

UPLC-MS/MS 法测定香砂平胃颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷、芸香柚皮苷和甘草苷

井妍

南京医科大学第四附属医院 药剂科, 江苏 南京 210031

摘要: 目的 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定香砂平胃颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷、芸香柚皮苷和甘草苷。方法 色谱条件采用 Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为乙腈 - 0.1% 甲酸水, 梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 5 μL。质谱条件选择离子源: 电喷雾离子源 (ESI), 采集模式: 多反应检测 (MRM), 正负离子同时扫描, 离子源温度 150 °C, 毛细管电压: 正离子 3.0 kV, 负离子 2.5 kV, 去溶剂气流量 800 L/h, 去溶剂气温度 400 °C, 氩气为高纯氩气。结果 甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、苍术素线性范围在 0.29~14.75、0.38~18.58、1.85~92.63、1.62~81.11、1.37~68.5、0.49~24.41 ng, 平均回收率分别为 100.48%、97.79%、98.67%、93.52%、101.72%、100.30%, RSD 值分别为 4.31%、3.40%、1.45%、2.78%、2.59%、4.06%。结论 本法分析速度快、灵敏度高、专属性强, 可以为香砂平胃颗粒的质量标准改进提供依据。

关键词: 香砂平胃颗粒; 甘草苷; 芸香柚皮苷; 橙皮苷; 和厚朴酚; 厚朴酚; 苍术素; 超高效液相色谱串联质谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2023)02 - 0330 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.011

Determination of atractylodin, honokiol, magnolol, hesperidin, naringin, and liquiritin in Xiangsha Pingwei Granules by UPLC-MS/MS method

JING Yan

Department of Pharmacy, The Four Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210031 China

Abstract: Objective To develop an UPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of atractylodin, honokiol, magnolol, hesperidin, naringin, and liquiritin in Xiangsha Pingwei Granules. **Methods** The chromatographic condition was Waters HSS T3 C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), mobile phase acetonitrile - 0.1% formic acid solution with gradient elution, column temperature set at 40 °C, and injection volume of 5 μL with flow rate of 0.3 mL/min. The mass spectrum condition with ESI ions source, acquisition mode: MRM, simultaneous scanning of positive and negative ions, ion source temperature 150 °C, capillary voltage: positive ions 3.0 kV, negative ions 2.5 kV, desolvent gas flow 800 L/h, desolvent gas temperature 400 °C, and argon as high-purity argon. **Results** Liquiritin, naringin, hesperidin, magnolol, honokiol, and atractylodin showed good linear relationships in the concentration range of 0.29 — 14.75, 0.38 — 18.58, 1.85 — 92.63, 1.62 — 81.11, 1.37 — 68.5, and 0.49 — 24.41 ng. The average recoveries were 100.48%, 97.79%, 98.67%, 93.52%, 101.72%, and 100.30% with RSD values of 4.31%, 3.40%, 1.45%, 2.78%, 2.59%, and 4.06%, respectively. **Conclusion** The method is fast, sensitive, and specific, and can provide a basis for improving the quality standard of Xiangsha Pingwei Granules.

Key words: Xiangsha Pingwei Granules; liquiritin; naringin; hesperidin; magnolol; honokiol; atractylodin; UPLC-MS/MS

香砂平胃颗粒是由苍术 (炒)、厚朴 (姜炙)、陈皮、香附 (醋制)、甘草、砂仁 6 味中药按处方工艺提取制成, 具有健脾、温中、燥湿的功效, 主要用于饮食不节食湿互滞, 胃脘胀痛、消化不良等^[1]。处方中的苍术燥湿健脾, 厚朴燥湿, 陈皮促进消化、

理气健脾, 甘草温中调和, 香附疏肝解郁, 共同发挥其功效。临床上香砂平胃颗粒多联合西药和中药用于治疗消化和胃肠疾病^[2-5]。目前香砂平胃颗粒收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十二册, 但其质量标准中仅以颗粒剂通则项下的检查项、性

收稿日期: 2022-10-09

作者简介: 井妍, 女, 副主任药师, 本科, 主要研究方向为医院药学和制剂分析。E-mail: jiafeimao0312@163.com

状进行质量控制^[1]。香砂平胃制剂中的多成分测定已有文献报道^[6-10]，但高效液相色谱在多成分测定中需要采用变化波长提高灵敏度，气相色谱仅能测定挥发性成分，不适用多组分物质的测定。高效液相色谱串联质谱是目前测定中药材和中药复方制剂中活性成分的重要方法，无需变换波长，具有定量准确、分析速度快、灵敏度高的优点，同时可以避免测定过程中的基质干扰。因此本实验建立 UPLC-MS/MS 法同时测定香砂平胃颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷、芸香柚皮苷和甘草苷，为全面控制其质量提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters H class 串联 Xevo TQD 三重四级杆质谱仪(美国 Waters 公司); Masslynx 4.0 工作站, 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒公司), 氮气发生器(Peak 公司), KQD 超声波清洗器(苏州昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

苍术素(批号 111924-202207, 质量分数以 99.7%计)、厚朴酚(批号 110729-202015, 质量分数以 100%计)、和厚朴酚(批号 110730-201915, 质量分数以 99.3%计)、橙皮苷(批号 110721-202019, 质量分数以 95.3%计)、甘草苷(批号 111610-

201607, 质量分数以 93.1%计)对照品均购自中国食品药品检定研究院, 芸香柚皮苷(批号 Must-20111103, 质量分数以 98.0%计)对照品购自成都曼斯特试剂公司; 甲酸为质谱级(美国 Merck 试剂公司), 乙腈为色谱纯(美国 Fisher 试剂公司), 甲醇为分析纯(上海国药化学试剂公司), 水为超纯水(Milipore 超纯水机)。香砂平胃颗粒, 规格 10 g/袋, 批号 520687、520735(昆明中药厂有限公司), 220612、220619、220705(云南腾药制药股份有限公司), ZLA2101(云南白药集团股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为乙腈(A) - 0.1%甲酸水(B), 梯度洗脱(0~2 min, 22%→30% A; 2~5 min, 30%→55% A; 5~8 min, 55%→80% A; 8~10 min, 80% A), 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 5 μL。

2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI), 采集模式: 多反应检测(MRM), 正负离子同时扫描, 离子源温度 150 °C, 毛细管电压: 正离子 3.0 kV, 负离子 2.5 kV, 去溶剂气流量 800 L/h, 去溶剂气温度 400 °C, 氩气为高纯氩气。6 种成分的质谱测定参数见表 1。

表 1 质谱测定参数
Table 1 MS parameters

成分	离子模式	母离子	子离子	锥孔电压/V	碰撞电压/V
苍术素	[M+Na] ⁺	205.3	182.1*、130.1	40	25、35
厚朴酚	[M-H] ⁻	265.1	247.2*、224.0	50	40、50
和厚朴酚	[M-H] ⁻	265.2	224.1*、209.1	50	50、55
橙皮苷	[M-H] ⁻	609.1	300.9*、285.6	50	35、45
芸香柚皮苷	[M-H] ⁻	579.1	417.2*、255.1	40	30、40
甘草苷	[M-H] ⁻	417.1	225.1*、135.0	45	40、45

*-定量离子

*-quantitative ion

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取甘草苷对照品 3.96 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备溶液 I; 取橙皮苷对照品 9.72 mg、厚朴酚对照品 6.85 mg, 置同一个 20 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备溶液 II; 精密称取和厚朴酚对照品 10.21 mg, 置

25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备溶液 III; 取芸香柚皮苷对照品 2.37 mg、苍术素对照品 3.06 mg, 置同一个 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备溶液 IV。分别精密吸取对照品储备溶液 I 250 μL、对照品储备溶液 II、III 各 1 mL、对照品储备溶液 IV 500 μL, 置同一个 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度,

摇匀，作为混合对照品溶液（含甘草苷、橙皮苷、厚朴酚、和厚朴酚、芸香柚皮苷、苍术素分别为 1.84、46.32、34.25、40.55、4.65、6.10 μg/mL）。

2.3.2 供试品溶液的制备 取香砂平胃颗粒粉末约 3 g，精密称定，置三角锥形瓶中，加 70% 乙醇 25 mL，称定质量，超声（频率 240 W，频率 40 kHz）20 min，放冷，用 70% 乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，滤液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.3.3 阴性样品溶液的制备 按处方工艺分别制备缺苍术、厚朴、陈皮和甘草的阴性样品，按照供试品溶液的制备方法分别制备各阴性样品溶液。

2.4 专属性试验

分别吸取对照品、供试品和阴性样品溶液，进样测定，结果见图 1。可以看出 6 种成分的总离子流图峰形良好，阴性样品无干扰。

2.5 线性关系考察

分别精密吸取对照品储备溶液 I、II、III 和 IV 各 1 mL 置 5 mL，加甲醇稀释至刻度，作为 5 号对照品混合溶液。分别精密吸取上述 5 号对照品混合溶液各 1 mL，分别置 5、10、25、50 mL 量瓶中，作为 1~4 号线性对照品溶液，进样测定，以质量浓度为横坐标，定量离子的峰面积为纵坐标，进行线性回归，结果见表 2。

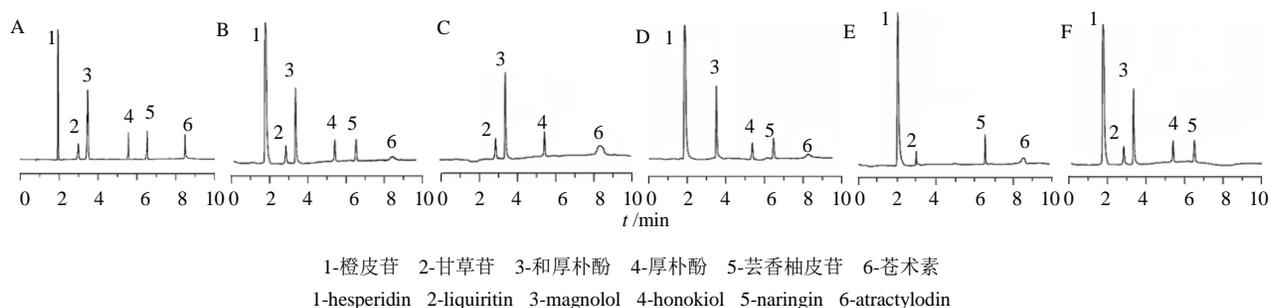


图 1 对照品 (A)、香砂平胃颗粒 (B)、缺陈皮阴性样品 (C)、缺甘草阴性样品 (D)、缺厚朴阴性样品 (E) 和缺苍术阴性样品 (F) 的总离子流图

Fig. 1 TIC of reference substances (A) Xiangsha Pingwei Granules (B), negative sample without *Pericarpium Citri Reticulatae* (C), negative sample without *Glycyrrhizae Radix* (D), negative sample without *Magnoliae Officinalis Cortex* (E), negative sample without *Atractylodis Rhizoma* (F)

表 2 6 种成分的线性方程、相关系数和线性范围

Table 2 Linear equation, correlation coefficient and linear range of the six components

成分	线性方程	r	线性范围/ng
甘草苷	$Y=6.495 X-0.113$	0.999 7	0.29~14.75
芸香柚皮苷	$Y=5.462 X-1.294$	0.999 8	0.38~18.58
橙皮苷	$Y=18.284 X-17.349$	0.997 6	1.85~92.63
和厚朴酚	$Y=16.783 X-7.950$	0.999 8	1.62~81.11
厚朴酚	$Y=16.284 X-13.370$	0.999 5	1.37~68.5
苍术素	$Y=7.016 X-1.312$	0.999 6	0.49~24.41

2.6 精密度试验

取 3 号混合对照品溶液（含甘草苷、橙皮苷、厚朴酚、和厚朴酚、芸香柚皮苷、苍术素 1.47、9.26、8.11、6.85、1.86、2.44 μg/mL），连续进样 6 次，记录峰面积，结果甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚和苍术素峰面积的 RSD 值分别为 2.56%、1.09%、1.22%、0.86%、3.18%、2.87%。

2.7 重复性试验

取批号 520687 香砂平胃颗粒样品约 3.0 g，精密称定，共 6 份，制备供试品溶液，进样测定峰面积，结果甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、苍术素的质量分数分别为 3.4、110.2、620.1、52.2、73.0、16.5 μg/g，RSD 值分别为 1.32%、2.49%、1.05%、2.33%、2.76%、3.07%。

2.8 稳定性试验

取批号 520687 香砂平胃颗粒样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、12、16、24 h 进行测定, 结果甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚和苍术素峰面积的 RSD 值分别为 3.28%、2.55%、2.12%、3.28%、3.43%、3.62%, 表明该溶液在 24 h 内的稳定性良好。

2.9 回收率试验

精密称取苍术素对照品 2.51 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为苍术素对照品储备溶液 (0.250 2 mg/mL); 另精密称取芸香柚皮苷对照品 1.72 mg、橙皮苷对照品 9.82 mg、厚朴酚对照品 1.02 mg, 置同一 10 mL 量瓶中, 分别精密吸取 I 号对照品储备溶液 (甘草苷 0.073 7 mg/mL) 700 μ L、III 号对照品储备溶液 (和厚朴酚 0.405 5

mg/mL) 2 mL 和上述苍术素对照品储备溶液 1 mL 置上述同一个 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 作为待加混合对照品溶液。取批号 520687 香砂平胃颗粒样品粉末约 1.5 g, 精密称定, 制备 6 份, 分别精密加入上述待加混合对照品溶液 1 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、苍术素的平均回收率分别为 100.48%、97.79%、98.67%、93.52%、101.72%、100.30%, RSD 值分别为 4.31%、3.40%、1.45%、2.78%、2.59%、4.06%。

2.10 样品测定

取 3 个不同厂家不同批号的香砂平胃颗粒样品, 分别制备供试品溶液, 每批样品平行制备 2 份样品, 进样测定, 外标法定量甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、苍术素, 结果见表 3。

表 3 香砂平胃颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷、芸香柚皮苷和甘草苷的测定结果 ($n=2$)

Table 3 Determination of atractyloidin, honokiol, magnolol, hesperidin, naringin, and liquiritin in Xiangsha Pingwei Granules ($n=2$)

批号	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$					
	甘草苷	芸香柚皮苷	橙皮苷	和厚朴酚	厚朴酚	苍术素
520687	3.40	110.2	620.1	52.2	73.0	16.5
520735	4.32	122.5	609.6	63.7	80.1	14.3
220612	5.05	133.8	680.5	68.3	82.6	17.7
220619	5.12	130.5	690.1	67.5	83.3	16.9
220705	5.23	135.6	689.8	69.2	81.5	18.1
ZLA2101	5.96	149.3	721.3	72.5	86.5	20.2

可以看出 3 个不同厂家香砂平胃颗粒样品中 6 种成分的含量差异较大, 相同厂家差异较小。甘草苷的质量分数在 3.40~5.96 $\mu\text{g}/\text{g}$, 芸香柚皮苷在 110.2~149.3 $\mu\text{g}/\text{g}$, 橙皮苷在 609.6~721.3 $\mu\text{g}/\text{g}$, 和厚朴酚在 52.2~72.5 $\mu\text{g}/\text{g}$, 厚朴酚在 73.0~86.5 $\mu\text{g}/\text{g}$, 苍术素在 14.3~20.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。各成分最高含量与最低含量差异较大, 原因可能是生产工艺或药材产地的来源导致, 同一厂家生产的香砂平胃颗粒样品中主要成分的含量差异较小。

3 讨论

3.1 测定成分和方法的选择

香砂平胃颗粒是由 6 味中药按照处方工艺精制而成, 但是标准中却无含量测定项, 更无其关键的活性成分作为其质量控制指标, 本实验参考《中国药典》2020 年版一部中各种药材中主要成分, 并结

合文献报道, 建立多指标成分的测定作为香砂平胃颗粒的质控指标。中药的药效发挥是复方的共同作用, 因此多成分全面的质量控制方法具有重要的意义。高效液相色谱法在测定中需要对每个化合物的最大吸收波长进行扫描, 同时多组分测定中需要切换波长, 为了保证测定的灵敏度, 高效液相色谱串联质谱法只需要特定的离子对即可, 灵敏度、专属性均比高效液相色谱法高, 因此本实验建立的多组分测定方法可对香砂平胃颗粒的质量进行控制。

3.2 色谱质谱条件的优化

实验分别考察了甲醇 - 0.1% 甲酸、甲醇 - 0.02 mmol 乙酸铵, 乙腈 - 0.1% 甲酸溶液, 结果发现乙腈 - 0.1% 甲酸溶液作为流动相时, 6 种成分的色谱峰形较好, 各离子的响应较高。由于是多成分测定, 故选择梯度洗脱。同时对柱温、体积流量和进样量

进行考察,发现对其影响不大,故选择柱温 40 ℃,体积流量 0.3 mL/min,进样量 5 μL 作为色谱条件,然后采用 ESI 电离,分别对上述 6 种成分进行正离子或负离子扫描,结果发现苍术素在[M+Na]⁺正离子响应较高,芸香柚皮苷、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷和甘草苷在[M-H]⁻负离子模式下响应较高,同时对毛细管电压、锥孔电压、脱溶剂气温度和体积流量、碰撞电压等参数进行了逐个优化,最终确定了本实验中的参数,从而保证了测定的灵敏度和准确性。

本实验建立了超高效液相串联质谱法测定香砂平胃颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷、芸香柚皮苷和甘草苷的方法,具有分析速度快、灵敏度高、专属性强的优点。中药药效发挥是多组分的共同作用,采用多种成分对其质量控制比目前的两个或 3 个成分更能全面反映药品的整体质量,同时可以为香砂平胃颗粒的质量标准改进提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 卫生部药品标准: 中药成方制剂第十二册 [S]. WS3-B-2369-97. 1997: 113.
[2] 周娥, 陈群. 香砂平胃颗粒联合莫沙必利治疗功能性

消化不良的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(7): 2006-2010.

[3] 李智琳, 田奔. 香砂平胃颗粒联合复方消化酶在功能性消化不良治疗中的效果 [J]. 中外医疗, 2022, 41(6): 26-29.
[4] 董敏杰. 香砂平胃颗粒联合泮托拉唑在十二指肠溃疡治疗中的临床研究 [J]. 中国保健营养, 2020, 30(14): 86-87.
[5] 张文广, 邱红, 宋福生. 香砂平胃颗粒联合伊托必利治疗功能性消化不良的临床观察 [J]. 药物评价研究, 2021, 45(3): 556-560.
[6] 何艳, 胡小祥, 张辉. HPLC 同时测定香砂平胃颗粒中的橙皮苷、和厚朴酚与厚朴酚 [J]. 华西药理学杂志, 2017, 32(5): 531-533.
[7] 吕峥峥, 王会如. HPLC 法测定香砂平胃颗粒中厚朴酚及和厚朴酚的含量 [J]. 首都医药, 2013, 20(4): 53-54.
[8] 赵艳, 侯昕彤, 赵磊. HPLC 多波长测定香砂平胃丸中橙皮苷,厚朴酚,甘草苷,和厚朴酚及苍术素的含量 [J]. 中国药物评价, 2018, 35(3): 206-208.
[9] 封晓欣, 孙璐. HPLC 波长切换法同时测定香砂平胃丸中 5 种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(3): 224-228.
[10] 王秋实, 马冬云. GC 法同时测定香砂平胃丸中 6 种成分的含量 [J]. 西北药理学杂志, 2019, 34(6): 755-758.

[责任编辑 解学星]