

HPLC-ESI-MS/MS 同时测定四神丸中 9 种有效成分

张晓霞, 李晓妮, 胡 爽*, 畅瑞苗

山西医科大学药学院 药物分析教研室, 山西 太原 030001

摘要: 目的 建立了 HPLC-ESI-MS/MS 法同时测定四神丸中五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱 9 种有效成分的分析方法。方法 HPLC 采用色谱柱 Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 柱 (100 mm×4.6 mm, 3.5 μm), 流动相为甲醇-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 进样量 20 μL; 质谱采用电喷雾离子源、正离子模式 (ESI⁺), 通过多反应监测 (MRM) 同时对四神丸中的 9 种有效成分进行定量分析。结果 四神丸中 9 种有效成分五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的线性范围分别为 8.50~850.00 ng/mL ($r=0.999\ 7$)、1.32~132.00 ng/mL ($r=0.997\ 4$)、9.60~960.00 ng/mL ($r=0.999\ 8$)、12.00~1200.00 ng/mL ($r=0.999\ 3$)、11.50~1 150.00 ng/mL ($r=0.997\ 9$)、21.70~2 170.00 ng/mL ($r=0.999\ 7$)、23.80~2 380.00 ng/mL ($r=0.999\ 6$)、10.70~1 070.00 ng/mL ($r=0.999\ 5$)、8.54~854.00 ng/mL ($r=0.998\ 0$), 平均加样回收率分别为 98.3%、100.3%、99.2%、100.4%、99.1%、97.7%、99.0%、98.9%、100.3%, RSD 值分别为 2.21%、1.78%、2.19%、2.23%、2.18%、3.03%、2.51%、2.72%、2.10%。8 批四神丸样品中 9 种有效成分的质量分数分别为 67.6~425.6、0~131.5、2.1~258.0、0~71.2、23.2~678.8、806.4~1 310.8、718.5~1293.7、11.5~123.2、10.9~62.4 μg/g。结论 所建立的分析方法简单、灵敏度高、专属性好, 可应用于不同厂家不同生产批次的四神丸中有效成分的测定及质量控制。

关键词: 高效液相色谱-电喷雾串联质谱; 四神丸; 五味子甲素; 五味子乙素; 五味子醇甲; 五味子醇乙; 五味子酯甲; 补骨脂素; 异补骨脂素; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)09-2070-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.09.014

Simultaneous determination of nine bioactive components in Sishen Pills by HPLC-ESI-MS/MS

ZHANG Xiao-xia, LI Xiao-ni, HU Shuang, CHANG Rui-miao

Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To develop and validate an high performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS) method for simultaneously qualitative and quantitative determination of nine major bioactive components (deoxyschizandrin, γ -schizandrin, schizandrin, schizandrol B, schisantherin A, psoralen, isopsoralen, evodiamine, and rutaecarpine) in Sishen Pills. **Methods** The chromatographic separation was performed on an Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ column (100 mm × 4.6mm, 3.5 μm) with a gradient elution of methanol and 0.1% formic acid in water at a flow rate of 0.4 mL/min, and the injection volume was 20 μL. The nine major bioactive components were detected using an electrospray ionization source in positive ionization mode (ESI⁺) and quantified by multiple reaction monitor (MRM) scanning at the same time. **Results** The linear ranges of deoxyschizandrin, γ -schizandrin, schizandrin, schizandrol B, schisantherin A, psoralen, isopsoralen, evodiamine, and rutaecarpine were 8.50—850.00 ng/mL ($r = 0.999\ 7$), 1.32—132.00 ng/mL ($r = 0.997\ 4$), 9.60—960.00 ng/mL ($r = 0.999\ 8$), 12.00—1 200.00 ng/mL ($r = 0.999\ 3$), 11.50—1 150.00 ng/mL ($r = 0.997\ 9$), 21.70—2 170.00 ng/mL ($r = 0.999\ 7$), 23.80—2 380.00 ng/mL ($r = 0.999\ 6$), 10.70—1 070.00 ng/mL ($r = 0.999\ 5$), 8.54—854.00 ng/mL ($r = 0.998\ 0$), and the average recoveries were 98.3% (RSD = 2.21%), 100.3% (RSD = 1.78%), 99.2% (RSD = 2.19%), 100.4% (RSD = 2.23%), 99.1% (RSD = 2.18%), 97.7% (RSD = 3.03%), 99.0% (RSD = 2.51%), 98.9% (RSD = 2.72%), and 100.3% (RSD = 2.10%), respectively. The contents of eight batches of the nine major bioactive components

收稿日期: 2017-12-25

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目 (201701D121145)

作者简介: 张晓霞 (1980—), 女, 博士生, 研究方向为药物分析与中药质量研究。Tel: (0351)4690071 E-mail: zhangxx1010@163.com

*通信作者 胡 爽 (1971—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为药物分析与中药质量研究。Tel: (0351)4690071 E-mail: hurrah3743@163.com

were 67.6—425.6, 0—131.5, 2.1—258.0, 0—71.2, 23.2—678.8, 806.4—1310.8, 718.5—1293.7, 11.5—123.2, and 10.9—62.4 $\mu\text{g/g}$, respectively. **Conclusion** The developed method is simple, specific, and sensitive, and it can be applied for the determination of nine major bioactive components and the quality control of Sishen Pills collected from different production batches.

Key words: HPLC-ESI-MS/MS; Sishen Pills; deoxyschizandrin; γ -schizandrin; schizandrin; schizandrol B; schisantherin A; psoralen; isopsoralen; evodiamine; rutaecarpine

四神丸是由肉豆蔻、补骨脂、五味子和吴茱萸等组成的中药复方制剂,具有温肾、暖脾、涩肠止泻等功效^[1]。临床药理学研究表明,四神丸有治疗溃疡性结肠炎^[2-3]、肠易激综合征^[4]、脾虚泄泻^[5-6]、结肠癌^[7]等肠道疾病的作用。其中,补骨脂中的呋喃香豆素类(如补骨脂素和异补骨脂素)、吴茱萸中的生物碱类(如吴茱萸碱和吴茱萸次碱)和五味子中的木脂素类(如五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲)等分别为其单味药中的活性成分。在《中国药典》2015 年版一部中,补骨脂素和异补骨脂素作为四神丸质量控制的指标物^[1]。

然而,中药复方制剂一般是由几种中药所组成,有效成分较多,结构复杂,性质各异。简单的定量分析复方制剂中的 1 个或 2 个活性成分并不能全面控制其整体质量,也不能准确地评估其药效价值^[8],因此,建立多成分快速可靠的分析方法、优化质量控制以及确保安全性具有非常重要的意义^[9-12]。目前,文献多以高效液相色谱-紫外法(HPLC-UV)来定量分析四神丸^[13-15],选取的质量控制指标物少,不利于四神丸的药效分析。近年来,高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)方法由于其高灵敏度、快速、低样品需求和选择性强等特点,成为分析复杂样品的优选方法^[16-21]。因此,本实验建立了 HPLC-ESI-MS/MS 同时测定四神丸中五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱 9 种有效成分的分析方法。此分析方法简单、灵敏度高、专属性好,应用于不同厂家不同批次四神丸的质量分析,为药效学评价提供依据。

1 试药与仪器

Agilent1200 系列高效液相色谱仪,美国安捷伦科技公司,包括 G1311A 四元泵、G1316A 恒温室、G1329A 自动取样器;3200QtrapTM 质谱仪,美国 Applied Biosystems 公司,包括串联四级杆/线性离子阱,Analyst 1.4.2 software 软件系统;KQ2200B 型超声波清洗器,中国昆山市超声仪器有限公司;BT25S 型十万分之一天平,德国 Sartorius 公司。

甲醇,色谱级,美国 Tedia 公司;甲酸,色谱级,美国 Dikma 公司;纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司;其他试剂均要求为分析级。对照品五味子甲素(批号 110764-201010,质量分数 $\geq 99.5\%$)、五味子乙素(批号 110765-200710,质量分数 $\geq 99.0\%$)、五味子醇甲(批号 110857-201513,质量分数 $\geq 99.9\%$)、五味子酯甲(批号 111529-201003,质量分数 $\geq 98.0\%$)、补骨脂素(批号 110739-201115,质量分数 $\geq 99.9\%$)、异补骨脂素(批号 110738-201012,质量分数 $\geq 99.9\%$)、吴茱萸碱(批号 110802-201409,质量分数 $\geq 99.4\%$)、吴茱萸次碱(批号 110801-201207,质量分数 $\geq 99.4\%$)均购自于中国食品药品检定研究院;对照品五味子醇乙(批号 W-008-150801,质量分数 $\geq 98.0\%$)购于成都瑞芬思生物技术公司。

8 批四神丸购于当地药店,分别来源于河南省宛西制药股份有限公司(批号 20150502, S1)、洛阳顺势药业有限公司(批号 20160502, S2)、北京同仁堂天然药物(唐山)有限公司(批号 16080045、17080034、17080051, S3~S5)、山西华康药业股份有限公司(批号 20160603、20170502、20170704, S6~S8)。

2 方法与结果

2.1 HPLC 条件

HPLC 色谱柱为 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 柱(100 mm $\times$ 4.6 mm, 3.5 μm , 美国 Agilent 公司);柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;流动相为甲醇-0.1%甲酸水溶液;线性梯度洗脱:0~5 min, 40%~60%甲醇;5~15 min, 60%~80%甲醇;15~35 min, 80%甲醇;体积流量 0.4 mL/min;进样量 20 μL 。理论塔板数均大于 20 000。

2.2 MS 条件

电喷雾电离源(ESI);正离子模式(+);多反应监测模式(MRM);离子源喷雾电压 5 500 V;雾化温度 550 $^{\circ}\text{C}$;雾化器气体(GS₁) 172 kPa;辅助气体(GS₂) 276 kPa;气帘气(N₂) 69 kPa。各有效组分的保留时间,相对分子质量(M_w)、母离子(MS₁)、碎裂子离子(MS₂)、相应的解簇电压(DP)、入口电压(EP)、碰撞能量(CE)等参数及测定结

果见表 1。所呈现出的分子离子峰和碎片离子等，液和四神丸样品溶液的总离子流图以及 9 种有效成分其中大部分与文献报道很好地吻合^[22-24]。对照品溶液的对照品二级质谱图见图 1。

表 1 四神丸中 9 种有效成分的质谱数据

Table 1 HPLC-ESI-MS/MS data of nine components in Sishen Pills

成分	t_R/min	M_W	$MS_1 (m/z)$	$MS_2 (m/z)$	DP/V	EP/V	CE/V
五味子甲素	25.67	416	417.1	316.1	68	10	25
五味子乙素	31.72	400	401.2	300.1	68	10	26
五味子醇甲	16.47	432	415.0	384.0	68	10	25
五味子醇乙	18.99	416	399.0	367.9	65	10	25
五味子酯甲	21.55	536	415.1	339.9	80	10	30
补骨脂素	11.40	186	186.9	130.8	50	10	30
异补骨脂素	12.01	186	186.9	131.0	50	10	30
吴茱萸碱	18.43	303	304.1	133.8	52	10	30
吴茱萸次碱	20.78	287	287.9	115.0	79	10	65

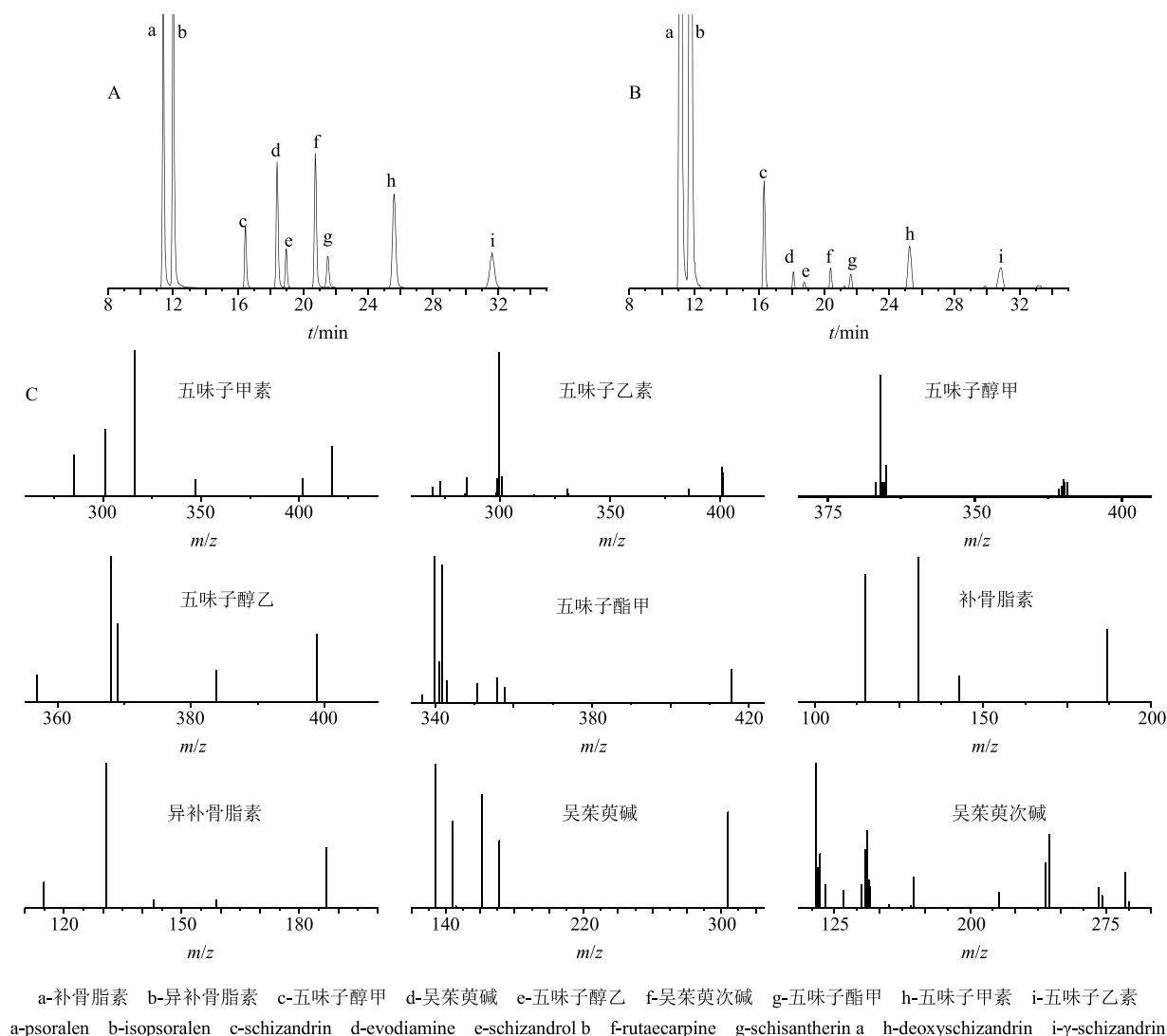


图 1 对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B) 的总离子流图和 9 种成分的二级质谱图 (C)

Fig. 1 Total-ion chromatograms of reference substances (A) and sample (B) obtained in positive-ion mode and second mass spectrum of reference substances (C)

2.3 溶液的配制

2.3.1 对照品溶液的配制 分别精密称取对照品五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱适量，置于 10 mL 量瓶中，溶于甲醇-0.1%甲酸水溶液（4：1），稀释至刻度，即得 9 种混合对照品储备液。然后按照储备液质量浓度的 1：200、2：200、4：200、10：200、50：200、100：200 进一步稀释，配制成一系列不同质量浓度的对照品溶液，待测。所有溶液均在 4℃ 冰箱中保存。

2.3.2 供试品溶液的配制 分别精密称取不同厂家不同批号的四神丸样品粉末 0.5 g，置于 150 mL 具塞锥形瓶中，75%乙醇 25 mL 超声提取 30 min，过

滤取上清液，并用甲醇-0.1%甲酸水溶液（4：1）稀释至适宜质量浓度，即得。所有样品在 HPLC-ESI-MS/MS 分析前用 0.22 μm 的滤膜滤过。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系、检测限（LOD）和定量限（LOQ） 将对照品溶液按照“2.1”“2.2”项所述的色谱和质谱条件进行检测，以对照品质量浓度为横坐标（ X ），相应峰面积为纵坐标（ Y ），绘制标准曲线，进行线性回归，即得各指标物的线性方程及相关系数（ r ）。然后，将混合对照品溶液进行连续稀释，以信噪比 3：1 和 10：1 来确定各指标物的 LOD 和 LOQ，结果见表 2。所有指标物在相对较宽的质量浓度范围内呈现良好的线性关系（ $r>0.997$ ）。

表 2 四神丸中 9 种有效成分的线性方程和相关参数

Table 2 Calibration curves and related parameters of nine components in Sishen Pills

成分	线性方程	r	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
五味子甲素	$Y=217.85 X+11\ 413$	0.999 7	8.50~850.00	0.018	0.068
五味子乙素	$Y=108.36 X-12\ 796$	0.997 4	1.32~132.00	0.079	0.250
五味子醇甲	$Y=82.979 X-1\ 296.9$	0.999 8	9.60~960.00	0.077	0.300
五味子醇乙	$Y=37.622 X+937.37$	0.999 3	12.00~1 200.00	0.096	0.360
五味子酯甲	$Y=51.568 X+6\ 313.2$	0.997 9	11.50~1 150.00	0.046	0.092
补骨脂素	$Y=192.65 X+39\ 609$	0.999 7	21.70~2 170.00	0.019	0.087
异补骨脂素	$Y=207.63 X+33\ 645$	0.999 6	23.80~2 380.00	0.025	0.095
吴茱萸碱	$Y=111.79 X+10\ 930$	0.999 5	10.70~1 070.00	0.037	0.086
吴茱萸次碱	$Y=170.73 X+10\ 318$	0.998 0	8.54~854.00	0.029	0.068

2.4.2 日间和日内精密度试验 精密吸取低、中、高 3 种质量浓度（五味子甲素 8.5、85.0、850.0 ng/mL；五味子乙素 1.32、13.2、132.0 ng/mL；五味子醇甲 9.6、96.0、960.0 ng/mL；五味子醇乙 12.0、120.0、1200.0 ng/mL；五味子酯甲 11.5、115.0、1150.0 ng/mL；补骨脂素 21.7、217.0、2170.0 ng/mL；异补骨脂素 23.8、238.0、2380.0 ng/mL；吴茱萸碱 10.7、107.0、1070.0 ng/mL 和吴茱萸次碱 8.54、85.4、854.0 ng/mL）的混合对照品溶液，通过在 1 d 中重复进样 6 次以及连续 3 d 检测来考察日内和日间精密度，记录峰面积。结果，以 RSD 结果来衡量日内和日间精密度，RSD 分别在 0.66%~2.62%和 0.17%~2.38%。

2.4.3 重复性试验 取批号 16080045 的四神丸样品 0.5 g，平行称定 6 份，按照“2.3.2”项方法制备供试品溶液，然后以“2.1”“2.2”项的色谱和质谱条件测定，记录峰面积，计算供试品溶液中 9 种有效成分质量浓度的 RSD 值。结果，五味子甲素、五

味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 RSD 值分别为 1.41%、2.63%、1.78%、3.08%、2.95%、3.56%、1.98%、2.42%、3.77%。

2.4.4 稳定性试验 在室温下考察供试品溶液的稳定性。取同一供试品（批号 16080045）溶液分别在不同时间（0、2、4、6、8、12、24 h）进行分析，结果 9 种有效成分峰面积的 RSD 值均小于 2.25%。表明室温放置该溶液 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取批号 16080045 的四神丸样品 0.25 g，按照各成分测得质量分数的 50%、100%、150% 3 个水平，各取对照品溶液适量分别精密加入其中，按照“2.3.2”项方法制得供试品溶液，然后以“2.1”“2.2”项的色谱和质谱条件测定，记录峰面积，分别计算供试品溶液中 9 种成分的加样回收率和 RSD 值。试验在每个级别重复 3 次。结果四神丸中 9 种有效成分五味子甲素、五味

子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、补骨脂素、异补骨脂素、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的平均回收率分别为 98.3%、100.3%、99.2%、100.4%、99.1%、97.7%、99.0%、98.9%、100.3%，RSD 值分别为 2.21%、1.78%、2.19%、2.23%、2.18%、3.03%、2.51%、2.72%、2.10%。

2.5 四神丸样品测定

取不同厂家不同批次的四神丸样品，按照上述“2.3.2”项的方法制备得到供试品溶液，然后以“2.1”“2.2”项的色谱和质谱条件测定，记录峰面积，分别计算供试品溶液中 9 种有效成分的质量分数，结果见表 3。

表 3 四神丸中 9 种有效成分的测定结果 ($n = 3$)

Table 3 Quantitative determination of nine components in Sishen Pills ($n = 3$)

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	五味子甲素	五味子乙素	五味子醇甲	五味子醇乙	五味子酯甲	补骨脂素	异补骨脂素	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
S1	425.6	<LOQ	5.1	<LOQ	678.8	924.4	923.7	86.3	62.4
S2	308.8	<LOD	3.2	<LOD	346.5	1 223.3	1 263.4	123.2	61.2
S3	67.6	112.9	237.8	62.6	23.2	1 050.7	1 168.3	16.6	18.0
S4	72.1	129.2	256.8	67.4	23.6	1 101.5	1 187.4	19.0	21.6
S5	72.6	131.5	258.0	71.2	25.1	1 310.8	1 293.7	22.2	24.0
S6	125.8	<LOQ	2.2	<LOD	170.1	806.4	718.5	11.5	10.9
S7	130.9	<LOQ	2.1	<LOD	172.9	821.1	720.5	14.5	12.7
S8	130.0	<LOQ	2.3	<LOD	170.5	815.0	744.3	11.6	13.4

结果表明，不同厂家不同批次的四神丸中，呋喃香豆素类相对于木脂素类和总生物碱来说，含量较高，表现在各样品中补骨脂素和异补骨脂素的含量较高。同一厂家不同批次的四神丸，其有效成分的含量差异较小，而不同厂家的四神丸样品中有效成分含量差异较大，尤其是木脂素类成分。这一方面是因为不同厂家生产工艺存在着差异，而另一方面主要因素是药材的产地来源不同，受地理环境、气候条件或其他等因素所限，造成了不同厂家四神丸中各有效成分之间含量差异显著。如四神丸中的五味子，在《中国药典》2015 年版中记载，五味子被认为是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. (俗称北五味子) 或华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rahd. et Wils. (俗称南五味子) 的干燥成熟果实^[1]，分别以五味子醇甲和五味子酯甲作为含量测定的指标物。

在 S3~S5 样品中，四神丸中的五味子醇甲含量明显高于其他样品，而五味子酯甲的含量在 S1~S2、S6~S8 样品中明显高于 S3~S5 样品，推测 S1~S2、S6~S8 样品中，四神丸中五味子药材可能使用的是南五味子，而 S3~S5 样品中，五味子药材可能使用的是北五味子。众所周知，南五味子多产于我国中部和南部，而北五味子则主要来源于我国东北地区。有文献报道南五味子和北五味子的成分明

显不同^[24]，因此，取材不同，则四神丸中有效成分的含量就会存在差异，最终可以通过其含量来有效评价其质量。所以，建立多组分快速测定方法有一定的实用价值。

3 讨论

供试品溶液中补骨脂素和异补骨脂素是异构体。通常很难只通过质谱分辨出可能具有相同母离子和子离子的异构体。因此，色谱分离成为测定异构体的关键。同时，通过改变流动相组成和 pH 值，获得适宜的保留时间、较高的色谱分离度和最佳电离方式。考察了不同色谱柱 (Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈、Agilent TC-C₁₈ 和 Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱)、流动相组成 (甲醇-水、甲醇-甲酸水溶液)、洗脱条件和流动相体积流量 (0.2、0.4、0.6 mL/min) 等。为了提高分离度和改善峰形，加入了不同比例的乙酸铵、甲酸或乙酸。结果显示，当加入甲酸时，信号强度和峰形良好，但随着甲酸加入量的增加，信号强度呈下降趋势。最终实验表明，0.1% 甲酸水溶液的存在可以提高电离效率，也可以显著提高分离度。当采用梯度洗脱，体积流量为 0.4 mL/min 时，四神丸中 9 种有效成分可以在 35 min 内分离洗脱完全。

为了优化提取条件，研究了提取方法、提取溶剂和提取时间。结果显示，超声提取在相似结果下，

较加热回流提取更简便有效。考察纯水, 25%、50%、75%、100%乙醇作为提取溶剂。当 75%乙醇提取时, 提取出的有效成分多而且含量较高。为了确定最佳提取时间, 将 0.5 g 样品用 25 mL 75%乙醇通过超声提取, 分别提取 15、30、45、60 min。在 30 min 内有效成分几乎完全被提取出来。

此外, 根据《中国药典》2015 年版中的处方比例, 按照“2.3.2”方法制得相应的阴性对照溶液, 发现在 9 种有效成分的相应位置处相互不存在干扰, 说明方法的专属性满足分析要求。HPLC-ESI-MS/MS 可以同时定量四神丸中的 9 种有效成分, 对进一步的药效评价及药动学方面研究有一定的参考价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 高长玉, 王 壶, 毛 颖, 等. 四神丸对溃疡性结肠炎模型大鼠-氧化氮和氧自由基水平影响的实验研究 [J]. 中医药学报, 2014, 42(5): 85-87.
- [3] Liu D Y, Guan Y M, Zhao H M, *et al.* The protective and healing effects of Si Shen Wan in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(2): 435-440.
- [4] 文廷玉, 曹砚杰. 附子理中汤合四神丸加减治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9): 177-180.
- [5] 蔺晓源, 邓 娜, 李 霞, 等. 四神丸对脾肾阳虚泄泻模型大鼠实验研究 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(5): 756-758.
- [6] 杜雅薇, 李 冀, 王玉来, 等. 五味子散于四神丸对脾虚泄泻大鼠分泌性 IgA 白介素-2 含量影响的配伍比较研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(10): 2189-2191.
- [7] 曹 阳, 赵丹玉, 柴纪严, 等. 四神丸对结肠炎性病变后诱发结肠癌化学预防作用研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(11): 127-129.
- [8] 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.
- [9] 王 磊, 王 媛, 李爱主, 等. 基于靶细胞萃取的延胡索药效成分的筛选和含量测定 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 990-994.
- [10] 姜 红, 赵生玉, 黄浩洲, 等. 三勒浆口服液 HPLC 指纹图谱的建立及多成分定量测定 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3741-3747.
- [11] 王启明, 魏谭军, 贾旭明. HPLC 法测定肾炎灵胶囊中柳穿鱼叶苷、地榆皂苷-I、女贞苷、特女贞苷、去甲蟾
- 蜷菊内酯和蟾蜍内酯 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(10): 1824-1827.
- [12] 何春喜, 袁 丁, 何毓敏, 等. 一测多评法在五子衍宗丸质量控制中应用 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3754-3759.
- [13] 苏 建, 刘永利, 郭 毅, 等. 多波长 HPLC 法同时测定四神丸中 7 个有效成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(9): 1531-1537.
- [14] 姚 兰, 王运军, 刘晓英, 等. RP-HPLC 法同时测定四神丸中补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲和吴茱萸碱的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4095-4097.
- [15] 甄 攀, 白雪梅, 王治宝. 四神丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 HPLC 分析 [J]. 中草药, 2004, 35(11): 1249-1251.
- [16] Wang Y H, Qiu C, Wang D W, *et al.* Identification of multiple constituents in the traditional Chinese medicine formula Sheng-Mai San and rat plasma after oral administration by HPLC-DAD-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(5): 1110-1127.
- [17] 李 娟, 狄留庆, 李俊松, 等. HPLC-MS 法同时测定六神丸中 9 种蟾蜍二烯内酯类化合物 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 700-705.
- [18] Xu M J, Wang G J, Xie H T, *et al.* Determination of schizandrin in rat plasma by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry and its application in rat pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 828(1): 55-61.
- [19] 陈博年, 孙立伟, 张 毅, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定心通口服液液中 10 种活性成分 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2455-2460.
- [20] Huang X, Song F R, Liu Z Q, *et al.* Studies on lignan constituents from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruits using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization multiple-stage tandem mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2007, 42(9): 1148-1161.
- [21] 冯素香, 李蒙蒙, 李 晨, 等. HPLC-MS 法测定大鼠体内大黄素血药浓度及药动学研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1971-1976.
- [22] 孙明谦, 卢建秋, 张宏桂. 呋喃香豆素类化合物电喷雾质谱裂解途径 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 82-85.
- [23] 陈焕文, 郑 健, 王伟萍, 等. 电喷雾解吸电离质谱快速测定吴茱萸中生物碱 [J]. 分析化学, 2009, 37(2): 237-241.
- [24] 黄 鑫, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 五味子中木脂素类成分的高效液相色谱-电喷雾质谱研究 [J]. 化学学报, 2008, 66(9): 1059-1066.