

HPLC-MS/MS 法同时测定脑复清胶囊中 11 种成分

陈红英, 张容华

广州白云山医药集团股份有限公司 白云山制药总厂, 广东 广州 510515

摘要: **目的** 建立一种高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)分析方法,可同时测定脑复清胶囊中刺五加苷 E、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷)、异嗪皮啶、迷迭香酸、三七皂苷 R₁、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd 和大黄素共 11 种成分的含量。**方法** 采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(75 mm×4.6 mm, 2.7 μ m) 色谱柱,以 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱,体积流量 0.4 mL/min,柱温 35 $^{\circ}$ C。质谱采用负离子多反应监测模式进行检测。**结果** 11 个成分在各自浓度范围内线性关系良好($r>0.996$),刺五加苷 E、二苯乙烯苷、异嗪皮啶、迷迭香酸、三七皂苷 R₁、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd、大黄素的加样回收率分别为 106.4%、104.2%、99.9%、102.3%、104.1%、98.3%、108.9%、103.6%、105.8%、101.9%、104.2%; 11 种成分在 10 批样品中的质量分数分别为 0.274~0.310 mg/g、1.579~1.642 mg/g、0.093~0.099 mg/g、0.331~0.352 mg/g、1.115~1.229 mg/g、1.663~1.870 mg/g、4.884~5.173 mg/g、0.691~0.762 mg/g、2.974~3.358 mg/g、1.053~1.493 mg/g、0.100~0.115 mg/g。**结论** 所建立的方法灵敏度高,稳定快速,适用于同时测定脑复清胶囊中 11 个成分的含量,可以用于该产品质量控制。

关键词: 脑复清胶囊; HPLC-MS/MS; 刺五加苷 E; 二苯乙烯苷; 异嗪皮啶; 迷迭香酸; 三七皂苷 R₁; 丹酚酸 B; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rd; 大黄素

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)15-3645-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.025

Simultaneous determination of 11 components in Naofuqing Capsule by HPLC-MS/MS

CHEN Hong-ying, ZHANG Rong-hua

Baiyunshan Pharmaceutical General Factory, Guangzhou Baiyunshan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To develop a high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for simultaneous determination of 11 components including eleutheroside E, 2,3,5,4'-tetra-hydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside (stilbene glycoside), isofraxidin, rosmarinic acid, notoginsenoside R₁, salvianolic acid B, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, ginsenoside Rb₁, ginsenoside Rd, and emodin in Naofuqing Capsule. **Methods** The analysis was performed on an Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ column (75 mm × 4.6 mm, 2.7 μ m), and the mobile phase consisted of water containing 0.1% formic acid and acetonitrile with gradient elution at the flow rate of 0.4 mL/min. The column temperature was maintained at 35 $^{\circ}$ C. The MS detection for the 11 tested components was performed in negative ion multiple reaction monitoring mode. **Results** Good linear relationship were observed in the test range for 11 components, and the recoveries of eleutheroside E, stilbene glycoside, isofraxidin, rosmarinic acid, notoginsenoside R₁, salvianolic acid B, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, ginsenoside Rb₁, ginsenoside Rd, and emodin were 106.4%, 104.2%, 99.9%, 102.3%, 104.1%, 98.3%, 108.9%, 103.6%, 105.8%, 101.9%, and 104.2%, respectively. The contents of 10 batches of the 11 components were in the ranges of 0.274—0.310, 1.579—1.642, 0.093—0.099, 0.331—0.352, 1.115—1.229, 1.663—1.870, 4.884—5.173, 0.691—0.762, 2.974—3.358, 1.053—1.493, and 0.100—0.115 mg/g, respectively. **Conclusion** The established method is sensitive, stable, and rapid. It is suitable for the simultaneous determination of multiple components in Naofuqing Capsule.

Key words: Naofuqing Capsule; HPLC-MS/MS; eleutheroside E; stilbene glycoside; isofraxidin; rosmarinic acid; notoginsenoside R₁; salvianolic acid B; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rd; emodin

收稿日期: 2018-03-03

作者简介: 陈红英(1974—),女,硕士,研究方向为新药研发。E-mail: 2215183393@qq.com

脑复清胶囊用于脑震荡综合症、脑外伤后遗症、脑炎及脑膜炎后遗症等头痛、头晕、失眠、记忆力减退、注意力不集中、情绪变化等症状的改善,以及治疗脑动脉硬化症、老年痴呆等。处方由 γ -氨基丁酸 (GABA)、氯化胆碱、谷维素、维生素 E、维生素 B₁、烟酸 6 味化学药和三七粉、丹参浸膏、刺五加浸膏、何首乌浸膏、石菖蒲浸膏 5 味中药组成。三七中的皂苷类成分是其最主要的生物活性成分,对心、脑血管系统疾病有明显疗效,具有改善微循环、抗血栓形成、扩张血管、保护实验性脑缺血、保护神经、抗衰老和提高机体免疫力等作用^[1-4]。丹参浸膏中主要是丹参酚酸类成分,此类成分对心肌缺血、脑缺血及脑缺血再灌注损伤具有保护作用^[5-6]。化合物刺五加苷 E 和异嗪皮啶分别为刺五加中的木脂素类及香豆素类化合物,是刺五加的主要有效活性成分,具有神经系统及心血管系统保护作用 and 抗疲劳作用^[7-8]。何首乌中的 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷)具有抗衰老、提高免疫力、防止动脉硬化等作用^[9-10],因此,对其进行质量控制是有必要的。

脑复清胶囊是白云山制药总厂独家产品,其质量标准仅对 γ -氨基丁酸的定量方法进行了研究^[11],其他成分只有薄层鉴别,没有定量控制。为了更好地控制该产品质量,本实验建立了 HPLC-MS/MS 法^[12-13]同时检测脑复清胶囊中来源于三七粉的成分(三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd)、来源于丹参浸膏的成分(丹酚酸 B 和迷迭香酸)、来源于刺五加浸膏的成分(刺五加苷 E 和异嗪皮啶)、来源于何首乌浸膏的成分(二苯乙烯苷和大黄素)。所建立的方法灵敏度高,稳定、快速,适用于同时测定脑复清胶囊中 11 种成分的含量,可以用于该产品质量控制。

1 仪器与材料

ABI 4000 QTRAP 三重四级杆质谱仪,配有电喷雾离子源 (ESI) 及 Analyst 1.6.3 数据处理系统,美国 ABI 公司; HPLC 系统,包括 G1311B 型四元梯度泵、G1330B 型在线脱气机、G1329B 型自动进样器、G1316A 型柱温箱,美国 Agilent 公司; Milli-Q 超纯水系统,美国 Millipore 公司; TGL-16B 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂; P30H 超声波清洗器,德国 Elma 公司。

对照品刺五加苷 E (批号 111713-201403,质量分数 98.1%)、二苯乙烯苷 (批号 110844-201713,

质量分数 93.6%)、异嗪皮啶 (批号 110837-201608,质量分数 100%)、迷迭香酸 (批号 111871-201706,质量分数 90.5%)、三七皂苷 R₁ (批号 110745-201619,质量分数 95.0%)、丹酚酸 B (批号 111562-201716,质量分数 94.1%)、人参皂苷 Rg₁ (批号 110703-201731,质量分数 93.6%)、人参皂苷 Re (批号 110754-201626,质量分数 97.4%)、人参皂苷 Rb₁ (批号 110704-200921,质量分数 92.6%)、人参皂苷 Rd (批号 111818-201603,质量分数 92.1%)、大黄素 (批号 110756-201512,质量分数 98.7%) 均购自中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇、甲酸,色谱纯,德国 Merck 公司;超纯水由 Milli-Q 制备。

10 批脑复清胶囊,批号 1160001、1160002、1160003、1160004、1170001、1170002、1170003、1170004、1170005、1170006,均由广州白云山医药集团股份有限公司白云山制药总厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[14-15]

色谱柱为 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 柱 (75 mm×4.6 mm, 2.7 μ m),配 Agilent EC-C₁₈ 保护柱 (5 mm×4.6 mm, 4.0 μ m);流动相系统为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈;体积流量为 0.4 mL/min;柱温 35 $^{\circ}$ C,进样量 1 μ L;梯度洗脱程序:0~18 min, 20%~22% 乙腈;18~22 min, 22%~24% 乙腈;22~25 min, 24%~100% 乙腈;25~30 min, 100% 乙腈;30~31 min, 100%~20% 乙腈;31~36 min, 20% 乙腈。理论塔板数均大于 8 000。

2.2 质谱条件^[16]

三重四级杆质谱仪 (QQQ MS) 配置电喷雾离子化 (ESI) 的离子源,以高纯氮气为干燥气,在负离子模式下采用多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 采集。优化的质谱参数如下:气帘气:137.90 kPa (20 psi);碰撞气:中;离子化电压-4 500 V;温度 300 $^{\circ}$ C;喷雾气 172.375 kPa (25 psi);辅助加热气:172.375 kPa (25 psi)。11 个化合物的最佳的 MRM 参数:去簇电压 (DP)、碰撞室入口电压 (EP)、碰撞能量 (CE) 和碰撞室出口电压 (CXP) 具体设置见表 1。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 分别精密称定刺五加苷 E、二苯乙烯苷、异嗪皮啶、迷迭香酸、三七皂苷 R₁、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参

表 1 化合物的 HPLC-MS/MS 条件
Table 1 HPLC-MS/MS conditions for analytes

化合物	t_R/min	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	DP/V	EP/V	CE/V	CXP/V
刺五加苷 E	3.06	741.1	579.5	-114	-10	-17	-7
二苯乙烯苷	6.17	405.2	243.2	-83	-12	-26	-4
异嗪皮啶	7.58	221.0	205.9	-49	-10	-19	-11
迷迭香酸	12.17	359.1	161.0	-61	-7	-22	-9
三七皂苷 R_1	14.89	931.8	637.7	-193	-10	-54	-16
丹酚酸 B	17.66	717.0	519.3	-84	-6	-28	-13
人参皂苷 R_{g1}	19.54	799.6	637.8	-182	-5	-33	-19
人参皂苷 Re	20.38	945.5	783.7	-201	-9	-48	-23
人参皂苷 R_{b1}	27.13	1 107.7	945.8	-158	-13	-63	-23
人参皂苷 Rd	27.39	945.4	783.6	-187	-8	-53	-9
大黄素	29.19	269.0	225.1	-98	-8	-37	-13

皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 Rd、大黄素适量置于量瓶中，用甲醇溶解（其中刺五加苷 E 用 50% 甲醇溶解）配成各对照品储备液，取储备液适量，置于同一量瓶中，用甲醇配成质量浓度分别为 158.48、608.09、419.29、95.00、185.76、258.12、77.19、24.10、11.75、275.97、30.55 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取胶囊内容物约 0.3 g，精密称定，置于合适的量瓶中，精密加入 75% 甲醇 10 mL，密塞，在室温下超声处理 30 min，放冷，用 75% 甲醇补足减失的质量，转移至离心管中，于 13 000 r/min 下离心 12 min，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液即得。

2.4 专属性考察

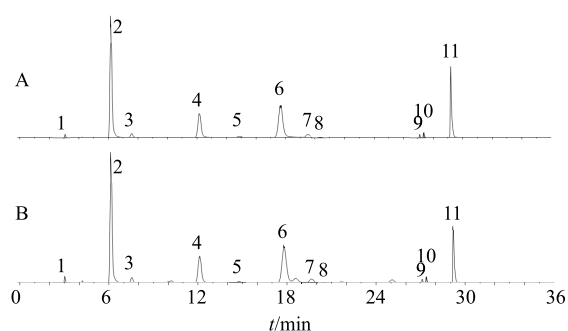
分别取混合对照品溶液和供试品溶液（批号 1170005）进样分析，色谱图见图 1。结果表明各化合物之间分离度好，无干扰，专属性良好。

2.5 标准曲线和定量限

精密量取“2.3.1”项下的混合对照品溶液，用甲醇稀释为一系列质量浓度的对照品溶液，按“2.1”项下的色谱条件检测，以化合物的峰面积为纵坐标，相应的化合物质量浓度为横坐标，建立标准曲线，结果见表 2。11 种化合物在各自的质量浓度范围内 r 在 0.996 1~0.999 9，线性关系良好。另取混合对照品溶液按照质量浓度梯度由高到低稀释，分别进样分析，取信噪比 (S/N) 为 10 的质量浓度为定量限 (LOQ)。结果显示，灵敏度较好。

2.6 日内、日间精密度

分别取高、中、低质量浓度（刺五加苷 E 9 638.8、



1-刺五加苷 E 2-二苯乙烯苷 3-异嗪皮啶 4-迷迭香酸 5-三七皂苷 R_1 6-丹酚酸 B 7-人参皂苷 R_{g1} 8-人参皂苷 Re 9-人参皂苷 R_{b1} 10-人参皂苷 Rd 11-大黄素
1-eleutheroside E 2-stilbene glycoside 3-isofraxidin 4-rosmarinic acid 5-notoginsenoside R_1 6-salvianolic acid B 7-ginsenoside R_{g1} 8-ginsenoside Re 9-ginsenoside R_{b1} 10-ginsenoside Rd 11-emodin

图 1 混合对照品溶液 (A) 与供试品溶液 (B) 的提取离子流色谱图 (XIC)

Fig. 1 XIC of mixed references solution (A) and sample solution (B)

6 024.3、2 409.7 ng/mL ；二苯乙烯苷 110 386.8、68 991.7、27 596.7 ng/mL ；异嗪皮啶 4 701.3、2 938.3、1 175.3 ng/mL ；迷迭香酸 30 877.5、19 298.4、7 719.4 ng/mL ；三七皂苷 R_1 63 393.2、39 620.8、15 848.3 ng/mL ；丹酚酸 B 103 249.0、64 530.6、25 812.3 ng/mL ；人参皂苷 R_{g1} 243 235.0、152 021.9、60 808.7 ng/mL ；人参皂苷 Re 38 000.7、23 750.4、9 500.2 ng/mL ；人参皂苷 R_{b1} 167 714.4、104 821.5、41 928.6 ng/mL ；人参皂苷 Rd 74 303.0、46 439.4、18 575.7 ng/mL ；大黄素 12 219.7、7 637.3、3 054.9 ng/mL ）的混合对照品溶液，在 1 d 内连续进样 6 次，记录

表 2 11 个化合物的标准曲线和定量限

Table 2 Calibration curves and LODs of 11 analytes

化合物	标准曲线	<i>r</i>	定量限/(ng·mL ⁻¹)	线性范围/(ng·mL ⁻¹)
刺五加苷 E	$Y=38.79 X-9\ 390.78$	0.997 4	0.47	2 409.71~12 048.54
二苯乙烯苷	$Y=-6.97 \times 10^{-4} X^2+305.44 X+44\ 569.20$	0.999 6	0.34	27 596.70~137 983.50
异嗪皮啉	$Y=262.75 X-27\ 665.41$	0.998 5	7.35	1 175.31~5 876.57
迷迭香酸	$Y=438.63 X+100\ 155$	0.999 6	6.03	7 719.38~38 596.89
三七皂苷 R ₁	$Y=8.14 X-1\ 006.94$	0.999 9	99.05	15 848.30~79 241.52
丹酚酸 B	$Y=153.73 X-84\ 557.3$	0.999 3	40.33	25 812.26~129 061.31
人参皂苷 Rg ₁	$Y=5.39 X+19\ 478.08$	0.998 5	380.05	60 808.75~304 043.77
人参皂苷 Re	$Y=5.55 X-2\ 683.27$	0.999 7	237.50	9 500.17~47 500.85
人参皂苷 Rb ₁	$Y=-5.63 \times 10^{-6} X^2+2.44 X+1\ 044.06$	0.999 8	131.03	41 928.60~209 643.00
人参皂苷 Rd	$Y=-2.89 \times 10^{-5} X^2+7.76 X+487.84$	0.999 0	7.26	18 575.74~92 878.72
大黄素	$Y=-0.05 X^2+1\ 261.76 X+5.13 \times 10^5$	0.996 1	0.02	3 054.91~15 274.57

峰面积, 计算各质量浓度峰面积的 RSD, 考察日内精密度。取高、中、低质量浓度的混合对照品溶液连续 3 d, 每天连续进样 3 次, 记录峰面积, 考察日间精密度。结果表明日内精密度和日间精密度的 RSD 分别在 0.14%~1.63% 和 0.47%~2.41%。

2.7 重复性试验

按“2.3.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液(批号 1170005), 在“2.1”项的色谱条件下进样分析, 以每个化合物质量分数的 RSD 考察, RSD 分别为 2.87%、3.52%、2.37%、3.07%、2.67%、2.73%、2.17%、1.29%、1.82%、2.32%、3.91%, 结果表明重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的胶囊(批号 1170005)内容物 0.15 g, 置于 20 mL 量瓶中, 分别精密加入各成分等量的对照品溶液适量, 按“2.3.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定。计算回收率及其 RSD。刺五加苷 E、二苯乙烯苷、异嗪皮啉、迷迭香酸、三七皂苷 R₁、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd、大黄素加样回收率分别是 106.4%、104.2%、99.9%、102.3%、104.1%、98.3%、108.9%、103.6%、105.8%、101.9%、104.2%, RSD 均小于 5%, 结果表明准确性良好。

2.9 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号 1170005), 在“2.1”项色谱条件下分别在 0、2、4、8、12 h 进样, 计算峰面积的 RSD。结果显示 RSD 均小于 5%, 11 个化

合物在 12 h 内稳定。

2.10 样品测定

取 10 批脑复清胶囊样品, 按“2.3.2”项下方法平行制备供试品溶液, 每批各平行制备 3 份, 在“2.1”项色谱条件下进样 1 μL 检测, 记录化合物峰面积, 并计算其在样品中的质量分数。含量测定结果见表 3。脑复清胶囊样品中所测定的 5 个皂苷类成分(三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rd)的总量为 1.136%, 丹酚酸 B 和迷迭香酸的总量为 0.213%, 刺五加苷 E 和异嗪皮啉的总量为 0.04%, 二苯乙烯苷和大黄素的质量分数分别为 0.16% 和 0.01%。以质量分数最高的人参皂苷 Rg₁ 为参照, 其余各成分(刺五加苷 E、二苯乙烯苷、异嗪皮啉、迷迭香酸、三七皂苷 R₁、丹酚酸 B、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd 和大黄素)在脑复清胶囊中的相对含量比为 3:16:1:3:12:18:7:32:13:1。

根据研究结果, 暂定本品每粒含三七以三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rd 的总量计, 不得少于 2.73 mg。每粒含丹参浸膏以丹酚酸 B 和迷迭香酸的总量计, 不得少于 0.51 mg。每粒含刺五加浸膏以刺五加苷 E 和异嗪皮啉的总量计, 不得少于 0.09 mg。每粒含何首乌浸膏以二苯乙烯苷计, 不得少于 0.39 mg, 含大黄素不得少于 0.02 mg。

3 讨论

3.1 色谱与质谱条件的优化

本实验首先对色谱柱进行了筛选, 分别采用了

表 3 11 个化合物的测定结果 ($n = 10$)
Table 3 Contents of 11 analytes in samples ($n = 10$)

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)										
	刺五加苷 E	二苯乙烯苷	异嗪皮啉	迷迭香酸	三七皂苷 R ₁	丹酚酸 B	人参皂苷 R _{g₁}	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参皂苷 Rd	大黄素
1160001	0.293	1.580	0.099	0.340	1.115	1.814	4.920	0.744	3.358	1.465	0.106
1160002	0.296	1.601	0.095	0.331	1.182	1.779	4.928	0.758	3.325	1.493	0.104
1160003	0.310	1.634	0.093	0.352	1.229	1.870	4.898	0.762	3.339	1.440	0.106
1160004	0.284	1.618	0.098	0.338	1.193	1.814	5.173	0.722	3.272	1.232	0.107
1170001	0.274	1.620	0.096	0.349	1.133	1.811	5.089	0.715	3.198	1.224	0.113
1170002	0.303	1.642	0.094	0.331	1.120	1.762	4.884	0.691	3.060	1.153	0.100
1170003	0.298	1.599	0.095	0.348	1.131	1.804	4.914	0.701	3.102	1.053	0.115
1170004	0.296	1.579	0.093	0.335	1.124	1.801	4.885	0.744	3.291	1.442	0.109
1170005	0.290	1.630	0.097	0.343	1.176	1.768	5.053	0.725	3.226	1.307	0.107
1170006	0.293	1.617	0.095	0.340	1.136	1.663	4.951	0.694	2.974	1.129	0.109

Waters Spherisorb ODS2 (50 mm×4.6 mm, 3 μm) 和 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ (75 mm×4.6 mm, 2.7 μm) 色谱柱进行测定, 前者峰形较宽, 并在分离丹酚酸 B 及其同分异构体时未达到足够的分离度, 后者峰形较好, 分离效果好, 因此选择了后者。其次考察了不同流动相系统, 分别为水-甲醇、水-乙腈、0.1%甲酸水溶液-甲醇、0.1%甲酸水溶液-乙腈等。结果表明, 在水-甲醇流动相系统中, 峰形差, 在水-乙腈流动相系统中, 各组分之间分离效果不好, 在 0.1%甲酸水溶液-甲醇流动相系统中无法分开同分异构体人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rd, 在 0.1%甲酸水溶液-乙腈的流动相条件下, 化合物的峰形好, 达到足够的分离度。所以选其为流动相。

11 种成分主要属于皂苷类、酚酸类和其他类化合物, 在负离子模式下, 皂苷类成分和刺五加苷 E 均表现出强的 [M+HCOO]⁻ 准分子离子峰, 但是, [M+HCOO]⁻ 的稳定性不如 [M-H]⁻, 所以 [M-H]⁻ 是前体离子的最佳选择。DP 主要是影响离子进入质谱的速度, DP 越大, 离子速度快, 离子损失小, 检测灵敏度高。因而通过调节 DP 使得 [M-H]⁻ 响应增强, 再进一步挑选出合适的产物离子, 继而优化出 EP、CE 和 CXP 等质谱参数。

3.2 样品提取条件的优化^[17]

提取方法的考察: 根据该胶囊制备工艺, 曾采用回流提取和超声提取 2 种方式进行对比, 结果回流提取 1 h 和超声提取 30 min 效果一样, 考虑到超声提取、操作方便、效率高, 故最终采用超声提取。

在优化和筛选样品提取条件的过程中, 考察了

100%乙醇、100%甲醇、75%甲醇、50%甲醇等不同的提取溶剂, 结果表明, 75%甲醇为溶剂时超声提取杂质少, 峰面积大; 在提取溶剂体积方面, 对 10、20、30 mL 不同溶剂体积进行比较。结果表明, 溶剂体积为 10 mL 时峰面积大, 提取效果较好。提取时间考察: 10、20、30、45 min, 结果表明 30 min 提取完全。

来源于三七的 5 个皂苷类成分在紫外检测时均为末端吸收, 为避免由此造成的背景基线高和灵敏度低的问题, 本实验建立了高灵敏度的 HPLC-MS/MS 法, 并同时 对丹酚酸 B 和迷迭香酸等 6 个成分进行含量测定, 该方法干扰少, 重现性好, 方便快捷, 为脑复清胶囊中中药成分的质量控制提供科学依据, 为完善脑复清胶囊的质量标准提供参考。

参考文献

- [1] 乔春玲, 丁艳芬, 杨崇仁. 三七总皂苷药理研究进展 [J]. 中国现代中药, 2012(11): 25-30.
- [2] 贺旭, 葛金文, 邓长青, 等. 三七总皂苷抑制大鼠全脑缺血后海马 CA1 区神经元凋亡及其机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(8): 1337-1344.
- [3] 刘英吉. 三七总皂苷对缺血损伤神经细胞的保护作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [4] 龚云麒, 高宏涛, 王乙鸿, 等. 超高效液相色谱法测定三七总皂苷中三七皂苷 K [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(9): 1072-1074.
- [5] 张剑峰, 张丹参. 三七总皂苷药理作用研究进展 [J]. 医学综述, 2007, 13(6): 472-474.
- [6] 石少明, 李泽慧, 田书林, 等. 丹酚酸 B 对脑缺血再灌注损伤大鼠纹状体氨基酸类神经递质的影响 [J]. 北京

- 中医药大学学报, 2012, 35(8): 535-538.
- [7] Bai Y J, Tohda C, Zhu S, *et al.* Active components from Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) for protection of amyloid β (25-35)-induced neuritic atrophy in cultured rat cortical neurons [J]. *J Nat Med*, 2011, 65(3/4): 417-423.
- [8] Kimura Y, Sumiyoshi M. Effects of various *Eleutherococcus senticosus* cortex on swimming time, natural killer activity and corticosterone level in forced swimming stressed mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 95(2): 447-453.
- [9] 郭倩倩, 谢艳华, 杨倩, 等. 二苯乙烯苷的一般药理研究 [J]. 西北药学杂志, 2013, 28(2): 174-177.
- [10] Li S G, Chen L L, Huang X J, *et al.* Five new stilbene glycosides from the roots of *Polygonum multiflorum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(11): 1145-1151.
- [11] 谭少云, 余伟鸣, 叶放. HPLC 法测定脑复清胶囊中 γ -氨基丁酸的含量 [J]. 中国新药杂志, 2002, 11(11): 865-867.
- [12] 励炯, 金滕娜, 李玮, 等. 实心核颗粒色谱分离-HPLC-MS/MS 法同时测定性保健品中非法添加 15 种壮阳类化学成分 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 604-609.
- [13] 王静, 蒋慧宇, 邵姝鸣, 等. 基于 HPLC-TOF-MS 和 HPLC-MS/MS 技术的产复康颗粒主要成分定性定量及药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(11): 1559-1568.
- [14] 张杰, 刘胜兰, 王慧, 等. UPLC-MS/MS 测定复方丹参方中丹参酮、丹参酚酸 B、人参皂苷 R_g 及其在大鼠血浆和脑组织的药代动力学研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 580-586.
- [15] 张毅, 周慧. HPLC-MS/MS 法同时测定参乌健脑胶囊中 8 种成分 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2470-2474.
- [16] 赵静, 秦振娟, 彭冰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 技术的三七中皂苷类成分质谱裂解规律研究 [J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 97-108.
- [17] 黄旭东, 刘伟, 徐新元. HPLC 法同时测定新癢片中 8 个成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(10): 1852-1856.