

基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱的妇可靖胶囊中 11 种成分定量研究

刘俊^{1*}, 朱宝平¹, 孙志^{2*}, 侯朋艺³, 周霖²

1. 喀什地区第一人民医院 药学部, 新疆 喀什 844000

2. 郑州大学第一附属医院药学部, 河南 郑州 450000

3. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司色谱质谱部, 上海 201206

摘要: **目的** 建立基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap HRMS) 的妇可靖胶囊中多成分 (没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酚、欧当归内酯 A) 的定量分析方法。**方法** 液相采用 Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 0.2 mL/min; 质谱采用 HESI 离子源, 利用其高分辨的特点采用一级 Full mass 扫描的方式进行定量; 并将定量测定结果导入多元数据处理软件 SIMCA14.0 中进行质量评价分析。**结果** 在优化的色谱质谱条件下, 没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酚、欧当归内酯 A 分别在 0.15~1.50、0.80~8.00、1.50~15.00、0.04~0.40、0.015~0.150、0.10~1.00、0.004~0.040、0.004~0.040、0.02~0.20、0.01~0.10、0.04~0.40 μg/mL 线性关系良好 ($r \geq 0.999\ 5$); 精密度、重复性及稳定性良好 ($RSD \leq 4\%$); 加样回收率在 98%~102%, RSD 均小于 3%; 所测成分在各批次样品中的质量分数依次为没食子酸 26.36~31.03 μg/g、丹参素 178.85~210.79 μg/g、阿魏酸 320.91~343.16 μg/g、迷迭香酸 2.84~3.09 μg/g、丹酚酸 B 3.55~4.25 μg/g、木犀草素 27.33~32.36 μg/g、芹菜素 1.89~2.13 μg/g、芦荟大黄素 0.47~0.60 μg/g、大黄素 3.17~3.57 μg/g、丁烯基苯酚 1.99~2.54 μg/g、欧当归内酯 A 7.51~8.53 μg/g; 分析结果表明大多数批次药物质量较为稳定, 其中丹参素和阿魏酸对药物质量具有较大影响, 可对其进行重点监控以保证药物批次质量。**结论** 建立的定量方法灵敏度高且准确性好, 方法学考察结果符合测定要求, 可用于妇可靖中多种活性成分的快速测定; 并为其质量评价提供新的科学依据和参考。

关键词: UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 妇可靖胶囊; 定量研究; 没食子酸; 丹参素; 阿魏酸; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 木犀草素; 芹菜素; 芦荟大黄素; 大黄素; 丁烯基苯酚; 欧当归内酯 A

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)02-0353-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.014

Quantitative research of multiple active components in Fukejing Capsule based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry

LIU Jun¹, ZHU Bao-ping¹, SUN Zhi², HOU Peng-yi³, ZHOU Lin²

1. Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Kashi, Kashi 844000, China

2. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

3. Chromatography and Mass Spectrometry Division, Thermo Fisher Scientific, Shanghai 201206, China

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis method of multiple active components (gallic acid, tanshinol, ferulic acid, rosmarinic acid, salvianolic acid B, luteolin, apigenin, aloe-emodin, emodin, butylidenephthalide, and levistilide A) in Fukejing Capsule (FC) based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS). **Methods** The column was BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) and the mobile phase was consisted of acetonitrile-

收稿日期: 2017-08-14

*通信作者 刘俊, 女, 主管药师, 研究方向为药学。Tel: 13579328333 E-mail: 1498441359@qq.com

孙志, 男, 主管药师, 博士, 研究方向为中药质量控制, 质谱分析。Tel: 15838390776 E-mail: sunzhi2013@163.com

water (containing 0.1% formic acid) at a flow rate of 0.2 mL/min with gradient elution; Mass spectrometer conditions: Heated electrospray ionization source (HESI) and full mass quantify methods were used to perform the determination, and the results of the contents were imported into the multi-data processing software SIMCA14.0 to make a quality evaluation. **Results** Under the optimized conditions, gallic acid, tanshinol, ferulic acid, rosmarinic acid, salvianolic acid B, luteolin, apigenin, aloe-emodin, emodin, butylidenephthalide, and levistolide A all showed good linear relationship ($r \geq 0.999\ 5$) in the range of 0.15—1.50, 0.80—8.00, 1.50—15.00, 0.04—0.40, 0.015—0.150, 0.10—1.00, 0.004—0.040, 0.004—0.040, 0.02—0.20, 0.01—0.10, and 0.04—0.40 $\mu\text{g/mL}$, respectively; The results of the accuracy, the repeatability and the stability all reached the standards ($\text{RSD} \leq 4\%$); The recoveries ranged from 98%—102% and RSDs were below 3%; The result of the content ranges in different batches were 26.36—31.03 $\mu\text{g/g}$ (gallic acid), 178.85—210.79 $\mu\text{g/g}$ (tanshinol), 320.91—343.16 $\mu\text{g/g}$ (ferulic acid), 2.84—3.09 $\mu\text{g/g}$ (rosmarinic acid), 3.55—4.25 $\mu\text{g/g}$ (salvianolic acid B), 27.33—32.36 $\mu\text{g/g}$ (luteolin), 1.89—2.13 $\mu\text{g/g}$ (apigenin) A, 0.47—0.60 $\mu\text{g/g}$ (aloe-emodin), 3.17—3.57 $\mu\text{g/g}$ (emodin), 1.99—2.54 $\mu\text{g/g}$ (butylidenephthalide), and 7.51—8.53 $\mu\text{g/g}$ (levistolide A). The analysis results showed that the quality of the most batches was stable, the tanshinol and ferulic acid had a great influence on the quality of the medicine, and could be monitored to ensure the quality of different batches. **Conclusion** The methods established in this paper have a high sensitivity and accuracy; The results of the methodology conform to the relevant requirements and the methods can rapidly determine the multiple active components in FC; The research also provides a new scientific basis and reference for the quality assessment at the same time.

Key words: UPLC-Q-Orbitrap HRMS; Fukejing Capsule; quantitative research; gallic acid; tanshinol; ferulic acid; rosmarinic acid; salvianolic acid B; luteolin; apigenin; aloe-emodin; emodin; butylidenephthalide; levistolide A

妇可靖胶囊 (Fukejing Capsule, FC) 是由西峰制药有限公司生产的经典中药复方制剂, 该制剂主要由北败酱、车前子、红花、丹参、赤芍、蒲公英等 20 余味中药材在传统中医药理论的指导下经现代提取工艺加工而成^[1]。该药疗效确切, 应用广泛, 目前已被国家食品药品监督管理局颁药标准^[2]和《国家中成药标准汇编》^[3]收载, 临床上主要用于瘀毒内结、气滞血瘀所致的慢性盆腔炎^[4], 症如白带增多、腰骶酸痛、下腹结块、小腹坠痛等^[5]。

中药是通过组方配伍形成方剂 (复方) 并通过多成分、多靶点、多层次综合发挥药效作用的, 因此, 仅对其中的极个别成分进行定量测定无法较为全面地反映中药质量^[6-11], 不利于中药质控水平的提高。同时中药成分复杂, 其中所含化合物结构类型多样, 量范围差异较大, 依靠 HPLC 等传统仪器进行分析时, 其检测范围窄、检测限及灵敏度低, 难以满足对复杂中药成分进行分析的需要^[12]。

随着科技的发展, 质谱技术已经在中药分析领域应用越来越广泛, 并以其高分辨率、高灵敏度和高准确度的特点, 逐步成为各类中药化学成分定性定量的主要手段^[13-17]。本实验采用基于 Orbitrap 静电场轨道阱技术的 Q-Exactive 液质联用系统, 并利用其高分辨率的强大优势建立了一种测定妇可靖胶囊中没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酚、欧当归内酯 A 共 11 种活性成分的一

级 Full mass 全扫描同时定性、定量分析方法。该方法具有灵敏度高、选择性强、分析时间短等优点, 可用于妇可靖胶囊中复杂活性成分的定性及定量分析, 同时为进一步提高中药制剂的质量控制方法奠定了科学基础。

1 仪器与材料

Q-Exactive 液相色谱-质谱联用系统, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 美国 Waters 公司; AL104 型万分之一分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司; BX7200HP 台式超声波清洗器, 上海新苗医疗器械制造有限公司; 多元数据处理软件 SIMCA14.0, 瑞典 Umetrics 公司。

对照品没食子酸 (批号 15042910)、丹参素 (批号 15082714)、阿魏酸 (批号 15091605)、迷迭香酸 (批号 15082904)、丹酚酸 B (批号 15081916)、木犀草素 (批号 16011015)、芹菜素 (批号 16061301)、芦荟大黄素 (批号 16072704)、大黄素 (批号 16071004)、丁烯基苯酚 (批号 16050711)、欧当归内酯 A (批号 16041516) 均购于成都曼思特生物科技有限公司, 质量分数均大于 99%。

甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯, 购于美国 Fisher 公司; 水为娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯。妇可靖胶囊共 10 个批次, 批号分别为 611135、611140、701005、701015、701053、702014、704016、704066、705029、705049, 甘肃省西峰制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~0.5 min, 5%乙腈; 0.5~2.0 min, 5%~40%乙腈; 2.0~5.0 min, 40%~80%乙腈; 5.0~7.0 min, 80%~100%乙腈; 7.0~10.0 min, 100%乙腈; 体积流量为 0.2 mL/min; 进样量为 5 μL; 柱温为 40 ℃。

2.2 质谱条件

离子源为 HESI (heated ESI), 辅助气体积流量为 10 μL/min, 辅助气温度为 300 ℃, 离子传输管温度为 320 ℃; 正离子模式下: 鞘气体积流量为 40 μL/min, 喷雾电压为 3.50 kV; 负离子模式下: 鞘气体积流量为 38 μL/min, 喷雾电压为 2.80 kV, 一级质谱分辨率为 70 000, m/z 扫描范围为 80~1 200。

其他主要参数见表 1; 在优化的色谱质谱条件下 11 种待测成分的提取离子流图及质谱图见图 1。

表 1 11 种待测成分的质谱分析参数

Table 1 MS/MS parameters of 11 components

待测物	分子式	t_R /min	理论质量数	实际测定值	误差/ ($\times 10^{-6}$)
没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	1.60	169.014 25	169.013 29	-5.660
丹参素	C ₉ H ₁₀ O ₅	2.30	197.045 55	197.044 69	-4.348
阿魏酸	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	3.60	193.050 63	193.049 74	-4.621
迷迭香酸	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	3.72	359.077 24	359.076 97	-0.754
丹酚酸 B	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	3.76	717.146 11	717.145 32	-1.099
木犀草素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	4.02	287.055 01	287.054 66	-1.235
芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	4.25	269.045 55	269.045 32	-0.842
芦荟大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	4.93	269.045 55	269.045 35	-0.731
大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	5.74	269.045 55	269.045 32	-0.842
丁烯基苯酚	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	5.95	189.091 01	189.090 82	-0.985
欧当归内酯 A	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	6.86	381.206 04	381.205 32	-1.878

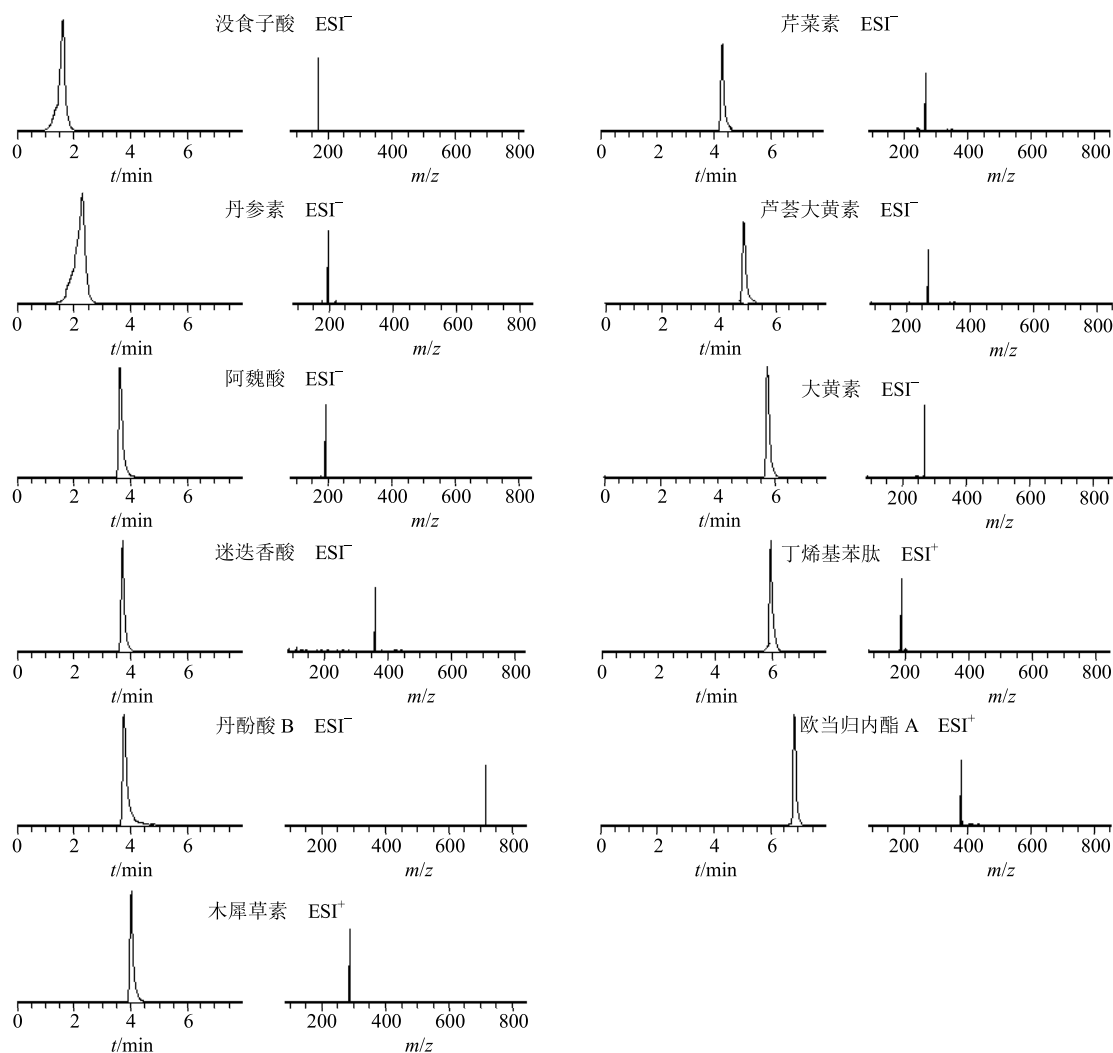


图 1 11 种待测成分的提取离子流图 and 一级质谱图

Fig. 1 Extracting ion chromatograms and MS of 11 components

2.3 对照品溶液的制备

取没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 对照品适量,精密称定,分别加入纯甲醇使制备成质量浓度为 1.0 mg/mL 的单一对照品储备液;分别精密量取上述对照品储备液适量,加入纯甲醇使最终制成质量浓度分别为没食子酸 1.50 $\mu\text{g/mL}$ 、丹参素 8.00 $\mu\text{g/mL}$ 、阿魏酸 15.00 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 0.40 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 B 0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、木犀草素 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、芹菜素 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、芦荟大黄素 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、大黄素 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、丁烯基苯酞 A 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、欧当归内酯 A 0.40 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液。

2.4 供试品溶液的制备

取本品 3 粒,去壳后,取内容物研细后精密称定量取 1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入纯甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 200 W,频率 50 kHz) 30 min,放冷,再次称定质量,用纯甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后即得供试品溶液。

2.5 线性关系考察

分别精密量取混合对照品储备液适量,纯甲醇

稀释并定容,依次配制成 6 个质量浓度的系列梯度溶液,其中没食子酸 0.15、0.30、0.60、0.90、1.20、1.50 $\mu\text{g/mL}$,丹参素 0.80、1.60、3.20、4.80、6.40、8.00 $\mu\text{g/mL}$,阿魏酸 1.50、3.00、6.00、9.00、12.00、15.00 $\mu\text{g/mL}$,迷迭香酸 0.04、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40 $\mu\text{g/mL}$,丹酚酸 B 0.015、0.030、0.060、0.090、0.120、0.150 $\mu\text{g/mL}$,木犀草素 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 $\mu\text{g/mL}$,芹菜素 0.004、0.008、0.016、0.024、0.032、0.040 $\mu\text{g/mL}$,芦荟大黄素 0.004、0.008、0.016、0.024、0.032、0.040 $\mu\text{g/mL}$,大黄素 0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、丁烯基苯酞 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、欧当归内酯 A 0.04、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40 $\mu\text{g/mL}$ 。在“2.1”及“2.2”项下色谱质谱条件进样分析,记录峰面积。以各待测物的质量浓度为横坐标(X),以峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得回归方程、相关系数(r)及线性范围;以信噪比 $S/N=10$ 计算定量限(LOQ),结果见表 2。结果表明,11 种待测化合物在各自质量浓度范围内线性关系均良好, $r \geq 0.999\ 5$ 。

2.6 精密度考察

按照“2.4”项下方法制备供试品溶液(批号

表 2 11 种成分的回归方程、相关系数、线性范围、LOQ

Table 2 Results of liner regression, correlation coefficient, liner range, and LOQ of 11 compounds

待测物	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$
没食子酸	$Y=2.87 \times 10^8 X+7.03 \times 10^6$	0.999 8	0.15~1.50	2.863
丹参素	$Y=1.44 \times 10^8 X+2.48 \times 10^7$	0.999 5	0.80~8.00	3.396
阿魏酸	$Y=1.16 \times 10^8 X+7.76 \times 10^7$	0.999 5	1.50~15.00	2.176
迷迭香酸	$Y=7.56 \times 10^7 X-2.21 \times 10^6$	0.999 6	0.04~0.40	0.753
丹酚酸 B	$Y=8.50 \times 10^7 X+6.19 \times 10^5$	0.999 6	0.015~0.150	0.598
木犀草素	$Y=6.57 \times 10^8 X+8.21 \times 10^6$	0.999 5	0.10~1.00	1.629
芹菜素	$Y=2.08 \times 10^9 X-2.74 \times 10^4$	0.999 7	0.004~0.040	0.233
芦荟大黄素	$Y=4.42 \times 10^8 X-1.39 \times 10^5$	0.999 9	0.004~0.040	0.588
大黄素	$Y=2.21 \times 10^9 X+2.79 \times 10^6$	0.999 5	0.02~0.20	2.128
丁烯基苯酞	$Y=1.86 \times 10^9 X+8.91 \times 10^5$	0.999 6	0.01~0.10	0.685
欧当归内酯 A	$Y=1.07 \times 10^9 X-4.87 \times 10^6$	0.999 7	0.04~0.40	1.575

611140),连续进样 6 次,结果显示没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 峰面积的 RSD 分别为 2.80%、2.30%、2.87%、2.67%、2.77%、1.96%、2.10%、0.86%、2.05%、2.07%、2.67%,结果表明该方法精密度良好。

2.7 重复性考察

取供试品溶液 6 份(批号 611140),分别进样测定并计算质量分数,测得没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 的平均质量分数分别为 30.19、184.44、337.97、3.00、

4.23、28.67、2.11、0.48、3.26、1.93、7.87 $\mu\text{g/g}$ ，RSD 分别为 2.63%、2.12%、2.51%、3.06%、3.62%、2.07%、2.80%、1.83%、2.65%、2.01%、1.98%，结果表明该方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取供试品溶液（批号 611140），分别于 0、2、6、10、12、24 h 进样分析，测得没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 峰面积的 RSD 分别为 1.82%、2.33%、2.63%、2.69%、2.77%、2.79%、1.59%、2.09%、1.63%、3.08%、2.55%，结果表明，供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

称取样品粉末（批号 611140）共 9 等份，每 3 份为 1 组，精密称定，分别加入没食子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 对照品适量，使加入后各成分量分别为妇可靖胶囊中相应成分量的 80%、100%、120%。按“2.4”项下方法平行制备供试品溶液，处理后分别进样测定。计算各待测物的平均回收率及 RSD，结果显示没食

子酸、丹参素、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、木犀草素、芹菜素、芦荟大黄素、大黄素、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A 的平均回收率分别为 99.02%、101.11%、98.98%、98.69%、100.67%、99.80%、100.08%、100.61%、100.17%、99.96%、98.78%，RSD 分别 1.95%、2.42%、2.20%、1.22%、1.15%、2.07%、2.78%、2.47%、2.91%、1.61%、2.39%，结果表明该方法下 11 种待测成分的测定准确度较好。

2.10 样品测定

取 10 个不同批次的妇可靖胶囊，按“2.4”项下方法平行制备供试品溶液各 3 份，在“2.1”及“2.2”项下色谱质谱条件进样分析，记录峰面积，并计算 11 种待测物在妇可靖胶囊中的量，结果见表 3。本研究所测成分在各批次样品中的质量分数依次为没食子酸 26.36~31.03 $\mu\text{g/g}$ 、丹参素 178.85~210.79 $\mu\text{g/g}$ 、阿魏酸 320.91~343.16 $\mu\text{g/g}$ 、迷迭香酸 2.84~3.09 $\mu\text{g/g}$ 、丹酚酸 B 3.55~4.25 $\mu\text{g/g}$ 、木犀草素 27.33~32.36 $\mu\text{g/g}$ 、芹菜素 1.89~2.13 $\mu\text{g/g}$ 、芦荟大黄素 0.47~0.60 $\mu\text{g/g}$ 、大黄素 3.17~3.57 $\mu\text{g/g}$ 、丁烯基苯酞 1.99~2.54 $\mu\text{g/g}$ 、欧当归内酯 A 7.51~8.53 $\mu\text{g/g}$ ，分析结果表明大多数批次药物质量较为稳定。

表 3 11 种待测成分的测定结果 ($n = 10$)
Table 3 Determination of 11 components ($n = 10$)

批次	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$										
	没食子酸	丹参素	阿魏酸	迷迭香酸	丹酚酸 B	木犀草素	芹菜素	芦荟大黄素	大黄素	丁烯基苯酞	欧当归内酯 A
611135	29.60	185.28	342.18	3.06	4.17	29.44	2.13	0.49	3.21	1.99	7.83
611140	31.03	198.11	320.91	3.07	4.07	29.77	1.95	0.56	3.57	2.44	7.82
701005	28.52	210.79	321.11	2.88	3.55	29.63	2.00	0.47	3.17	2.48	7.68
701015	30.64	189.59	336.60	2.67	3.73	30.67	1.98	0.52	3.45	2.13	8.28
701053	26.57	181.23	327.19	3.33	3.95	29.27	2.08	0.60	3.39	2.48	8.38
702014	28.00	181.52	343.16	3.28	3.90	27.33	1.99	0.50	3.18	2.28	7.51
704016	27.01	188.86	337.53	3.01	4.25	30.44	2.08	0.59	3.36	2.07	8.05
704066	28.95	178.85	337.32	3.09	4.20	28.36	1.89	0.54	3.27	2.45	8.14
705029	27.76	189.47	341.05	2.84	3.63	32.36	2.04	0.53	3.50	2.54	8.53
705049	26.36	202.49	341.06	2.92	4.00	28.59	2.10	0.59	3.40	2.18	8.40
平均值	28.44	190.62	334.81	3.02	3.94	29.59	2.02	0.54	3.35	2.30	8.06

2.11 定量测定结果分析

将上述定量测定结果导入多元数据处理软件 SIMCA14.0，并作样本与各待测成分之间相关关系的 Biplot 图，见图 2。结果显示大部分批次药物均处于同一范围内，表明多数药物质量较为稳定，而批次 701005 药物相比其他批次距离较远，为离群

值，质量与其他批次可能有一定的差异；通过分析其质量差异原因发现，图中批次 701005 药物与丹参素在同一位置，且距离最近，呈高度正相关；与阿魏酸处于相反位置，且距离较远，呈高度负相关，因此丹参素和阿魏酸对该批次的药物质量有较大影响，提示厂家以后在生产过程中可重点关注这 2 种

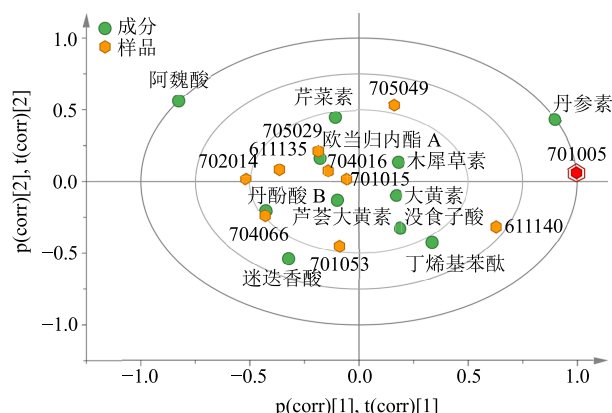


图 2 药物批次质量与成分之间的相关关系 Biplot 图

Fig. 2 Correlation Biplot of bathes quality and ingredient

化合物的量，以保证药物质量更加趋于稳定。

3 讨论

3.1 制备方法的优化

供试品溶液制备方法的优化实验中分别对提取溶剂（体积分数为 30%、50% 甲醇及纯甲醇）、溶剂体积（20、30、50 mL）、提取方法（回流、超声处理）及提取时间（15、30、45 min）进行了单变量考察。结果表明，当纯甲醇作为溶剂时可得到更多提取物；超声提取效果比回流提取好，且方便易行；超声时间超过 30 min 后，提取物含量不会再增加。因此本实验最终选择以 50 mL 纯甲醇作为提取溶剂，超声处理 30 min 作为优化后的条件进行供试品制备。

3.2 色谱柱的选择

本实验选择的 Acquity UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱采用 1.7 μm BEH 颗粒填充及三键键合化学技术，使其具有极低的键合相流失，能够在极低或极高的 pH 值中均表现出很好的稳定性，使色谱柱具有最宽的 pH 操作范围（1~12），同时利用其较强的 pH 耐受特性能够对可离子化化合物的保留、选择和灵敏度施加巨大的影响，可在最大程度上优化分离条件，此外，该色谱柱还采用了沃特世专有技术进行端基封尾，以保证碱性化合物的峰形。

中药中的化学成分复杂，其中包含的化合物种类多样，Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱能够在分离过程中提供尖锐对称的色谱峰、超高的分离效能、极强的化学稳定性和较高的灵敏度，可为中药复杂成分的前期分离提供重要的技术支持和保障。

3.3 色谱、质谱条件的优化

本实验分别考察了甲醇-水、甲醇-甲酸水和乙

脞-甲酸水作为流动相系统时,各待测成分的色谱分离效果,以选择最合适的流动相。结果表明,乙脞-0.1%甲酸水作为流动相系统梯度洗脱时,各待测成分的溶剂效应最小,分离效果最优,色谱峰峰形最佳,适用于上述待测组分的前期分离。此外,在选择离子模式时,本实验采用了正、负离子同时扫描的模式对妇可靖胶囊中的 11 种成分进行检测,经过反复考察后,发现由于各待测物的理化性质不同,使得其不同离子模式下的质谱响应也各有差异,因此本实验最终选择了各待测成分质谱响应最佳时的离子模式作为检测条件,使各待测物均具有很好的峰形及响应值,能够满足定性定量的要求。

UPLC-Q-Orbitrap 色谱质谱联用技术以其分离能力强、灵敏度高、稳定性好以及定性定量准确的强大优势为特点，目前被广泛应用于中药或复杂基质中未知物的筛选、鉴定及定量分析。本实验采用基于四极杆-静电场轨道阱技术的高分辨质谱系统对妇可靖胶囊中的各类活性化学成分进行定量研究，并利用其高分辨的功能特点，采用一级质谱精确定量保证了极高的稳定性和准确度的同时，更简化了操作处理流程，节省了分析时间，为妇可靖胶囊中各类化合物的进一步研究提供科学、稳定、可靠的技术支持和保障。

中药的有效成分复杂,其主要以多靶点、多通路调控为特点发挥药理作用,从而达到全面系统治疗疾病的目的。因此,中药质量控制需要同时对多个成分进行测定并综合评价,以使中药质量稳定性更好。本实验采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱所建立的分析方法专属、准确可靠,可对妇可靖胶囊中的多组分化合物进行测定,能够更加全面地评价药物质量,为今后妇可靖胶囊的质量控制提供了客观的科学依据和参考标准。

参考文献

- [1] 贾佳琳, 朱旭江, 王兰霞. 妇可靖胶囊质量标准 [J]. 中药材, 2014, 37(10): 1881-1885.
- [2] 国家药品标准 (试行) [S]. 2012.
- [3] 国家中成药标准汇编: 外科妇科分册 [S]. 2002.
- [4] 陈振连. 妇可靖胶囊联合奥硝唑分散片治疗慢性盆腔炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(2): 307-310.
- [5] 袁春玲, 王佩琪, 郭伟英. HPLC 法同时测定妇可靖胶囊中木犀草苷素和芍药苷的含量 [J]. 中国药房, 2012, 23(3): 263-265.

- [6] 赵永良, 王超, 韩亚朋, 等. 中药现代化研究关键问题与前景 [J]. 中医中药, 2011, 9(4): 123-126.
- [7] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [8] 刘莹, 封亮, 贾晓斌. 中药制剂质量的影响因素探析 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1808-1813.
- [9] Wang X J, Zhang A H, Sun H, *et al.* Integrated serum pharmacochimistry of TCM and metabolomics strategies for innovative drug discovery, serum pharmacochimistry of traditional Chinese medicine [J]. *Acad Press*, 2017, 3(3): 15-21.
- [10] 杨秀青, 石征蓉, 谷江华, 等. 银菊解毒口服液指纹图谱结合多指标成分定量测定的质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2017, 48(13): 2645-2652.
- [11] Li X, Wu L, Liu W, *et al.* A network pharmacology study of Chinese medicine QiShenYiQi to reveal its underlying multi-compound, multi-target, multi-pathway mode of action [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e95004.
- [12] Zuo L H, Sun Z, Hu Y R, *et al.* Rapid determination of 30 bioactive constituents in XueBiJing Injection using ultra high performance liquid chromatography-high resolution hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry coupled with principal component analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 137: 220-228.
- [13] 孙志, 侯朋艺, 周霖, 等. 基于超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱的益心舒片中多种成分定量测定研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1977-1982.
- [14] 魏文峰, 王昶, 张树明, 等. 串联质谱技术在中药化学成分分析中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 351-354.
- [15] 韦建乔, 韦波. 高效液相色谱-质谱联用技术在中药研究中的应用进展 [J]. 中国医药科学, 2016, 6(5): 44-46.
- [16] 詹淑玉, 朱琦峰, 徐宏祥, 等. UPLC-MS/MS 法快速测定减肥类中成药及保健食品中非法添加 15 种化学药的研究 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3023-3031.
- [17] Liu S, Yi L Z, Liang Y Z. Traditional Chinese medicine and separation science [J]. *J Sep Sci*, 2008, 31(11): 2113-2137.