
醋酸地塞米松	102.26	102.30	102.53	102.79	95.51	95.88	103.20	103.28
	102.30		102.90		96.58		103.28	
	102.35		102.93		95.55		103.35	

2.4 检出限及线性关系的考察 精密量取“2.2 项下”系列混合对照品溶液,按“2.1”方法进行分析,以各组分的质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线。同时,以 3 倍基线噪声所对应的质量浓度作为测定方法的检出限(SLOD)浓度。5 种化学药

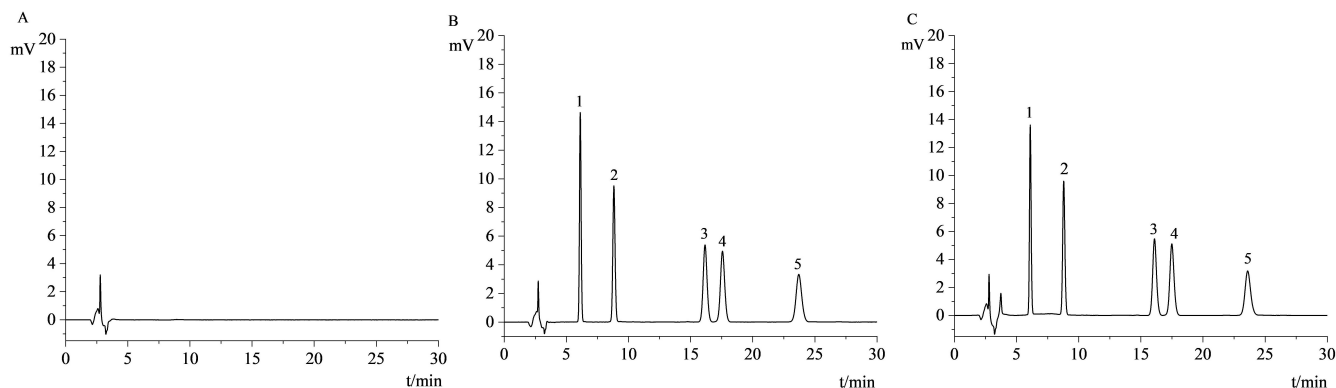
物的线性回归方程、相关系数  $r$ 、线性范围和检出限浓度,见表 3。在 1~20 mg/L 范围内,线性关系良好,线性相关系数  $r$  均  $>0.999$ ,方法的检出限为 0.008~0.042 mg/kg,说明本方法灵敏度好,准确度高。

表 3 5 种化学药物的标准曲线方程、线性关系和检出限

化学药物	标准曲线线性方程	相关系数 $r$	线性范围/(mg·L <sup>-1</sup> )	检出限浓度/(mg·kg <sup>-1</sup> )
氢化可的松	$y=24970x+6782.8$	0.9994	1~20	0.008
地塞米松	$y=22184x+7152.6$	0.9995	1~20	0.011
醋酸泼尼松	$y=21941x+6362.5$	0.9995	1~20	0.020
醋酸可的松	$y=21950x+6580.8$	0.9995	1~20	0.022
醋酸地塞米松	$y=19546x+5506.0$	0.9994	1~20	0.042

2.5 系统适应性性实验 取 S1 样品 1 贴,加入“2.2 项下”5 mg/L 混合标准溶液适量,按“2.3 项下”方法进行预处理,得阳性供试液;取空白溶液、5 mg/L 混合标准溶液、阳性供试液按“2.1 项下”方法进样分析,色

谱图见图 1。阳性供试液与对照品溶液各组分色谱峰的保留时间基本一致,且分离度均 $>1.5$ ,理论塔板数均 $>4\ 000$ ,无干扰峰,具有良好专属性。



注:A. 空白溶液;B. 对照品溶液;C. 阳性供试品溶液。标识峰中:1. 氢化可的松;2. 地塞米松;3. 醋酸可的松;4. 醋酸泼尼松;5. 醋酸地塞米松。

图 1 样品的液相色谱图

2.6 精密度实验 精密量取“2.2 项下”5 mg/L 混合标准溶液,进样分析 6 次,计算氢化可的松、地塞米松、醋酸可的松、醋酸泼尼松、醋酸地塞米松峰面积的 RSD 分别为 0.27%、0.24%、0.43%、0.44%、0.77%,保留时间的 RSD 分别为 0.06%、0.05%、0.04%、0.04%、0.05%,精密度良好。

2.7 稳定性实验 精密量取“2.2 项下”5 mg/L 混合标准溶液,在 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h 分别进样分析,氢化可的松、地塞米松、醋酸可的松、醋酸泼尼松、醋酸地塞米松的峰面积的 RSD 分别为 0.64%、0.98%、0.19%、0.17%、0.20%;保留时间的 RSD 分别为 0.17%、0.20%、0.25%、0.26%、0.28%,样品在 24 h 内稳定性良好。

2.8 回收率实验 取 S1 样品 9 贴分别加入“2.2 项下”对照品储备液适量,按“2.3 项下”方法制备。分别配制高(120%)、中(100%)、低(80%)3 个浓度的模拟阳性溶液( $n=3$ ),按“2.1 项下”方法进样,计算样品加标回收率。各目标化合物的平均回收率在 95.56%~104.63%,平均 RSD 在 0.02%~0.29%,见表 4。

表 4 5 种化学药物加标回收率

化学药物	平均回收率	回收率区间	RSD
氢化可的松	95.56	90.75~98.26	0.02
地塞米松	102.12	96.73~105.46	0.29
醋酸泼尼松	101.72	93.83~106.00	0.12
醋酸可的松	104.63	101.18~107.50	0.18
醋酸地塞米松	95.96	89.28~99.64	0.06

2.9 样品分析 取 24 批样品按“2.3 项下”方法制备供试液,按“2.1 项下”进样分析,计算含量。结果显示,有 1 批样品检测出地塞米松,1 批样品检测出醋酸可的松,1 批样品检测出醋酸泼尼松,2 批样品检测出醋酸地塞米松,共计 5 批样品检测出非法添加糖皮质激素药物,结果见表 5。

表 5 各检出样品中 5 种糖皮质激素测定结果

样品	单位:mg/kg				
	氢化可的松	地塞米松	醋酸可的松	醋酸泼尼松	醋酸地塞米松
S1~S5	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
S6	未检出	未检出	未检出	未检出	157.988
S7	未检出	未检出	未检出	未检出	0.640
S8,S9	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
S10	未检出	未检出	未检出	未检出	4.102
S11	未检出	0.307	1.056	未检出	3.924
S12~S18	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
S19	未检出	未检出	未检出	121.132	未检出
S20~S24	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

### 3 讨论

本文选取 24 批市面上畅销的贴敷类医疗器械产品为研究样品,通过考察了不同流动相比比例和不同样品前处理方法,进而优化液相色谱法测定糖皮质激素类药物的分析方法,得出如下结论:①流动相比比例为乙腈-水(40:60)可在 25min 中内出完 5 种物质的色谱峰;②将样品剪成 0.5 cm×0.5 cm 的小片贴,取 50 mL 离心管加入 40 mL 甲醇同时在 3 000 r/min 的条件下漩涡振荡 30 min,后在 8 000 r/min 条件下离心 5 min 提取样品回收率在 95.88%~101.64% 范围内,表

明方法 3 预处理样品的回收率最好和耗时最短。同时,将样品裁剪成小块,能有效增大样品与溶剂接触面积,加快样品中化合物的释放;③针对 24 种样品,利用方法 3 预处理后,本文色谱条件下检测发现,有 4 种样品含有醋酸地塞米松,其中 S6 样品含量最高,并且在 S11 样品中同时检测出了地塞米松、醋酸可的松和醋酸地塞米松在内的 3 种糖皮质激素类药物,非法添加物种类最多。由此可知,本文实验方法对 5 种糖皮质激素类药物的分析进行整合,缩短分析时间,且该方法灵敏度和准确度高。可应用到敷贴类医用产品中糖皮质激素类化学药物的快速筛查,并为市场监管提供坚实保障。

#### 参考文献:

[1] 郭常川,邢晟,许嘉平,等. 中成药和保健食品中非法添加 38 种激素的快速筛查[J]. 中成药,2020,42(4):949-954.

- [2] 龙存林,张敏娟,陈岳蓉,等. 浅析青海省贴敷类医疗器械中非法添加化学药物的情况[J]. 中国医疗器械信息,2023,29(15):14-16,26.
- [3] 李静,周智明,陈张好. 高效液相色谱及其串联质谱技术在牙膏风险物质分析中的应用[J]. 广东化工,2024,51(4):111-112,54.
- [4] 李红英,黄程,李丽霞,等. 高效液相色谱法测定豆制品中的甲醛[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(4):1071-1075.
- [5] 贺习文,李宏,赵彩会,等. 高效液相色谱法测定饲料及饲料添加剂中维生素  $\beta_{12}$  新方法的研究[J]. 饲料工业,2019,40(12):27-30.
- [6] 孙海玲,鲍实,周茜,等. HPLC 法测定佐米曲普坦片有关物质及质量评价研究[J]. 中国药师,2023,26(12):519-526.

收稿日期:2024-04-17;修回日期:2024-05-24

(上接第 567 页)

- [5] PEGORARO S, ROS G, CIANI Y, et al. A novel HMGA1-CCNE2-YAP axis regulates breast cancer aggressiveness[J]. *Oncotarget*,2015,6(22):19087-19101.
- [6] CHIEFARI E, FOTI D P, SGARRA R, et al. Transcriptional regulation of glucose metabolism: the emerging role of the HMGA1 chromatin factor[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2018,9:357.
- [7] LI Z P, ZHOU H X, XIA Z J, et al. HMGA1 augments palbociclib efficacy via PI3K/mTOR signaling in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Biomark Res*,2023,11(1):33.
- [8] FU F F, WANG T, WU Z Y, et al. HMGA1 exacerbates tumor growth through regulating the cell cycle and accelerates migration/invasion via targeting miR-221/222 in cervical cancer[J]. *Cell Death Dis*,2018,9(6):594.
- [9] SHI M Y, LV X Y, ZHU M Q, et al. HMGA1 promotes hepatocellular carcinoma proliferation, migration, and regulates cell cycle via miR-195-5p[J]. *Anticancer Drugs*,2022,33(1):e273-e285.
- [10] 中华医学会肿瘤学分会,中华医学会杂志社. 中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)[J]. 中华医学杂志,2022,102(16):1169-1189.
- [11] PÁDUA D, PINTO DF, FIGUEIRA P, et al. HMGA1 has predictive value in response to chemotherapy in gastric cancer[J]. *Curr Oncol*,2021,29(1):56-67.
- [12] PALUMBO A J, DA COSTA N M, ESPOSITO F, et al. HMGA2 overexpression plays a critical role in the progression of esophageal squamous carcinoma[J]. *Oncotarget*,2016,7(18):25872-25884.

- [13] BENITO-MARTIN A, NOGUÉS L, HERGUETA-REDONDO M, et al. Mast cells impair melanoma cell homing and metastasis by inhibiting HMGA1 secretion[J]. *Immunology*,2023,168(2):362-373.
- [14] PUJALS M, RESAR L, VILLANUEVA J, et al. HMGA1, moonlighting protein function, and cellular real estate: location, location, location[J]. *Biomolecules*,2021,11(9):1334.
- [15] 周颖,钱莉莉,朱晨辰,等. 上皮性卵巢癌 CA125 半衰期与器官转移聚类的相关性分析[J]. 现代妇产科进展,2020,29(4):250-255.
- [16] ZHANG Z, WANG Q, CHEN F, et al. Elevated expression of HMGA1 correlates with the malignant status and prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Tumour Biol*,2015,36(2):1213-1219.
- [17] QIAO G B, WANG R T, WANG S N, et al. GRP75-mediated upregulation of HMGA1 stimulates stage I lung adenocarcinoma progression by activating JNK/c-JUN signaling[J]. *Thorac Cancer*,2021,12(10):1558-1569.
- [18] ALESSANDRO C, ROMINA S, GIANLUCA P, et al. Setting up and exploitation of a nano/technological platform for the evaluation of HMGA1b protein in peripheral blood of cancer patients[J]. *Nanomedicine*,2018,15(1):231-242.
- [19] MA W G, GAO Y, YAO X B, et al. Circ\_UBAP2 exacerbates proliferation and metastasis of OS via targeting miR-665/miR-370-3p/HMGA1 axis[J]. *Environ Toxicol*,2024,39(1):212-227.

收稿日期:2023-12-12;修回日期:2024-01-08