

UPLC-MS/MS 法同时测定扶正化瘀胶囊中 12 种成分

刘 珊^{1,2}, 杨 涛², 刘成海^{1,2,3*}

1. 华东理工大学药学院, 上海 200237

2. 上海中医药大学附属曙光医院 肝病研究所, 上海 201203

3. 上海高校中医内科学 E-研究院, 上海 201203

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 同时测定扶正化瘀胶囊 (FHC) 中 12 种成分 (丹参素钠、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、迷迭香酸、五味子醇甲、五味子醇乙、隐丹参酮、五味子甲素、丹参酮 II_A、五味子乙素、五味子丙素) 的定量方法。**方法** 选用 Acquity UPLC[®] HSS T₃ 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 0.3 mL/min, 柱温 45 °C。质谱条件: ESI 源, 采用多反应检测模式 (MRM), 以保留时间及定性离子对之间的相对丰度定性, 以定量离子对峰面积进行定量。**结果** 12 种成分在进样质量浓度范围内呈现良好的线性关系 ($r > 0.999\ 0$), 该方法回收率在 97.1%~107%, RSD < 2.0% ($n = 5$)。**结论** 该方法快速、简便、重复性好, 可用于同时测定 FHC 中多种成分。

关键词: 扶正化瘀胶囊; UPLC-MS/MS; 多反应检测模式; 丹参素钠; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 咖啡酸; 迷迭香酸; 五味子醇甲; 五味子醇乙; 隐丹参酮; 五味子甲素; 丹参酮 II_A; 五味子乙素; 五味子丙素

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)02-0214-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.02.012

Simultaneous determination of 12 major components in Fuzheng Huayu Capsules by UPLC-MS/MS

LIU Shan^{1,2}, YANG Tao², LIU Cheng-hai^{1,2,3}

1. School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

2. Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

3. E-Institute of Traditional Chinese Medicine Internal Medicine, Shanghai Municipal Education Commission, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To develop a ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of twelve major components (sodium danshensu, protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, caffeic acid, rosmarinic acid, schisandrin, schisandrol B, cryptotanshinone, deoxyschisandrin, tanshinone II_A, schisandrin B, and schisandrin C) in Fuzheng Huayu Capsules (FHC). **Methods** Chromatographic column: Acquity UPLC[®] HSS T₃, mobile phase: acetonitrile-water (including 0.1% formic acid), and gradient elution, flow rate: 0.3 mL/min, column temperature: 45 °C. MS condition: electrospray ionization (ESI) and multiple reaction monitoring (MRM) were adopted, the retention time and detected relative abundance of ion pairs were used for qualitative determination, the detected peak areas of ion pairs were used for quantitative determination. **Results** Good linear relationships of 12 components were provided over the investigated concentration ranges ($r > 0.999\ 0$). The overall average recovery rates were in the range of 97.1%—107% and RSD < 2.0% ($n = 5$). **Conclusion** The method is rapid, simple, repeatable, and can be used to determine the multi components in different batches of FHC simultaneously.

Key words: Fuzheng Huayu Capsules; UPLC-MS/MS; multiple reaction monitoring; sodium danshensu; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; caffeic acid; rosmarinic acid; schisandrin; schisandrol B; cryptotanshinone; deoxyschisandrin; tanshinone II_A; schisandrin B; schisandrin C

收稿日期: 2013-07-30

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973”项目 (2006CB504801); 上海市自然科学基金项目 (10ZR1431000); 上海市教育委员会 E-研究院建设项目 (E-03008); 中国博士后基金 (2012M520921); 上海市博士后基金 (12R21415400)

作者简介: 刘 珊 (1989—), 女, 硕士, 研究方向为复方药物化学。Tel: 13795369360 E-mail: liushan_6389@126.com

*通信作者 刘成海, 教授。Tel: (020)20256521 E-mail: chenghai_liu@yahoo.com.cn

扶正化瘀胶囊(Fuzheng Huayu Capsules, FHC)是由丹参、桃仁、虫草菌丝、五味子、绞股兰、松黄粉组成,2002年被国家药监局批准为抗肝纤维化中药新药,2006年中国中西医结合肝病学会在《中西医结合肝纤维化诊疗指南》中将其列为首选抗肝纤维化中成药,在国内广泛用于慢性肝病的治疗,同年被美国FDA批准在美国进行II期临床试验^[1-3]。研究发现扶正化瘀(FZHY)方药物血清能明显抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)内外胶原生成率,I型前胶原基因表达及其胶原分泌;同时能抑制HSC的TGF- β_1 与蛋白表达^[4]。本课题组已对FZHY复方中化学成分及入血成分进行了定性研究^[5-6],发现23种FZHY方的入血成分,主要为丹参中水溶性和脂溶性成分、五味子中木脂素类成分和桃仁中苦杏仁苷,同时采用高通量药物筛选方法对丹参水溶性成分的活性进行考察,研究结果显示丹酚酸B、丹参素钠、咖啡酸及迷迭香酸是FZHY方抗纤维化的部分效应成分。目前马诗瑜等^[7]对FZHY方中绞股蓝总皂苷和虫草多糖进行了定量研究,但尚无对FZHY方中丹参和五味子多成分的定量研究的文献报道,因此对其进行多成分同时定量研究,可为该复方的质量控制提供更全面、快速、可靠的方法。

UPLC与传统的HPLC相比,分离度、峰容量、分析效率、灵敏度和分辨率都有很大的提高,同时UPLC与许多技术如MS、TOF-MS等相连更加完善了现代分析技术,这对中药及其复方的多成分的同时定性与定量分析提供了强有力的技术手段^[8-9]。目前UPLC及其联用技术在中药化学成分分析、定量测定方面的使用越来越广泛,如邱玲玲等^[10]通过UPLC对黄连中6种生物碱进行了定量,李松林等^[11]基于UPLC-PDA-TOF-MS技术对现代中药颗粒剂与传统中药汤剂中的化学成分进行了比较研究。本研究主要是通过建立UPLC-MS/MS法^[12-13]同时测定FHC中多种成分的分析方法,并运用该方法进行FHC整体多指标成分定量。

1 仪器与材料

TSQ-Quantum液质联用仪,包括surveyor AS自动进样器,Surveyor MS Pump,Accela Pump溶剂输送泵,TSQ Quantum系列三级四级杆质谱仪及Xcalibur工作站(美国Thermo-Finnigan公司);色谱柱Acquity UPLC[®] HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m,美国Waters公司);SB5200D型超声清洗仪(宁

波新芝生物科技股份有限公司);梅特勒-托利多AL104电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);西门子纯水仪(德国Siemens公司)。

对照品咖啡酸(批号120326)、丹参素钠(批号130519)、原儿茶醛(批号100426)、五味子甲素(批号120802)、五味子乙素(批号120731)、五味子丙素(批号120809)、五味子醇甲(批号120823)、五味子醇乙(批号120723)、迷迭香酸(批号120729)、隐丹参酮(批号100121)、丹参酮II_A(批号100107)、原儿茶酸(批号120706),质量分数>98%,均购自上海融合科技发展有限公司;柳胺酚(批号53209),质量分数>98%,购自上海Sigma-Aldrich;FHC(批号120901、121003、121210、130316、130501)由上海黄海制药有限公司提供;乙腈、甲酸(色谱纯),购自Fisher Scientific Co(美国Santa Clara公司);水为实验室自制超纯水;其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Acquity UPLC[®] HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m)色谱柱;流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱程序:0~2 min, 5%~15%乙腈;2~2.5 min, 15%~30%乙腈;2.5~3.5 min, 30%~50%乙腈;3.5~4 min, 50%~70%乙腈;4~8 min, 70%~73%乙腈;8~9 min, 73%~75%乙腈;9~10 min, 75%~95%乙腈;10~12 min, 95%~98%乙腈;12~12.01 min, 98%~5%乙腈;12.01~15 min, 5%乙腈;体积流量为0.3 mL/min;柱温45 $^{\circ}$ C;进样量为5 μ L;分析时间15 min。

2.2 质谱条件

离子化方式为电喷雾(ESI);鞘气为氮气;辅助气为氮气;雾化器温度为370 $^{\circ}$ C;毛细管温度为350 $^{\circ}$ C;扫描方式为多反应检测模式(MRM),酚酸类成分采用负离子检测模式,木脂素类成分采用正离子检测模式,用于定量分析的离子对分别为丹参素钠(ESI⁻) m/z 197.6 $\rightarrow$ 136.4、咖啡酸(ESI⁻) m/z 179.1 $\rightarrow$ 136.4、原儿茶醛(ESI⁻) m/z 137.3 $\rightarrow$ 109.4、迷迭香酸(ESI⁻) m/z 359.5 $\rightarrow$ 162.3、原儿茶酸(ESI⁻) m/z 153.8 $\rightarrow$ 110.57、五味子甲素(ESI⁺) m/z 417.3 $\rightarrow$ 316.2、五味子乙素(ESI⁺) m/z 401.2 $\rightarrow$ 300.2、五味子丙素(ESI⁺) m/z 385.2 $\rightarrow$ 285.2、五味子醇甲(ESI⁺) m/z 433.3 $\rightarrow$ 384.3、五味子醇乙(ESI⁺) m/z 399.2 $\rightarrow$ 368.3、隐丹参酮(ESI⁺) m/z 297.2 $\rightarrow$

251.2、丹参酮 II_A (ESI⁺) m/z 295.2→249.2、柳胺酚 (内标, ESI⁺) m/z 230.0→121.2、柳胺酚 (内标, ESI⁻) m/z 228.9→121.2。

2.3 对照品溶液的制备

分别精密称取各对照品 5~12.5 mg, 加甲醇超声溶解后定容于 25 mL 量瓶中, 得到质量浓度为 200~500 μg/mL 的各成分对照品贮备液, 4 °C 冰箱冷藏备用。各取对照品贮备液适量, 甲醇稀释, 定容于 25 mL 量瓶中, 使各对照品的质量浓度均为 4 μg/mL, 即得到混合对照品溶液。另取柳胺酚 5 mg, 精密称定, 甲醇溶解后定容于 25 mL 量瓶中, 质量浓度为 200 μg/mL, 即得内标溶液, 4 °C 冰箱冷藏

备用。

2.4 供试品溶液的制备及方法优化

方中丹参和五味子的主要化学成分均在甲醇中有较好的溶解度, 故用甲醇提取, 本研究对甲醇体积分数及超声提取时间 2 个因素进行考察。提取溶剂分别为甲醇及 50%、95% 甲醇, 超声处理时间分别为 10、30、60 min。结果见表 1。从表中可看出, 用甲醇从 FHC 内容物中提取到的化学成分较其他 2 种溶剂提取的多, 而且甲醇超声处理 30 min 可提取完全, 超声 30、60 min 后浸出物的质量分数差异性不大, 因此, 本实验选择甲醇超声 30 min 制备供试品溶液。

表 1 FHC 各成分在不同提取溶剂和不同提取时间下的提取效果

Table 1 Extraction results of each component in FHC with different solvents and time

提取溶剂	t / min	质量浓度 / (mg·mL ⁻¹)											
		丹参素钠	原儿茶酸	原儿茶醛	咖啡酸	迷迭香酸	五味子醇甲	五味子醇乙	隐丹参酮	五味子甲素	丹参酮 II _A	五味子乙素	五味子丙素
甲醇	10	8.46	—	—	0.22	0.57	1.02	0.35	0.02	0.17	0.01	0.28	0.05
	30	9.33	0.51	1.31	0.24	0.60	1.23	0.34	0.02	0.18	0.02	0.28	0.06
	60	9.40	0.49	1.29	0.23	0.61	1.18	0.36	0.03	0.18	0.02	0.29	0.06
50% 甲醇	10	9.01	—	—	0.28	—	1.16	0.28	0.01	0.16	—	0.26	—
	30	9.20	—	0.98	0.31	—	1.21	0.30	0.02	0.17	—	0.30	—
	60	9.21	0.41	—	0.32	—	1.22	0.31	0.02	0.17	—	0.30	—
95% 甲醇	10	8.51	—	—	—	—	1.21	0.25	0.02	0.16	—	0.31	0.06
	30	9.01	—	—	—	—	1.21	0.25	0.02	0.17	0.02	0.32	0.06
	60	9.02	—	0.76	0.31	—	1.22	0.26	0.02	—	0.02	0.31	—

“—” 未检测到

“—” undetected

2.5 阴性对照溶液的制备

按照 FHC 处方制备不含丹参、桃仁、虫草菌丝、五味子、绞股兰、松黄粉药材的阴性对照品, 按照“2.4”项下方法制成阴性样品溶液。

2.6 专属性考察

按上述色谱条件, 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μL 进样测定, 结果阴性样品在各对照品的位置上无干扰。见图 1。

2.7 线性关系的考察

精密吸取混合对照品溶液适量, 依次稀释得系列质量浓度溶液 1 500、1 000、500、250、125、50、25、10、5、1、0.4 ng/mL, 加入内标溶液, 使其在混标溶液中质量浓度均为 100 ng/mL。在上述色谱条件下进样测定, 以对照品的峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 以进样质量浓度为横坐标 (X)

作图, 绘制各化合物标准曲线, 得到线性回归方程: 丹参素钠 $Y=0.0008X-0.0195$, $r=0.9998$, 线性范围 10~1 500 ng/mL, 检测限 5 ng/mL, 定量限 10 ng/mL; 原儿茶酸 $Y=0.0003X-0.0100$, $r=0.9998$, 线性范围 10~1 500 ng/mL, 检测限 5 ng/mL, 定量限 10 ng/mL; 原儿茶醛 $Y=0.0003X-0.0303$, $r=0.9994$, 线性范围 25~1 500 ng/mL, 检测限 10 ng/mL, 定量限 25 ng/mL; 咖啡酸 $Y=0.0061X-0.0068$, $r=0.9991$, 线性范围 10~1 500 ng/mL, 检测限 0.4 ng/mL, 定量限 10 ng/mL; 迷迭香酸 $Y=0.0028X-0.0425$, $r=0.9998$, 线性范围 10~1 500 ng/mL, 检测限 5 ng/mL, 定量限 10 ng/mL; 五味子醇甲 $Y=0.0054X-0.0780$, $r=0.9992$, 线性范围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.4 ng/mL, 定量限 1 ng/mL; 五味子醇乙 $Y=0.0207X-0.2052$, $r=0.9998$, 线

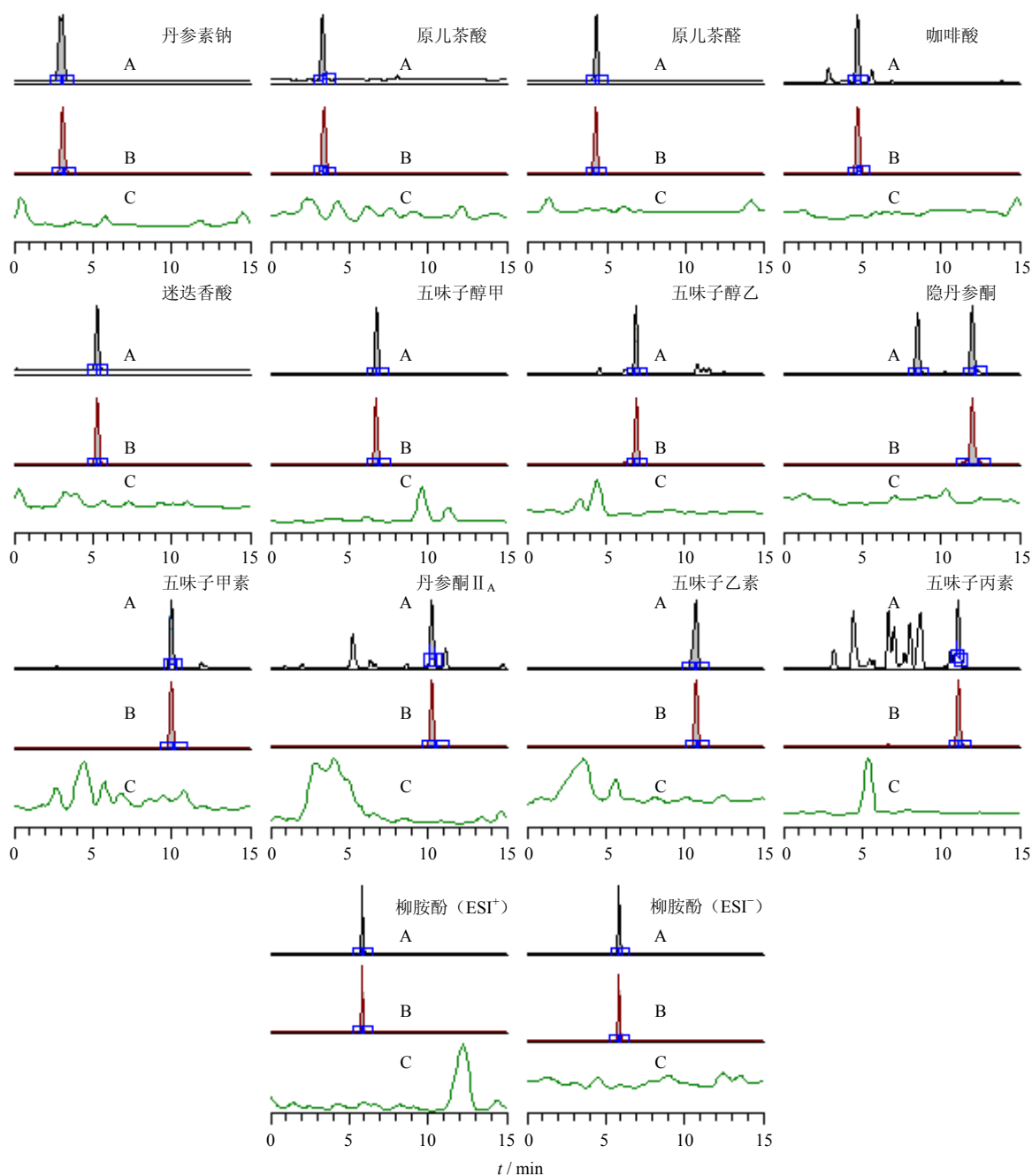


图 1 供试品溶液 (A)、对照品溶液 (B) 和阴性对照溶液 (C) 的提取离子流色谱图

Fig. 1 Ion chromatograms of sample solution (A), reference solution (B) and negative control solution (C)

性范围 5~1 500 ng/mL, 检测限 0.4 ng/mL, 定量限 5 ng/mL; 隐丹参酮 $Y=0.028\ 2\ X+0.038\ 9$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.1 ng/mL, 定量限 1 ng/mL; 五味子甲素 $Y=0.047\ 3\ X-0.141\ 4$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.1 ng/mL, 定量限 1 ng/mL; 丹参酮 II_A $Y=0.036\ 1\ X+0.009\ 4$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.1 ng/mL, 定量限 1 ng/mL; 五味子乙素 $Y=0.019\ 8\ X+0.006\ 3$, $r=0.999\ 9$, 线性范

围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.1 ng/mL, 定量限 1 ng/mL; 五味子丙素 $Y=0.004\ 7\ X-0.007\ 2$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 1~1 500 ng/mL, 检测限 0.1 ng/mL, 定量限 1 ng/mL。

2.8 精密度考察

精密吸取同一批 (批号 121003) 供试品溶液, 加入适量内标溶液, 按照“2.1”、“2.2”项下色谱质谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。12 个色谱峰与内标峰面积比值的 RSD 分别为丹参素钠 1.4%、原

儿茶酸 0.4%、原儿茶醛 0.2%、咖啡酸 1.8%、迷迭香酸 1.4%、五味子醇甲 0.5%、五味子醇乙 1.3%、隐丹参酮 1.2%、五味子甲素 2.0%、丹参酮 II_A 0.6%、五味子乙素 1.9%、五味子丙素 2.0%，表明仪器精密度良好。

2.9 重复性试验

精密吸取同一批（批号 121003）供试品溶液 6 份，加入适量内标溶液，按照“2.1”、“2.2”项下色谱质谱条件进样分析，记录色谱图。12 个色谱峰与内标峰面积比值的 RSD 分别为丹参素钠 0.9%、原儿茶酸 1.8%、原儿茶醛 1.3%、咖啡酸 1.7%、迷迭香酸 1.2%、五味子醇甲 1.6%、五味子醇乙 1.6%、隐丹参酮 1.7%、五味子甲素 1.6%、丹参酮 II_A 1.4%、五味子乙素 1.1%、五味子丙素 1.4%。

2.10 稳定性试验

精密吸取同一批（批号 121003）供试品溶液，加入适量内标溶液，按照“2.1”、“2.2”项下色谱质谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析，记录色谱图。12 个色谱峰与内标峰面积比值的 RSD 分别为丹参素钠 1.7%、原儿茶酸 0.9%、原儿茶醛 1.0%、咖啡酸 1.6%、迷迭香酸 1.5%、五味子醇甲

1.9%、五味子醇乙 0.9%、隐丹参酮 1.7%、五味子甲素 1.3%、丹参酮 II_A 1.8%、五味子乙素 0.9%、五味子丙素 1.8%，表明供试品溶液 24 h 内基本稳定。

2.11 加样回收率试验

精密称取已测定的同一批（批号 120901）样品 0.1 g，共 5 份，分别置于 25 mL 量瓶中，加入对照品适量，混合均匀，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，加入甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，在“2.1”、“2.2”项下色谱和质谱条件下测定丹参素钠、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、迷迭香酸、五味子醇甲、五味子醇乙、隐丹参酮、五味子甲素、丹参酮 II_A、五味子乙素、五味子丙素的量，计算回收率。结果平均回收率分别为 99.9%、105.0%、97.1%、108.0%、101.1%、101.0%、98.5%、102.3%、100.6%、102.0%、98.8%、107.0%，RSD 分别为 0.55%、0.07%、0.28%、0.99%、1.20%、0.74%、0.11%、1.08%、0.31%、0.09%、0.08%、0.11%。

2.12 样品测定

取不同批次 FHC，采用“2.4”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”和“2.2”色谱条件进样检测，结果见表 2。

表 2 不同批次 FHC 中多种成分的定量测定 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Determination of multi-components in different batches of FHC ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

批 号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)					
	丹参素钠	原儿茶酸	原儿茶醛	咖啡酸	迷迭香酸	五味子醇甲
120901	9.69±0.73	0.69±0.05	1.48±0.12	0.24±0.13	0.65±0.15	1.12±0.18
121003	8.46±0.93	0.53±0.05	1.77±0.79	0.27±0.13	0.67±0.42	1.05±0.22
121210	9.08±2.09	0.67±0.15	1.54±0.36	0.22±0.04	0.64±0.14	0.89±0.12
130316	8.22±1.74	0.49±0.01	1.24±0.03	0.22±0.06	0.66±0.14	0.98±0.17
130501	9.73±1.78	0.52±0.14	1.46±0.32	0.22±0.05	0.58±0.10	1.06±0.29
批 号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)					
	五味子醇乙	隐丹参酮	五味子甲素	丹参酮 II _A	五味子乙素	五味子丙素
120901	0.38±0.05	0.03±0.01	0.18±0.02	0.01±0.01	0.31±0.02	0.07±0.02
121003	0.35±0.03	0.03±0.04	0.17±0.01	0.01±0.01	0.34±0.05	0.07±0.02
121210	0.34±0.07	0.02±0.02	0.18±0.03	0.02±0.01	0.29±0.10	0.08±0.02
130316	0.36±0.05	0.03±0.01	0.17±0.01	0.01±0.01	0.34±0.06	0.06±0.01
130501	0.38±0.04	0.03±0.01	0.21±0.01	0.01±0.02	0.35±0.06	0.07±0.01

3 讨论

曾有文献报道考察了不同柱温对木脂素类成分的分离情况^[14]，结果显示柱温对五味子醇乙的分离有很大影响，较高的柱温可改善五味子醇乙的分离，且可以缩短分析时间，故选择 45 °C 的柱温。本实

验选择 Acquity UPLC[®] HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱，分离度符合要求，同时其具有耐高温高压的特点。FZHY 复方中成分复杂，化学成分间因极性大小不同造成溶解性存在差异性，且复方中含有的其他晚流出干扰组分或强保留组分会污

染色谱柱,故采用梯度洗脱可在下次进样前将这些杂质洗脱掉,使各组分得到充分分离。同时向水中加入 0.1%甲酸使丹参中极性较大的酚酸类成分分离效果更好,改善其峰型。

从测定结果上看,不同批次 FHC 间 12 种指标成分的量具有差异性,提示在 FZHY 方提取制备过程中应关注效应物质量的差别。本实验采用 UPLC-MS/MS 法对 FHC 中多种成分所建立的测定方法快速、准确,与传统采用 HPLC 测定的方法相比,样品分析时间大大缩短,同时分离度较高,峰形较好。

参考文献

- [1] 刘成海,卞化石,闻集普.扶正化瘀片抗慢性丙型肝炎肝纤维化美国临床试验介绍[J].药品评价,2008,5(5): 201-203.
- [2] Liu C H, Hu Y Y, Xu L M, *et al.* Effect of Fuzheng Huayu formula and its actions against liver fibrosis [J]. *Chin Med*, doi: 10.1186/1749-8546-4-12, 2009-7-29.
- [3] 刘成海.中药扶正化瘀方抗肝纤维化的效果在美国做研究[J].肝博士,2013(2): 10-11.
- [4] 刘成海,王晓玲,刘平,等.扶正化瘀 319 方药物血清对肝星状细胞 I 型胶原及转化生长因子 β_1 表达的影响[J].中国中西医结合杂志,1999,19(7): 412-414.
- [5] 沈丹萍,杨莉,刘成海,等.HPLC-MSⁿ 分析扶正化瘀方中五味子的入血成分[J].中国中药杂志,2011,36(7): 854-858.
- [6] Yang T, Shen D P, Wang Q L, *et al.* Investigation of the absorbed and metabolized components of Danshen from Fuzheng Huayu recipe and study on the anti-hepatic fibrosis effects of these components [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2): 691-700.
- [7] 马诗瑜,沈岚,徐列明,等.扶正化瘀方中多种组分成分的定量测定[J].中成药,2013,35(4): 699-704.
- [8] 常雁,再帕尔·阿不力孜,王慕邹.串联质谱新技术及其在药物代谢研究中的应用进展[J].药科学报,2000,35(1): 73-78.
- [9] Bi H G, Hoffman K L, Pace G, *et al.* Mixed-mechanism ionization to enhance sensitivity in atmospheric pressure ionization LC/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 22(5): 861-867.
- [10] Qiu L L, Chen L H, Yan D, *et al.* Simultaneous determination of six quaternary ammonium alkaloids in *Coptidis Rhizoma* by UPLC [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(2): 164-169.
- [11] Li S L, Song J Z, Qiao C F, *et al.* UPLC-PDA-TOFMS based chemical profiling approach to rapidly evaluate chemical consistency between traditional and dispensing granule decoctions of traditional medicine combinatorial formulae [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(4): 468-478.
- [12] 郁丹红,贾晓斌,施亚琴,等.丹参二萜醌组分及其固体分散体微丸中主要成分在大鼠体内的药动学研究[J].中草药,2013,44(7): 851-857.
- [13] 杨杰,黄丹雪,鹿秀梅,等.小柴胡汤化学成分及其在抑郁模型大鼠体内代谢成分的分析[J].中草药,2012,43(9): 1691-1698.
- [14] 陈颖契,邵青,瞿海斌.HPLC 同时测定糖克软胶囊中 5 种木脂素类成分的含量[J].中国药理学杂志,2008,43(22): 1751-1754.