

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

孙志¹, 侯朋艺², 周霖¹, 姜晓芳¹, 左莉华¹, 刘新¹, 贾清泉¹, 康建¹, 张晓坚^{1*}

1. 郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450000

2. 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-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱的益心舒片中多成分(绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A) 的定量分析方法。**方法** 采用 BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 0.2 mL/min; 质谱采用 ESI 离子源, 平行反应监测 (PRM) 的扫描方式进行检测。**结果** 在优化的色谱质谱条件下, 绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 分别在 0.3~3.0、0.000 5~0.005 0、0.01~0.10、0.04~0.40、0.1~1.0、5.0~50.0、0.2~2.0、0.1~1.0、0.1~1.0、0.004~0.040、5.0~50.0 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; 加样回收率在 99%~102%, RSD 均小于 3%; 本研究所测成分在各批次样品中的质量分数依次为绿原酸 217.80~502.25 μg/g、芦丁 0.50~0.59 μg/g、咖啡酸 8.45~13.54 μg/g、阿魏酸 2.61~3.56 μg/g、迷迭香酸 66.70~188.56 μg/g、丹酚酸 B 4 002.53~8 793.80 μg/g、丹酚酸 A 158.04~321.65 μg/g、丹参酮 I 127.72~612.48 μg/g、隐丹参酮 75.56~285.70 μg/g、欧当归内酯 A 2.68~3.98 μg/g、丹参酮 II_A 2 921.86~6 085.88 μg/g。**结论** 本实验建立的方法灵敏度高且准确性好, 方法学考察结果符合测定要求, 可用于益心舒片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: 超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 益心舒片; 绿原酸; 芦丁; 咖啡酸; 阿魏酸; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 丹酚酸 A; 丹参酮 I; 隐丹参酮; 欧当归内酯 A; 丹参酮 II_A

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)10-1977-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.10.008

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

SUN Zhi¹, HOU Peng-yi², ZHOU Lin¹, JIANG Xiao-fang¹, ZUO Li-hua¹, LIU Xin¹, JIA Qing-quan¹, KANG Jian¹, ZHANG Xiao-jian¹

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

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

Abstract: Objective To establish a quantitative method of 11 active components (chlorogenic acid, rutin, caffeic acid, ferulic acid, rosmarinic acid, salvianolic acid B, salvianolic acid A, tanshinone I, cryptotanshinone, levistolide A, and tanshinone II_A) in Yixinshu Tablet based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods** The column was BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) and the mobile phase was consisted of acetonitrile-water (containing 0.1% formic acid) at a flow rate of 0.2 mL/min with gradient elution; Mass spectrometer conditions: electrospray ionization source (ESI) and parallel reaction monitoring (PRM) were used to perform the determination. **Results** Under the optimized conditions, chlorogenic acid, rutin, caffeic acid, ferulic acid, rosmarinic acid, salvianolic acid B, salvianolic acid A, tanshinone I, cryptotanshinone, levistolide A, and tanshinone II_A all showed good liners ($r \geq 0.999\ 5$) in the ranges of 0.3—3.0, 0.000 5—0.005 0, 0.01—0.10, 0.04—0.40, 0.1—1.0,

收稿日期: 2017-02-13

基金项目: 郑州大学第一附属医院创新基金项目 (2015)

作者简介: 孙志, 博士, 研究方向为质谱分析和中药质量控制。Tel: (0371)66862570 E-mail: sunzhi2013@163.com

*通信作者 张晓坚, 主任药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0371)66913047 E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

5.0—50.0, 0.2—2.0, 0.1—1.0, 0.1—1.0, 0.004—0.040, and 5.0—50.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively; The results of the accuracy, the repeatability and stability all reached the standards; The recoveries were ranged from 99%—102% and RSDs were below 3%; The results of the content in different batches were 217.80—502.25 $\mu\text{g/g}$ (chlorogenic acid), 0.50—0.59 $\mu\text{g/g}$ (rutin), 8.45—13.54 $\mu\text{g/g}$ (caffeic acid), 2.61—3.56 $\mu\text{g/g}$ (ferulic acid), 66.70—188.56 $\mu\text{g/g}$ (rosmarinic acid), 4 002.53—8 793.80 $\mu\text{g/g}$ (salvianolic acid B), 158.04—321.65 $\mu\text{g/g}$ (salvianolic acid) A, 127.72—612.48 $\mu\text{g/g}$ (tanshinone I), 75.56—285.70 $\mu\text{g/g}$ (cryptotanshinone), 2.68—3.98 $\mu\text{g/g}$ (levistolide A), and 2 921.86—6 085.88 $\mu\text{g/g}$ (tanshinone II_A), orderly. **Conclusion** The methods established are proved to have a high sensitivity and accuracy; The results of methodology can conform to the relevant requirements and the methods can have a rapid determination for the multiple active components in Yixinshu Tablet; The research also provides a new scientific basis and reference for the quality assessment at the same time.

Key words: ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry; Yixinshu Tablet; chlorogenic acid; rutin; caffeic acid; ferulic acid; rosmarinic acid; salvianolic acid B; salvianolic acid A; tanshinone I; cryptotanshinone; levistolide A; tanshinone II_A

益心舒片是由丹参、人参、麦冬、黄芪、川芎、山楂、五味子 7 味药材组成的中药复方制剂, 具有养阴生津、活血化瘀、益气复脉之功效。临床上常用于由瘀血阻脉、气阴两虚所致的胸痹, 症如心悸、脉结代、胸痛、胸闷及冠心病、心绞痛等见有上述症状者^[1-2], 现代药理研究也表明其具有保护心脏的作用^[3], 该药目前收录于《中国药典》2015 年版一部成方制剂和单味制剂部分^[4]。中药作为在中医药理论和临床实践指导下用于治疗疾病的经典药物, 有效成分较为复杂, 具有多靶点和多作用机制的特征^[5]; 但同时由于受到产地、采收季节、入药部位、提取纯化、药物制剂等因素的影响, 其有效成分的组成及量会发生变化, 从而使中药质量发生改变^[6]。

中药质量和安全问题直接关系到中医药的发展, 越来越受到各界的广泛重视, 因此科学、有效的质量标准则是保证其临床用药有效性、安全性和稳定性的关键准绳^[7-11]。目前药典及文献中虽有关于益心舒片的质量标准研究报道, 但测定成分较少, 难以充分反映其质量特征; 且大多数是采用 HPLC 方法建立的, 分析时间较长、灵敏度较差、准确度较低^[1,12], 不利于中药实现科学化、现代化和国际化的战略目标^[13]。

随着现代科技的发展, 质谱技术已经发展成为中药各类化学成分分析的一种重要手段^[14-18]。经检索文献发现, 目前尚未有关采用液质联用方法对益心舒片中多成分进行定量分析的报道, 为更加全面、快速和高效地对制剂中的复杂成分进行质量控制, 本实验采用基于 Orbitrap 静电场轨道阱技术的 Q-Exactive 高分辨质谱, 并使用平行反应监测 (parallel reaction monitoring, PRM) 模式建立了测定益心舒

片中绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 共 11 种主要活性成分量的方法, 该方法灵敏度高、选择性好, 可广泛应用于益心舒片中的有效成分分析及定量测定, 同时为进一步深入研究中药制剂质量和提高其质量控制方法奠定了基础。

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。

对照品绿原酸 (批号 16031610)、芦丁 (批号 16031812)、咖啡酸 (批号 15090803)、阿魏酸 (批号 15091605)、迷迭香酸 (批号 15082904)、丹酚酸 B (批号 15081916、丹酚酸 A (批号 16012810)、丹参酮 I (批号 16030210)、隐丹参酮 (批号 16022403)、欧当归内酯 A (批号 16041516)、丹参酮 II_A (批号 15092512) 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, 色谱纯, 美国 Fisher 公司; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。益心舒片共 3 个批次, 批号分别为 20160708、20160720、20151004, 广东先通药业有限公司。

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, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~0.5 min, 5%~15%乙腈; 0.5~

1.0 min, 15%~40%乙腈; 1.0~3.5 min, 40%~70%乙腈; 3.5~5.0 min, 70%~100%乙腈; 5.0~8.0 min, 100%乙腈; 体积流量 0.2 mL/min; 进样量 5 μ L; 柱温 40 $^{\circ}$ C。

2.2 质谱条件

离子源为 HESI (heated ESI), 辅助气体积流量 10 μ L/min, 辅助气温度 300 $^{\circ}$ C, 离子传输管温度 320 $^{\circ}$ C; 正离子模式: 鞘气体积流量 40 μ L/min, 喷雾电压 3.50 kV; 负离子模式: 鞘气体积流量 38 μ L/min, 喷雾电压 2.80 kV。二级质谱分辨率为 17 500, 质荷比窗口宽度设置为 2, 碰撞能梯度为 20、30、40 eV。其他主要参数见表 1; 在优化的质谱条件下 11 种待测成分的提取离子色谱图及二级质谱图, 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

成分	分子式	t/min	定量离子对 (m/z)
绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₂	2.70	353.08→191.05
芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	2.79	611.16→303.04
咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	2.80	179.03→135.04
阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	2.95	195.06→145.02
迷迭香酸	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	2.98	359.07→161.02
丹酚酸 B	C ₃₆ H ₃₆ O ₁₆	3.01	717.14→519.09
丹酚酸 A	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	3.08	493.11→295.06
丹参酮 I	C ₁₈ H ₁₂ O ₃	5.54	277.08→178.07
隐丹参酮	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	5.57	297.14→254.07
欧当归内酯 A	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	6.00	381.20→191.10
丹参酮 II _A	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	6.10	295.13→277.12

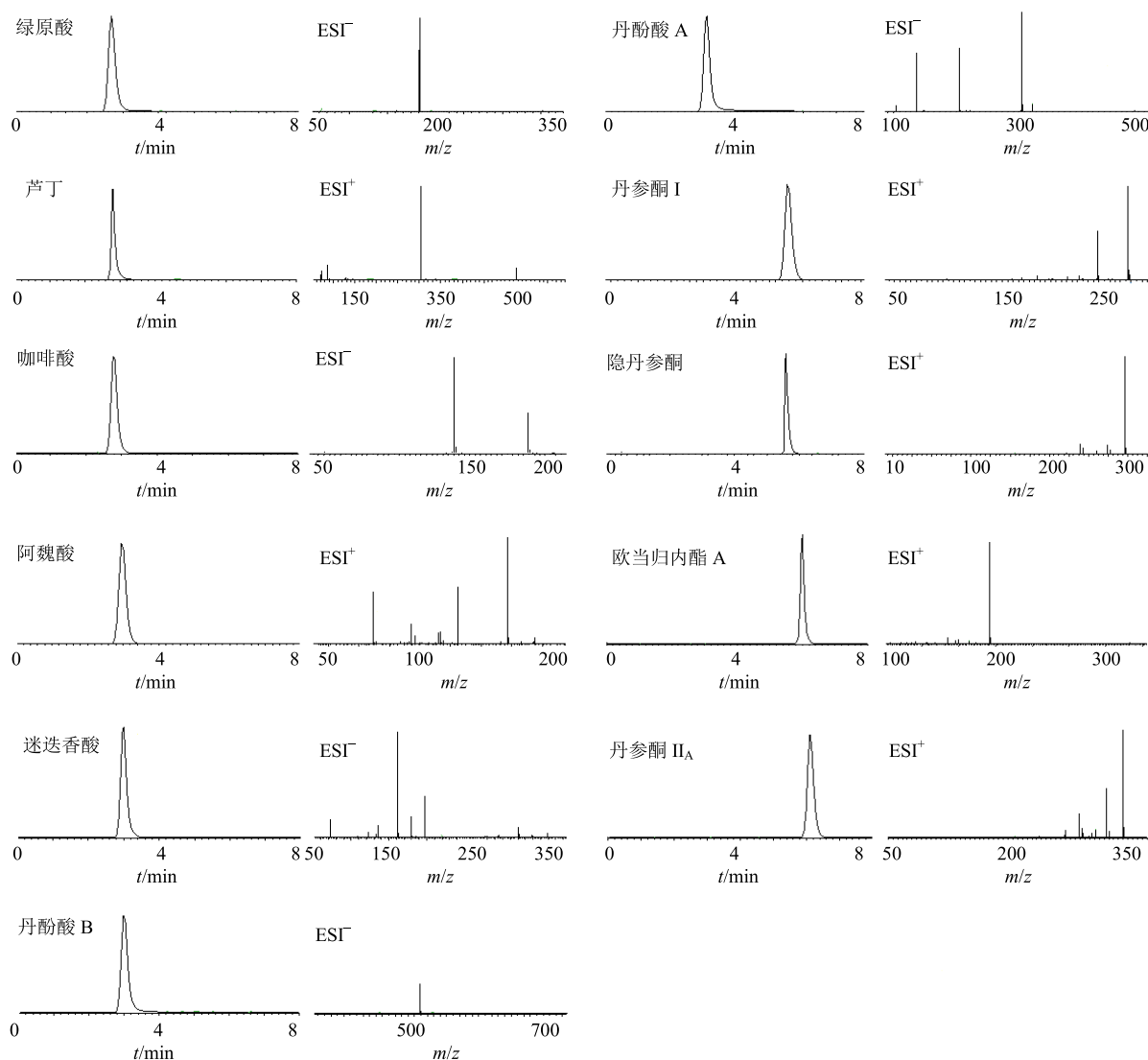


图 1 11 种待测成分的提取离子色谱图和二级质谱图

Fig. 1 Extracting ion chromatograms and MS/MS of 11 components

2.3 混合对照品溶液的制备

取绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 对照品适量，精密称定，分别加入纯甲醇制备成质量浓度为 500 μg/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，加入纯甲醇最终制成质量浓度分别为绿原酸 3.00 μg/mL、芦丁 0.005 μg/mL、咖啡酸 0.10 μg/mL、阿魏酸 0.40 μg/mL、迷迭香酸 1.00 μg/mL、丹酚酸 B 50.00 μg/mL、丹酚酸 A 2.00 μg/mL、丹参酮 I 1.00 μg/mL、隐丹参酮 1.00 μg/mL、欧当归内酯 A 0.04 μg/mL、丹参酮 II_A 50.00 μg/mL 混合对照品储备液。

2.4 供试品溶液的制备

取本品 10 片，去除薄膜衣后，研细后取约 1.0 g，精密称定，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，再称定质量，用纯甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，续滤液用纯甲醇稀释 10 倍，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，其中绿原酸 0.30、0.60、1.20、1.80、2.40、3.00 μg/mL、芦丁 0.000 5、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005 μg/mL、咖啡酸 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 μg/mL、阿魏酸 0.04、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40 μg/mL、迷迭香酸 0.10、0.20、0.40、0.60、

0.80、1.00 μg/mL、丹酚酸 B 5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00 μg/mL、丹酚酸 A 0.20、0.40、0.80、1.20、1.60、2.00 μg/mL、丹参酮 I 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 μg/mL、隐丹参酮 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 μg/mL、欧当归内酯 A 0.004、0.008、0.016、0.024、0.032、0.040 μg/mL、丹参酮 II_A 5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00 μg/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*），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 种待测化合物在质量浓度范围内线性关系均良好，*r*≥0.999 5。

2.6 精密度考察

按“2.4”项下方法制备供试品溶液（批号 20160708），连续进样 6 次，结果显示，绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 2.04%、2.32%、1.53%、2.51%、1.94%、1.47%、1.81%、2.32%、1.99%、2.44%、2.57%，结果表明方法精密度良好。

2.7 重复性考察

取供试品溶液 6 份（批号 20160708），分别进样测定并计算质量分数，测得绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 的平均质量分数分别为 496.78、0.58、0.58、13.59、3.52、

表 2 11 种成分的回归方程、相关系数、线性范围、定量限

Table 2 Liner regressions, correlation coefficients, liner ranges, and LOQs of 11 compounds

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μg·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
绿原酸	$Y=8.20 \times 10^7 X+8.18 \times 10^6$	0.999 5	0.30~3.00	0.410
芦丁	$Y=7.57 \times 10^8 X+1.12 \times 10^6$	0.999 7	0.000 5~0.005 0	0.008
咖啡酸	$Y=4.46 \times 10^8 X+1.41 \times 10^6$	0.999 6	0.01~0.10	0.044
阿魏酸	$Y=1.99 \times 10^7 X+8.49 \times 10^4$	0.999 7	0.04~0.40	0.641
迷迭香酸	$Y=2.07 \times 10^8 X+4.80 \times 10^6$	0.999 8	0.10~1.00	0.158
丹酚酸 B	$Y=2.77 \times 10^6 X+3.29 \times 10^6$	0.999 5	5.00~50.00	5.624
丹酚酸 A	$Y=5.79 \times 10^7 X+1.59 \times 10^6$	0.999 7	0.20~2.00	1.019
丹参酮 I	$Y=5.38 \times 10^6 X+4.89 \times 10^5$	0.999 6	0.10~1.00	13.965
隐丹参酮	$Y=1.16 \times 10^8 X+2.48 \times 10^6$	0.999 6	0.10~1.00	0.247
欧当归内酯 A	$Y=5.81 \times 10^9 X+5.11 \times 10^6$	0.999 5	0.004~0.040	0.845
丹参酮 II _A	$Y=1.13 \times 10^7 X+1.42 \times 10^7$	0.999 5	5.00~50.00	0.004

142.63、4 433.43、326.42、614.79、284.14、3.92、6 064.43 $\mu\text{g/g}$ ，RSD 分别为 2.14%、1.94%、1.82%、2.27%、2.12%、1.34%、1.88%、2.10%、2.09%、2.13%、2.48%，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 20160708），分别于 0、2、6、10、12、24 h 进样分析，测得绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.88%、1.96%、2.12%、2.11%、1.84%、1.77%、1.89%、1.92%、2.35%、2.05%、2.14%，结果表明，供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

称取已测定的样品粉末（批号 20160708）约 0.5 g，共 9 等份，每 3 份为 1 组，精密称定，分别加入绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 对照品适量，使加入后各分量分别

为益心舒片中相应成分量的 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，结果绿原酸、芦丁、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 I、隐丹参酮、欧当归内酯 A、丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 101.84%、100.34%、100.45%、100.63%、99.80%、100.00%、100.70%、100.91%、99.55%、99.28%、100.23%，RSD 分别 1.54%、2.99%、1.55%、2.30%、2.87%、3.19%、2.24%、2.26%、2.47%、1.87%、2.45%，结果表明，该方法下 11 种待测成分的测定准确度均较好。

2.10 样品定量测定

取 3 个不同批次的益心舒片，按“2.4”项下方法平行制备供试品溶液各 3 份，分别在“2.1”及“2.2”项下色谱和质谱条件进样分析，记录峰面积，并计算 11 种待测物在益心舒片中的质量分数，结果见表 3。

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

批次	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$					
	绿原酸	芦丁	咖啡酸	阿魏酸	迷迭香酸	丹酚酸 B
20160708	502.25 $\pm$ 3.46	0.580 $\pm$ 0.009	13.54 $\pm$ 0.17	3.56 $\pm$ 0.04	145.08 $\pm$ 1.77	4 402.88 $\pm$ 11.35
20160720	217.80 $\pm$ 4.30	0.500 $\pm$ 0.006	11.28 $\pm$ 0.03	2.61 $\pm$ 0.02	188.56 $\pm$ 0.97	8 793.80 $\pm$ 44.58
20151004	434.14 $\pm$ 7.54	0.590 $\pm$ 0.008	8.45 $\pm$ 0.17	3.13 $\pm$ 0.02	66.70 $\pm$ 0.92	4 002.53 $\pm$ 61.03

批次	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$				
	丹酚酸 A	丹参酮 I	隐丹参酮	欧当归内酯 A	丹参酮 II _A
20160708	321.65 $\pm$ 4.11	612.48 $\pm$ 7.39	285.70 $\pm$ 3.36	3.98 $\pm$ 0.05	6 085.88 $\pm$ 21.90
20160720	306.81 $\pm$ 3.75	127.72 $\pm$ 1.18	75.56 $\pm$ 0.98	2.68 $\pm$ 0.01	2 921.86 $\pm$ 54.79
20151004	158.04 $\pm$ 2.60	162.34 $\pm$ 2.17	127.78 $\pm$ 0.66	3.89 $\pm$ 0.06	4 177.40 $\pm$ 37.86

3 讨论

3.1 分析方法的选择

以往报道中对益心舒片的化学成分研究主要是采用 HPLC 法建立的，该方法对制剂中有较强紫外吸收且量较高的成分，能够满足同时定性定量的要求；但是对于化学结构紫外吸收较弱、量较低或分离度较差的成分，则难以实现定量分析的目的。李广生等^[1]在对益心舒片中丹酚酸 B、丹参酮 II_A 等成分进行分析测定时发现，几种分量测定结果均较低且误差波动较大，其中个别批次中甚至未能检测到有效成分丹参酮 II_A 的存在，因此目前采用 HPLC 法对中药制剂中的复杂化合物进行定量分析尚存在

一定的局限性；而本实验使用的高分辨质谱 PRM 模式，首先利用四极杆对目标化合物进行选择通过，离子在通过后进入碰撞池发生高能碰撞碎裂，所产生的碎片将被同时送入 Orbitrap 进行高分辨扫描，最后选择高分辨的二级子离子进行定量。该定量方式通过四极杆滤掉大量干扰离子提高灵敏度的同时，二级高分辨质谱更进一步提高了定量的专属性。本实验系首次使用高分辨质谱技术，对益心舒片中多种成分进行同时测定，可更加准确地对制剂中不同化合物进行定量分析。

3.2 提取方法的选择

在进行供试品溶液制备时，本实验重点考察了

不同提取溶剂(50%乙醇、50%甲醇、70%乙醇、80%甲醇、纯甲醇、纯乙醇)及提取方式(加热回流提取、超声提取)对各成分提取率的影响。结果表明采用纯甲醇结合超声处理时,各成分提取率最高,提取效果最好。

3.3 流动相的选择

本实验分别考察了不同比例的甲醇-水、甲醇-甲酸水和乙腈-甲酸水作为流动相系统,通过比较各待测成分在不同流动相中的分离效果,选择合适的流动相。结果表明,乙腈-0.1%甲酸水作为流动相梯度洗脱时,各待测成分的分离效果最优,色谱峰峰形最佳,适用于上述组分的检测分析。

3.4 正、负离子模式选择

本实验分别选用正、负离子模式对益心舒片中的11种成分进行测定,其中绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A属于酸性化合物,易得到碱性离子而带负电荷,在负离子模式下响应较好;芦丁、丹参酮I、隐丹参酮、欧当归内酯A、丹参酮II_A易质子化而带正电荷,在正离子模式下响应较好;本实验经过反复考察后,发现在上述设定的模式下,各待测成分均具有很好的峰形及响应值,能够满足定性定量的要求。

定量测定结果显示,各批次中丹酚酸B的量测定结果均符合《中国药典》2015年版相关要求^[3],但质量标准中未对其他成分作具体规定,为更加全面地保证药品质量的稳定性,建议厂家逐渐补充完善相关质控标准;3个批次之间药物质量整体差异较大,而同一批次内质量稳定性较好,表明药物在生产过程中不同批次之间受到的各种影响因素较多,提示厂家以后需重点把控不同批次药物在生产中的各个环节,以保证药物生产质量更加稳定。

中药有效成分复杂,其以多靶点、多通路调控为特点发挥药理作用,从而达到治疗疾病的目的^[19]。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-四级杆/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,可对益心舒片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,为今后益心舒片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] 李广生,王凌波,笔雪艳,等. HPLC法同时测定益心舒片中丹酚酸B、五味子醇甲和丹参酮II_A的含量[J].

黑龙江医药,2016,29(1):1-3.

- [1] 吕武清,虞金宝,李晶. 益心舒片的质量标准研究[J]. 中国药师,2010,13(2):226-228.
- [2] 刘家稳,刘新义,李健和,等. 益心舒胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2013,38(12):2005-2008.
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [4] Wang P, Wang Q, Yang B, et al. The progress of metabolomics study in traditional Chinese medicine research[J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(7): 1281-1310.
- [5] 解思友,张贵君. 中药的质量标准与中药安全性[J]. 药物评价研究,2013,36(4):245-248.
- [6] Zhang L, Yan J, Liu X, et al. Pharmacovigilance practice and risk control of traditional Chinese medicine drugs in China: Current status and future perspective[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140(3): 519-525.
- [7] 侯湘梅,岳洪水,张磊,等. 中药质量一致性评价探讨[J]. 药物评价研究,2016,47(1):38-45.
- [8] 张海珠,肖小河,王伽伯,等. 中药质量评控的第一要义:效应当量一致性[J]. 中草药,2015,46(11):1571-1575.
- [9] 蔡勇,胡豪,倪静云,等. 中药质量追溯体系发展现状研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(22):3829-3833.
- [10] 王露露,孙倩怡,杨慧海,等. 模式识别及其在中药质量评价中的应用[J]. 中草药,2016,47(23):4282-4288.
- [11] 秦建平,吴建雄,毕宇安,等. HPLC同时测定益心舒片中五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和丹参酮II_A的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,2(18):77-79.
- [12] Xu Q H, Bauer R, Hendry B M, et al. The quest for modernisation of traditional Chinese medicine[J]. *BMC Complem Altern M*, 2013, 13: 132-142.
- [13] 孙志,姜晓芳,胡玉荣,等. 基于UPLC-MS/MS-模式识别技术的丹灯通脑胶囊中多种活性成分定量研究[J]. 中草药,2017,48(6):1126-1132.
- [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.
- [18] 石伟,李家春,刘汉清,等. 基于多成分定量测定的六味地黄浓缩丸质量分析[J]. 中草药,2015,46(7):1002-1006.