

戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱研究

张建锋, 刘文*, 侯晓杰, 王钰乐, 杨道斌, 宋信莉*

贵阳中医学院药学院, 贵州 贵阳 550002

摘要: 目的 建立戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱分析方法, 确定各色谱峰的药材来源, 同时对各成分进行定性研究, 为其物质基础、质量控制、研究开发和应用提供科学依据。方法 采用 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.05% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱; 柱温 40 °C, 体积流量 0.4 mL/min, 进样量 2 μL。利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”对其进行相似度评价。结果 建立了戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱的共有模式, 确定了 38 个共有峰, 并根据对照品和参考文献定性指认了 9 个共有峰分别为盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱、黄连碱、表小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸内酯、芍药苷, 推断出 4 个共有峰分别为木兰花碱、芍药内酯苷、格陵兰黄连碱、1-甲基-2-壬基-4(1*H*)-喹诺酮。对 11 批由不同产地和品种药材制备的戊己丸的相似度进行了考察, 其相似度在 0.90 以上。结论 建立了戊己丸的 UPLC-MS/MS 指纹图谱分析方法, 该分析方法快速、灵敏、简便, 为戊己丸的质量控制提供实验依据。

关键词: 戊己丸; UPLC-MS/MS; 指纹图谱; 质量控制; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; 盐酸药根碱; 黄连碱; 表小檗碱; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 吴茱萸内酯; 芍药苷; 木兰花碱; 芍药内酯苷; 格陵兰黄连碱; 1-甲基-2-壬基-4(1*H*)-喹诺酮

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1897-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.014

Fingerprint study of Wuji Pill by UPLC-MS/MS

ZHANG Jian-feng, LIU Wen, HOU Xiao-jie, WANG Yu-le, YANG Dao-bin, SONG Xin-li

School of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

Abstract: Objective To establish and study the UPLC-MS/MS fingerprint, to ascertain the medicinal source of chromatographic peaks, and to identify the chemical constituents for providing scientific basis in effective substance foundation and quality control of Wuji Pill. **Methods** The fingerprint of Wuji Pill was developed with ultra-performance liquid chromatography (UPLC), and the Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) was used in the gradient elution with a mobile phase of acetonitrile-water (0.05% formic acid). The flow rate was 0.4 mL/min, the column temperature was 40 °C. Similarity evaluation was used to evaluate the quality of herbs from different areas. **Results** The fingerprint of Wuji Pill was established with good precision, reproducibility, and stability obtaining within 55 min, and 38 peaks in the fingerprint were designed. Twenty samples could be classified into two clusters. According to the reference, and qualitative and references identified a total of nine peaks were berberine, palmatine, jatrorrhizine, coptisine, epiberberine, evodiamine, rutaecarpine, evodine, and paeoniflorin inferred that the four common peaks were magnolia base magnoflorine, albiflorin, theophylline, and methyl-2-nonyl-4(1*H*)-quinolone. **Conclusion** The establishment of UPLC fingerprint of Wuji Pill and application of chemical pattern recognition can provide a more comprehensive reference for the quality control of herbs. **Key words:** Wuji Pill; UPLC-MS/MS; fingerprint; quality control; berberine; palmatine; jatrorrhizine; coptisine; epiberberine; evodiamine; rutaecarpine; evodine; paeoniflorin; magnoflorine; albiflorin; theophylline; 1-methyl-2-nonyl-4(1*H*)-quinolone

戊己丸始载于《太平惠民和剂局方》, 现收载于《中国药典》2015 年版一部, 由黄连、制吴茱萸和炒白芍按 6:1:6 比例组成, 方中黄连为君药; 吴

茱萸为佐药; 白芍臣药; 3 药配伍具有辛开苦降、泻肝和胃、降逆止呕止泻之功^[1-4]。UPLC-MS/MS 联用技术已开始应用于中药的研究, 能够高灵敏度、高

收稿日期: 2016-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81460609)

作者简介: 张建锋 (1981—), 男, 在读硕士, 主要从事中药新技术与新制剂研究。Tel: 13518510516 E-mail: 286911082@qq.com

*通信作者 刘文 (1968—), 男, 硕士生导师, 教授, 主要从事中药新技术与新制剂研究。Tel: (0851)8233005 E-mail: 642771631@qq.com
宋信莉 (1982—), 女, 副教授, 主要从事中药新技术与新制剂研究。Tel: 13765158121 E-mail: 392347047@qq.com

效确定中药化学成分^[5-8]。本实验将首次采用 UPLC-MS/MS 联用技术对戊己丸指纹图谱进行研究,确定了 38 个共有峰,并根据对照品和参考文献定性指认了 9 个共有峰,推断出 4 个共有峰,运用相似度评价对数据进行分析,挖掘了指纹图谱中的有效信息,建立了指纹图谱,可用于戊己丸的质量控制。

1 仪器与材料

Acquity UPLC, Waters-Xevo TQ 质谱检测器, MassLynx TM 质谱工作站软件, 美国 Waters 公司。

对照品盐酸小檗碱(批号 110713-201212, 质量分数 86.7%)、盐酸巴马汀(批号 110732-201309, 质量分数 87.4%)、盐酸药根碱(批号 110733-201108, 质量分数 90.3%)、黄连碱(批号 GZDD-0426, 质量分数 98.9%)、表小檗碱(批号 GZDD-0833, 质量分数 98.9%)、吴茱萸碱(批号 110802-201409, 质量分数 99.4%)、吴茱萸次碱(批号 110801-201207, 质量分数 99.4%)、吴茱萸内酯(批

号 110800-201205, 质量分数 88.5%)、芍药苷(批号 110736-20143, 质量分数 96.4%), 购自中国食品药品检定研究院。乙腈, 色谱纯, 德国 Merck 公司; 甲酸, 色谱纯, CNW 公司; 屈臣氏蒸馏水, 广州屈臣氏食品饮料有限公司。其他试剂均为分析纯。

不同产地及品种黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. (味连)、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao (雅连) 或云连 *Coptis teeta* Wall. (云连) 的干燥根茎; 吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实; 白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 药材来自不同药材市场或药店, 经贵阳中医学院周汉华教授鉴定均为正品, 具体信息见表 1。

表 1 11 批戊己丸复方的单味药材来源

Table 1 Sources of medicinal materials in 11 batches of Wuji Pill

| 复方批次 | 黄连 | 吴茱萸 | 白芍 |
|--------------|-----------------------|------------------------|---------------------|
| 150301 (S1) | 湖南(批号 140401, 味连) | 贵州 A(批号 140501, 吴茱萸) | 安徽 A(批号 140701, 白芍) |
| 150302 (S2) | 湖北(批号 140501, 味连) | 贵州 B(批号 140502, 吴茱萸) | 安徽 B(批号 141001, 白芍) |
| 150303 (S3) | 西藏(批号 140901, 云连) | 贵州 C(批号 140503, 吴茱萸) | 吉林(批号 140701, 白芍) |
| 150304 (S4) | 陕西(批号 140601, 味连) | 贵州 D(批号 140601, 疏毛吴茱萸) | 浙江(批号 140501, 白芍) |
| 150305 (S5) | 重庆(批号 140701, 雅连) | 贵州 E(批号 140601, 吴茱萸) | 黑龙江(批号 140601, 白芍) |
| 150306 (S6) | 云南 A(批号 140401, 云连) | 贵州 F(批号 140701, 疏毛吴茱萸) | 河北(批号 140701, 白芍) |
| 150307 (S7) | 云南 B(批号 140501, 云连) | 贵州 G(批号 140801, 石虎) | 河南(批号 140802, 白芍) |
| 150308 (S8) | 四川 A(批号 20140901, 雅连) | 云南 A(批号 140602, 吴茱萸) | 陕西(批号 140901, 白芍) |
| 150309 (S9) | 四川 B(批号 20140902, 雅连) | 云南 B(批号 140801, 疏毛吴茱萸) | 内蒙古(批号 140701, 白芍) |
| 150310 (S10) | 四川 C(批号 20141001, 雅连) | 云南 C(批号 140701, 吴茱萸) | 山西(批号 140601, 白芍) |
| 150311 (S11) | 贵州(批号 140601, 雅连) | 广西(批号 140801, 吴茱萸) | 山东(批号 140901, 白芍) |

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱、黄连碱、表小檗碱、吴茱萸内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和芍药苷对照品适量, 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 配制成质量浓度为 0.120、0.115、0.114、0.108、0.110、0.662、0.512、0.204、0.200 g/L 的对照品溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 按《中国药典》2015 年版将处方中 3 种药材按不同产地进行排列组合, 投药制备得到 11 批复方。精密称取戊己丸样品粉末(过

3 号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加入纯甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 40 °C; 样品温度 10 °C; 体积流量 0.4 mL/min; 进样量 2 μL; 以 0.05% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱: 0~5 min, 8%~15%乙腈; 5~10 min, 15%~18%乙腈; 10~12 min, 18%~20%乙腈; 12~14 min, 20%~35%乙腈; 14~24 min, 35%~40%乙腈; 24~30 min,

40%~50%乙腈; 30~43 min, 50%~55%乙腈; 43~50 min, 55%~59%乙腈; 50~52 min, 59%~20%乙腈; 52~55 min, 20%~8%乙腈。

2.3 质谱条件

离子源为 ESI 源, 正离子扫描模式, 毛细管电压 3.0 kV, 取样锥孔电压 30 V; 脱溶剂气温度 350 ℃; 脱溶剂气体积流量 600 L/h; 锥孔气体积流量 50 L/h。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取 S1 样品粉末 1 份, 按“2.1.2”项制备样品溶液一份, 连续进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间 RSD<1.65%, 各共有峰相对峰面积 RSD<3.48%, 表明进样和仪器精密度良好, 符合指纹图谱的技术要求。

2.4.2 重复性试验 取 S1 样品粉末 6 份, 按“2.1.2”项方法制备样品溶液 6 份, 再按“2.2”项和“2.3”项下条件测定, 共有峰相对保留时间 RSD<1.09%, 共有峰相对峰面积 RSD<3.85%, 表明方法重复性良好, 符合指纹图谱的技术要求。

2.4.3 稳定性试验 取 S1 样品粉末 1 份, 按“2.1.2”项制备样品溶液 1 份, 按“2.2”项和“2.3”项下条件测定, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样, 测得各共有峰相对保留时间 RSD<1.34%, 各共有峰相对峰面积 RSD<3.27%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定性良好, 符合指纹图谱的技术要求。

2.5 样品测定

取 11 批戊己丸复方 (S1~S11) 按“2.1.2”项下方法制备样品溶液, 按照“2.2”和“2.3”项下的条件进行测定, 记录色谱图。

2.6 指纹图谱的建立

2.6.1 参照物的选择 在 UPLC-MS/MS 图谱中, 13 min 左右的色谱峰的峰面积最大且稳定, 经与对照品对照鉴定为盐酸药根碱, 故选择其为参照峰。

2.6.2 指纹图谱的建立 取“2.1.2”项制备的 11 批样品溶液各 2 μL, 按“2.2”项和“2.3”项下条件进行测定, 得到 11 批不同产地药材的戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱 (图 1), 根据色谱峰中各色谱峰的相对保留时间, 确定共有峰, 并选取其中 38 个共有峰作为特征指纹峰, 建立了戊己丸的对照指纹图谱 (R), 见图 2。

2.7 戊己丸中共有峰的指认与分析

分别取戊己丸全方、组成戊己丸的各单味药, 同法分别制成戊己丸、单味药供试品, 按照相同的

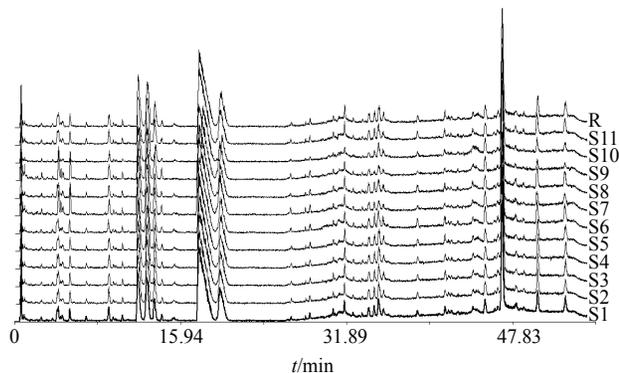


图 1 戊己丸 11 批样品的指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of 11 batches of Wuji Pill

UPLC 条件进行测定, 比较三者间的指纹图谱。通过图谱比较, 结果发现黄连对戊己丸指纹图谱共有峰的贡献最大, 吴茱萸和白芍次之。其中, 1、2、3、7、10、11、12、14、15、16、17、18、20、34、37 号峰来源于黄连; 13、19、21、22、23、24、25、29、32、33、35、36、38 号峰来源于吴茱萸; 4、5、6、8、9、26、27、28、30、31 号峰来源于白芍; 黄连、白芍、吴茱萸对共有峰均有贡献。

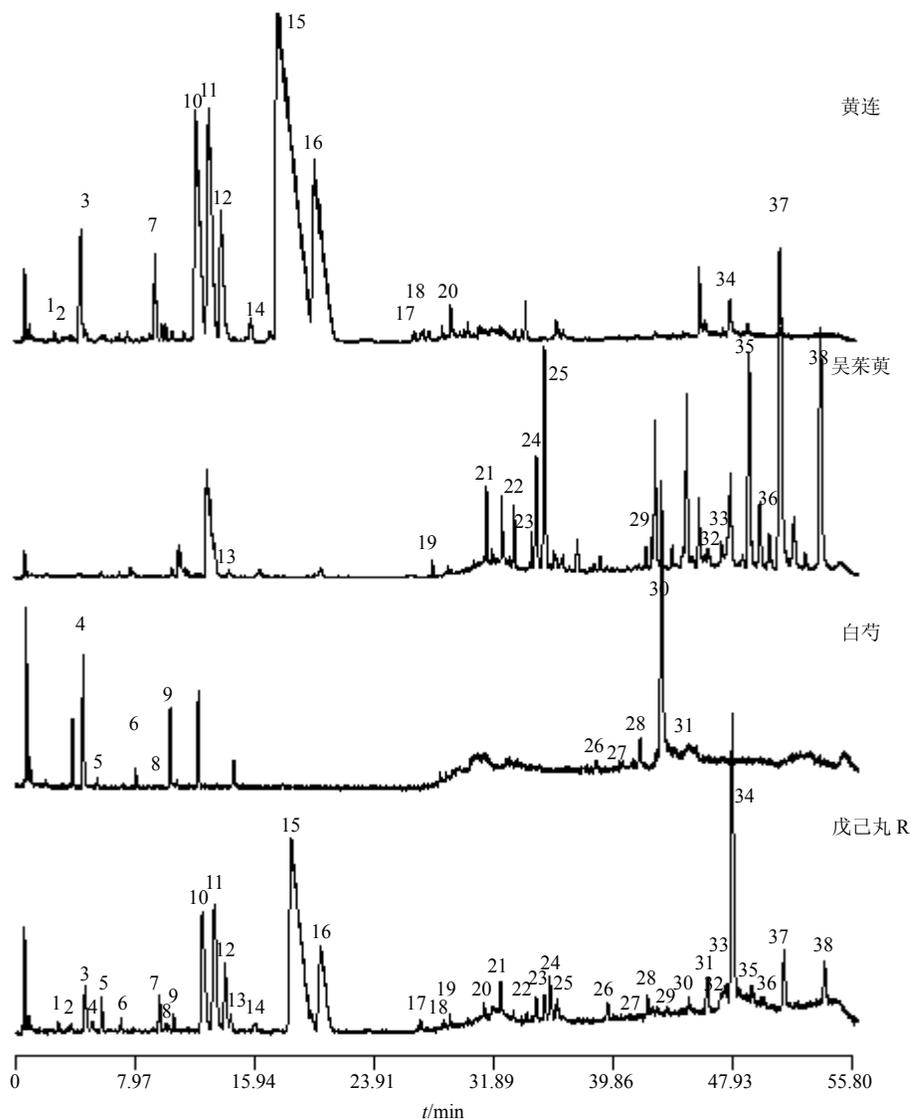
2.8 戊己丸 UPLC-MS/MS 定性分析

采用 UPLC-MS/MS 鉴定戊己丸样品中的化学成分, 戊己丸样品在正离子模式下获得准分子离子峰 $[M+H]^+$, 在该模式下进行二级离子的质谱裂解。通过比较样品和对照品的保留时间和质谱的裂解规律来鉴定化学成分, 如表 2 所示。经过质谱图与色谱图保留时间的比较以及对质谱裂解规律的分析, 推断了其中的主要成分化学结构式及其对应的峰编号。

3 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 342.18 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 342, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 342.18 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 297.02, 177.34, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 3 号色谱峰为木兰花碱。

4 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 480.03 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 480, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 481.01 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 179.03, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[11], 鉴定 4 号色谱峰为芍药内酯苷。

5 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 480.01 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 480, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 480.03 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 197.34, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[11],



5-芍药苷 10-黄连碱 11-表小檗碱 12-盐酸药根碱 15-盐酸小檗碱 16-盐酸巴马汀 21-吴茱萸内酯 24-吴茱萸碱 25-吴茱萸次碱
5-paeoniflorin 10-coptisine 11-epiberberine 12-jatrorrhizine 15-berberine 16-palmatine 21-evodine 24-evodiamine 25-rutaecarpine

图 2 戊己丸样品对照指纹图谱 (R)

Fig. 2 Reference fingerprint of Wuji Pill (R)

表 2 戊己丸样品的质谱数据和相关化学成分的鉴定

Table 2 MS data of Wuji Pill and identification of related chemical constituents

| 峰号 | t_R /min | 成分鉴定 | 电喷雾质谱 [M+H] ⁺ (m/z) | MS ⁿ 特征离子 | 峰号 | t_R /min | 成分鉴定 | 电喷雾质谱 [M+H] ⁺ (m/z) | MS ⁿ 特征离子 |
|----|------------|--------|-----------------------------------|----------------------|----|------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 3 | 3.54 | 木兰花碱 | 342.18 | 297.02, 177.34 | 15 | 17.75 | 盐酸小檗碱 | 336.09 | 321.07 |
| 4 | 4.30 | 芍药内酯苷 | 480.03 | 197.65 | 16 | 19.75 | 盐酸巴马汀 | 352.12 | 337.21 |
| 5 | 4.79 | 芍药苷 | 480.01 | 179.03 | 21 | 31.69 | 吴茱萸内酯 | 471.03 | 425.31, 318.11, 242.02 |
| 7 | 8.43 | 格陵兰黄连碱 | 322.05 | 279.38, 149.54 | 24 | 34.01 | 吴茱萸碱 | 304.10 | 134.00, 171.00 |
| 10 | 11.87 | 黄连碱 | 320.06 | 305.10 | 25 | 34.50 | 吴茱萸次碱 | 288.10 | 274.31, 149.24 |
| 11 | 12.77 | 表小檗碱 | 336.11 | 323.01 | 26 | 48.30 | 1-甲基-2-壬基- 4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 | 286.07 | 209.12, 149.54 |
| 12 | 13.43 | 盐酸药根碱 | 338.11 | 323.14, 308.58 | | | | | |

鉴定 5 号色谱峰为芍药苷。

7 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 322.05 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 322, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 322.05 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 279.38, 149.54, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 7 号色谱峰为格陵兰黄连碱。

10 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 320.06 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 320, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 320.06 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 305.01, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 10 号色谱峰为黄连碱。

11 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 336.01 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 336, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 336.01 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 323.01, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 11 号色谱峰为表小檗碱。

12 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 338.11 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 338, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 338.11 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 323.14, 308.58, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 12 号色谱峰为盐酸药根碱。

15 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 336.09 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 336, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 336.09 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 321.07, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 15 号色谱峰为盐酸小檗碱。

16 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 352.12 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 352, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 352.12 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 337.21, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[9-10], 鉴定 16 号色谱峰为盐酸巴马汀。

21 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 471.03 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 470, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 471.03 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 425.31, 318.11, 242.02, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[12-13], 鉴定 21 号色谱峰为吴茱萸内酯。

24 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 304.01 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 303, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 304.01 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 134.00, 171.09, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[12-13], 鉴定 24 号色谱峰为吴茱萸碱。

25 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 288.10 $[M+$

$H]^+$, 相对分子质量为 287, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 288.10 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 274.31, 149.24, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[12-13], 鉴定 25 号色谱峰为吴茱萸次碱。

26 号色谱峰的准分子离子峰 m/z 286.07 $[M+H]^+$, 相对分子质量为 286, 分析表明, 准分子离子峰 m/z 286.07 $[M+H]^+$ 能够碎裂为二级离子 m/z 209.12, 149.54, 通过分析上述的质谱裂解规律和相关的文献报道^[12-13], 鉴定 26 号色谱峰为 1-甲基-2-壬基-4(1*H*)-喹诺酮。

2.9 指纹图谱的标定

比较 11 批戊己丸样品的色谱图, 确定了 38 个共有峰, 选择保留时间适中且与相邻色谱峰分离良好, 峰面积比较稳定的 12 号峰作为参照峰, 计算各指纹峰保留时间和峰面积与同一图谱中参照峰的保留时间和峰面积比值, 得到相对保留时间和相对峰面积。

2.10 不同来源药材制备的戊己丸相似度评价

运用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004 A 版)”, 将所得 11 批戊己丸的 UPLC-MS/MS 图谱数据依次导入, 产生对照图谱, 经多点校正及色谱峰匹配, 得出 11 批戊己丸的相似度, 见表 3。由相似度结果可知, 以上样品与对照谱相比较, 其绝大部分戊己丸相似度达到 0.9 以上, 只有 S5 与 S1 这一组的相似度不足 0.9 (0.893), 说明戊己丸来源药材总体质量稳定, 但存在区域差异。

3 讨论

3.1 提取条件的选择

分别比较 25% 甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇、90% 甲醇、乙醇、水作为提取溶剂, 微波提取、加热回流提取、超声提取作为提取方法进行考察, 30、45、60、90、120 min 作为提取时间的条件, 经 UPLC-MS/MS 检测, 把色谱峰数、峰面积、分离度、基线、峰形等因素作为指标, 最终选择甲醇作为提取溶剂, 超声提取作为提取方法, 30 min 作为提取时间的最佳方案。

3.2 色谱和质谱条件优化

本实验尝试了水-乙腈、0.05% 甲酸水溶液-乙腈、0.10% 甲酸水溶液-乙腈、0.20% 甲酸水溶液-乙腈、0.50% 甲酸水溶液-乙腈、1.00% 甲酸水溶液-乙腈、0.10% 甲酸水溶液-0.10% 甲酸乙腈溶液、水-甲醇、0.10% 甲酸水溶液-甲醇、0.10% 甲酸水溶液-0.10% 甲

表3 不同批次戊己丸样品相似度

Table 3 Similarity of different batches of Wuji Pill

| 样品 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | 对照 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 1.000 | 0.906 | 0.917 | 0.906 | 0.893 | 0.912 | 0.955 | 0.911 | 0.960 | 0.965 | 0.902 | 0.909 |
| S2 | 0.906 | 1.000 | 0.943 | 0.951 | 0.939 | 0.988 | 0.976 | 0.912 | 0.961 | 0.933 | 0.974 | 0.993 |
| S3 | 0.917 | 0.943 | 1.000 | 0.952 | 0.916 | 0.933 | 0.955 | 0.941 | 0.937 | 0.947 | 0.962 | 0.995 |
| S4 | 0.906 | 0.951 | 0.952 | 1.000 | 0.914 | 0.969 | 0.976 | 0.950 | 0.958 | 0.945 | 0.911 | 0.968 |
| S5 | 0.893 | 0.939 | 0.916 | 0.914 | 1.000 | 0.999 | 0.968 | 0.963 | 0.947 | 0.989 | 0.932 | 0.919 |
| S6 | 0.912 | 0.988 | 0.933 | 0.969 | 0.999 | 1.000 | 0.979 | 0.925 | 0.945 | 0.944 | 0.976 | 0.955 |
| S7 | 0.955 | 0.976 | 0.955 | 0.976 | 0.968 | 0.979 | 1.000 | 0.922 | 0.914 | 0.978 | 0.995 | 0.966 |
| S8 | 0.911 | 0.912 | 0.941 | 0.950 | 0.963 | 0.925 | 0.922 | 1.000 | 0.991 | 0.958 | 0.986 | 0.958 |
| S9 | 0.960 | 0.961 | 0.937 | 0.958 | 0.947 | 0.945 | 0.914 | 0.991 | 1.000 | 0.922 | 0.954 | 0.910 |
| S10 | 0.965 | 0.933 | 0.947 | 0.945 | 0.989 | 0.944 | 0.978 | 0.958 | 0.922 | 1.000 | 0.905 | 0.967 |
| S11 | 0.902 | 0.974 | 0.962 | 0.911 | 0.932 | 0.976 | 0.995 | 0.986 | 0.954 | 0.905 | 1.000 | 0.907 |
| 对照 | 0.909 | 0.993 | 0.995 | 0.968 | 0.919 | 0.955 | 0.966 | 0.958 | 0.910 | 0.967 | 0.907 | 1.000 |

酸甲醇等流动相系统进行考察,结果以 0.05%甲酸水溶液-乙腈系统得到的色谱峰峰形较好且稳定;体积流量考察了 0.35、0.40、0.45、0.50 mL/min,最终选择 0.40 mL/min;进样量考察了 0.5、1.0、2.0、5.0 μ L,最终 2.0 μ L 作为进样量色谱峰峰形较好,各成分分离较好;质荷比选择了 m/z 100~1 000 和 m/z 200~800 进行比较,结果 m/z 100~1 000 色谱峰数相对较多,信息量丰富,响应值高。

本实验首次建立了戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱,信息量丰富、出峰数目多、分离效果好,全面反映了戊己丸化学成分的信息,符合中药指纹图谱的技术要求,结合相似度对指纹图谱进行综合评价,使得结果科学、可靠、准确、全面,为中药的质量评价提供了参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Wang Q, Liu W, Yang S, *et al.* Simultaneous determination of four active ingredients in Wuji Pellet by HPLC [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(4): 297-300.
- [3] He X Y, Li J K, Zhao W, *et al.* Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC [J]. *Food Chem*, 2015, 171: 405-411.
- [4] Han Y, Wen J, Zhou T T, *et al.* Chemical fingerprinting of *Gardenia jasminoides* Ellis by HPLC-DAD-ESIMS combined with chemometrics methods [J]. *Food Chem*, 2015, 188: 649-657.
- [5] 吴红梅, 徐峰, 刘李梅, 等. 康复新液 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 59-63.
- [6] 王爱潮, 祁东利, 罗配, 等. 温胆汤 UPLC-UV-MS/MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3408-3413.
- [7] 乔怀耀, 罗荣, 吴娟, 等. 舒肝解郁胶囊的 UPLC-MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 208-213.
- [8] 张永志, 佟玲, 李东翔, 等. 藿香正气滴丸 UFLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2246-2250.
- [9] Ma C H, Li Z X, Wang L X, *et al.* Identification of major alkaloids in rat urine by HPLC/DAD/ESI-MS/MS method following oral administration of *Cortex Phellodendri* decoction [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(2): 379-398.
- [10] Chen J H, Wang F M, Liu J, *et al.* Analysis of alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by accelerated solvent extraction combined with ultra performance liquid chromatographic analysis with photodiode array and tandem mass spectrometry detections [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 613(2): 184-195.
- [11] 范玛莉, 邢婕, 李震宇, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的白芍与赤芍化学成分比较研究 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3230-3237.
- [12] 王晓霞, 高慧媛, 姜勇, 等. 吴茱萸化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(10): 1241-1244.
- [13] 赵平, 许海玉, 许浚, 等. 吴茱萸药材的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3178-3183.