

## 丹荷颗粒 25 种特征性成分 LC-MS 测定及制剂一致性分析

马兆臣<sup>1,2</sup>, 陈奎奎<sup>1,2</sup>, 李月婷<sup>1,2</sup>, 苏汝彬<sup>1,2</sup>, 李 乾<sup>4</sup>, 阳 娇<sup>1,2</sup>, 郁映婷<sup>1,2</sup>, 吴 浩<sup>1,2</sup>, 赵淑君<sup>1,2</sup>, 肖红斌<sup>2,3,4\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029

2. 北京中医药大学 中药分析与转化研究中心, 北京 100029

3. 北京中医药大学中医药研究院, 北京 100029

4. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱-三重串联四级杆质谱 (HPLC-MS/MS) 联用同时测定丹荷颗粒中 25 种特征性成分 (没食子酸、丹参素、儿茶素、绿原酸、咖啡酸、表儿茶素、芦丁、虎杖苷、金丝桃苷、紫云英苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、白藜芦醇、丹酚酸 B、槲皮素、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、异鼠李素、大黄素、乌药碱、荷叶碱、隐丹参酮、丹参酮 I、去氢荷叶碱、丹参酮 II<sub>A</sub>) 含量的方法, 并对其制剂批次间的一致性进行分析。**方法** HPLC 采用 Agilent Rapid Resolution HD C<sub>18</sub> 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液; 质谱采用动态多反应监测 (dMRM) 扫描模式。对 25 种特征性成分进行含量测定。**结果** 建立的 HPLC-MS/MS 方法在 10 min 内完成了 25 种特征性成分的同时定量分析, 定量限分别为异鼠李素、乌药碱、去氢荷叶碱 0.025 ng/mL、大黄素、丹参酮 I 0.050 ng/mL, 大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 0.200 ng/mL, 没食子酸、绿原酸、咖啡酸、表儿茶素、芦丁、金丝桃苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、荷叶碱、丹参酮 II<sub>A</sub> 0.250 ng/mL, 儿茶素、迷迭香酸、隐丹参酮 0.500 ng/mL, 丹参素、橙皮苷、丹酚酸 B 1.000 ng/mL, 虎杖苷 2.000 ng/mL, 柚皮苷 5.000 ng/mL; 且 25 种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好 ( $r>0.990$ ), 平均加样回收率 85.16%~113.46%, RSD 为 2.01%~8.80%。此外, 该方法较为全面地囊括了丹荷颗粒中君臣佐使药材的主要成分, 25 种成分总量为 31.49 mg/g, 其中丹酚酸 B (9.44 mg/g) 及橙皮苷 (7.60 mg/g) 质量分数最高, 异鼠李素 (0.79  $\mu$ g/g) 质量分数最低。经箱线图 (Box-plot) 分析, 10 个不同批次丹荷颗粒制剂中 25 种成分质量分数波动范围 ( $P$  值) 在 75% $<P<125\%$ ; 以及统计方法分析, 25 种成分质量分数的 RSD 在 2.58%~13.10%; 以上结果表明 10 批丹荷颗粒制剂间成分含量一致性合格。**结论** 所建立的分析方法快速、灵敏度高, 结果真实可靠, 能够为丹荷颗粒制剂的质量控制和制剂一致性分析提供科学方法及依据。

**关键词:** 丹荷颗粒; HPLC-MS/MS; 动态多反应监测; 质量控制; 一致性分析; 没食子酸; 丹参素; 儿茶素; 绿原酸; 咖啡酸; 表儿茶素; 芦丁; 虎杖苷; 金丝桃苷; 紫云英苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 迷迭香酸; 白藜芦醇; 丹酚酸 B; 槲皮素; 大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷; 异鼠李素; 大黄素; 乌药碱; 荷叶碱; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 去氢荷叶碱; 丹参酮 II<sub>A</sub>

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)24-5970-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.009

## Determination of 25 characteristic components in Danhe Granules by LC-MS and consistency analysis of preparations

MA Zhao-chen<sup>1,2</sup>, CHEN Kui-kui<sup>1,2</sup>, LI Yue-ting<sup>1,2</sup>, SU Ru-bin<sup>1,2</sup>, LI Qian<sup>4</sup>, YANG Jiao<sup>1,2</sup>, YU Ying-ting<sup>1,2</sup>, WU Hao<sup>1,2</sup>, ZHAO Shu-jun<sup>1,2</sup>, XIAO Hong-bin<sup>2,3,4</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Research Center for Chinese Medicine Analysis and Transformation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

4. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China

收稿日期: 2019-07-12

基金项目: 国家“重大新药创制”项目 (2019ZX09201004-001); 国家自然科学基金项目 (81774155); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2019-JYB-XS-108)

作者简介: 马兆臣 (1995—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药制剂工艺及质量标准研究。E-mail: mazaoc@163.com

\*通信作者 肖红斌 (1969—), 男, 教授。Tel: (010)64286490 E-mail: hbxiao69@163.com

**Abstract: Objective** A high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry method (HPLC-MS/MS) was established to simultaneously determine the content of 25 characteristic components (gallic acid, tanshinol, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, rutin, polydatin, hyperin, astragaloside, naringin, hesperidin, rosmarinic acid, resveratrol, salvianolic acid B, quercetin, emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside, isorhamnetin, emodin, coclaurine, nuciferine, cryptotanshinone, tanshinone I, dehydronuciferine, tanshinone II<sub>A</sub>) in Danhe Granules (DG), and the consistency between different batches was investigated. **Methods** The analysis was conducted on Agilent Rapid Resolution HD C<sub>18</sub> column (50 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m) with the mobile phase of 0.1% formic acid water-0.1% formic acid acetonitrile. The dynamic multi-response detection (dMRM) scanning mode was used in the mass spectrometry. **Results** Based on the established HPLC-MS/MS method, the simultaneous quantitative analysis of 25 characteristic components could be completed within 10 min, with the quantitative limits of isorhamnetin, coclaurine, and dehydronuciferine of 0.025 ng/mL; emodin and tanshinone I of 0.050 ng/mL; emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside of 0.200 ng/mL; gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, rutin, hyperin, astragaloside, resveratrol, quercetin, nuciferine, tanshinone II<sub>A</sub> of 0.250 ng/mL; catechin, rosmarinic acid, and cryptotanshinone of 0.500 ng/mL; tanshinol, hesperidin, and salvianolic acid B of 1.000 ng/mL; polydatin of 2.000 ng/mL; naringin of 5.000 ng/mL, respectively. The linear relationships of the 25 constituents within their respective mass concentrations were good, with the average recovery of 85.16%—113.46% and the RSD of 2.01%—8.80%. Furthermore, this method also included the main components named monarch, minister, assistant and guide of herbs in a relatively comprehensive way. The total content of the 25 components was 31.49 mg/g, among which the content of salvianolic acid B (9.44 mg/g) and hesperidin (7.60 mg/g) was the highest, and the content of isorhamnetin (0.79  $\mu$ g/g) was the lowest. According to boxplot analysis, the content of 25 components in 10 different batches of DG fluctuated ( $P$  value) within  $75\% < P < 125\%$ ; and the RSD value of 25 components ranged from 2.58% to 13.10% by statistical analysis. The above results showed that the consistency of the component content among 10 batches of DG was acceptable. **Conclusion** The analytical method established in this study is fast and sensitive. Furthermore, the results of this study are reliable and can provide scientific methods and basis for quality control and consistency analysis of DG.

**Key words:** Danhe Granules; HPLC-MS/MS; dynamic multiple response monitoring (dMRM); quality control; consistency analysis; gallic acid; tanshinol; catechin; chlorogenic acid; caffeic acid; epicatechin; rutin; polydatin; hyperin; astragaloside; naringin; hesperidin; rosmarinic acid; resveratrol; salvianolic acid B; quercetin; emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; isorhamnetin; emodin; coclaurine; nuciferine; cryptotanshinone; tanshinone I; dehydronuciferine; tanshinone II<sub>A</sub>

丹荷颗粒 (Danhe Granules, DG) 是名老中医郭维琴临床经验方, 由荷叶、丹参、山楂、虎杖、陈皮、薏苡仁 6 味药组成。该方功效为活血消食、祛湿健脾, 临床用于治疗湿邪困脾型高胆固醇血症。DG 目前处于中药新药临床前研究阶段, 药理功效基本明确, 但尚缺乏相应的质量控制标准。

中药复方成分繁杂, 其活性成分含量变化直接影响质量<sup>[1-3]</sup>, 因此建立同时测定多成分的方法来控制其质量十分必要。当前, 在中药复方多成分含量测定中, 部分研究仅控制君臣药中活性或主成分含量<sup>[4]</sup>, 虽检测条件简便, 但忽视了佐使药在复方质控中的重要性, 且活性成分选择具有广泛药理活性而非功效相关的成分, 造成制剂中部分主要活性成分的遗漏<sup>[5]</sup>, 特征性较差。针对上述问题, 本研究基于制剂水提醇沉的提取纯化工艺选择君臣佐使药材中转移率较高的主要水溶性成分和药典指标成分, 以及能够作用于胆固醇吸收、合成、转运、代谢、排泄各过程的药效成分进行测定。

高效液相色谱-三重串联四级杆质谱 (HPLC-MS/MS) 对于绝大多数成分而言, 无需将其基线分

离, 仅通过提取成分离子对, 即可准确定量, 从而极大地缩短了分析时间; 同时, 动态多反应监测模式 (dMRM) 可进一步提高检测灵敏度, 在中药复杂成分同时定量中的应用也越来越广泛<sup>[6-9]</sup>。箱线图是反映多组数据分散情况的统计图, 可直观得出成分在不同批次制剂间的含量变化情况<sup>[10]</sup>。本研究采用 HPLC-MS/MS 动态多反应监测模式对 DG 中 25 种特征性成分含量进行同时测定, 并结合箱线图及统计方法对 10 批制剂中 25 种成分含量变化情况进行一致性分析, 明确其含量是否一致, 为 DG 的质量控制及制剂一致性分析提供科学依据。

## 1 仪器与试药

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent 6470 三重四级杆串联质谱仪、Agilent Rapid Resolution HD C<sub>18</sub> 色谱柱 (50 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), 美国安捷伦公司; NewClassic MF 分析天平, 瑞士梅特勒公司; KQ-500 E 型超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司。

对照品没食子酸 (批号 M-017-161223)、迷迭香酸 (批号 M-024-170508)、虎杖苷 (批号 M-017-

161223)、丹参素(批号 D-036-170426)、绿原酸(批号 110753-201716)、槲皮素(批号 H-009-170426)、柚皮苷(批号 Y-006-161216)、丹酚酸 B(批号 D-012-170417)、橙皮苷(批号 110721-201818)、紫云英苷(批号 Z-020-171205)、大黄素(批号 MUST-16031601)、咖啡酸(批号 K-003-161216)、金丝桃苷(批号 J-012-170317)、白藜芦醇(批号 B-002-170426)、乌药碱(批号 W-011-161212)、表儿茶素(批号 B-020-161216)、芦丁(批号 L-001-171216)、隐丹参酮(批号 Y-002-170426)、儿茶素(批号 E-011-161216)、荷叶碱(批号 111566-201706)、丹参酮 II<sub>A</sub>(批号 D-008-170508)、异鼠李素(批号 Y-039-160601)、丹参酮 I(批号 D-006-160302)、去氢荷叶碱(批号 FZY-M1805230304)、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷(批号 D-018-160928)均购于成都瑞芬思生物科技有限公司;内标吡啶美辛(批号 Y18J7C18042)、尼莫地平(批号 Y17A6C2469)均购于上海源叶生物科技有限公司;所有对照品及内标的质量分数均大于 98%;甲酸、乙腈和甲醇均为质谱纯,美国 Fisher 公司;超纯水,美国 Millipore 公司;10 批 DG(S1~S10)由北京中医药大学中药分析与转化研究中心药学实验室制得,批号 180801、180807、180903、180914、180917、181011、181021、181102、181109、181122。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Agilent Rapid Resolution HD C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m),柱温 40  $^{\circ}$ C,流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B),负离子模式,梯度洗脱程序:0~0.2 min, 5% B; 0.2~0.5 min, 5%~20% B; 0.5~3.5 min, 20% B; 3.5~5.0 min, 20%~100% B; 5~7 min, 100% B; 正离子模式,梯度洗脱程序:0~0.2 min, 15%~100% B; 0.2~3.0 min, 100% B。每次进样预平衡 5 min,体积流量 0.5 mL/min,进样量 5  $\mu$ L。

### 2.2 质谱条件

三重四级杆质谱仪配置电喷雾离子源(ESI),在正、负离子模式下采用动态多反应监测模式(Dynamic MRM)采集。优化的质谱参数如下:干燥气温度 300  $^{\circ}$ C,干燥气体积流量 6 L/min,喷嘴电压 310.264 kPa(45 psi),鞘气温度 300  $^{\circ}$ C,鞘气体积流量 11 L/min。25 种成分的色谱保留时间及最佳 dMRM 参数见表 1。dMRM 色谱图见图 1。

### 2.3 对照品溶液的制备

称取各待测对照品,配制成 1.0 mg/mL 单一对照品储备溶液。分别量取各对照品储备液适量,加 50%甲醇分别稀释制成质量浓度为虎杖苷、橙皮苷、丹酚酸 B 8.0  $\mu$ g/mL,大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、金丝桃苷、柚皮苷 4.0  $\mu$ g/mL,丹参素 2.0  $\mu$ g/mL,没食子酸、大黄素、槲皮素、迷迭香酸、紫云英苷、丹参酮 II<sub>A</sub>、荷叶碱 1.0  $\mu$ g/mL,绿原酸、芦丁 500.0 ng/mL,咖啡酸、白藜芦醇、隐丹参酮 250.0 ng/mL,表儿茶素、儿茶素、异鼠李素 100.0 ng/mL,丹参酮 I、乌药碱、去氢荷叶碱 50.0 ng/mL 的混合对照品溶液。正、负离子模式下内标吡啶美辛、尼莫地平溶液质量浓度均为 200.0 ng/mL。

### 2.4 供试品溶液的制备

取 DG 磨细混合均匀并过三号药典筛,取约 50 mg,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇水溶液 10 mL,密塞,称定质量,超声处理(频率 40 kHz,功率 500 W)30 min,放冷,再称定质量,用 50%甲醇水溶液补足减失的质量,摇匀,精密量取 1 mL 溶液用相同溶剂稀释并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,用 0.22  $\mu$ m 滤膜滤过,取续滤液,备用。

### 2.5 线性关系考察与定量限

精密量取“2.3”项下方法制备的对照品混合溶液,用 50%甲醇溶液稀释配制系列质量浓度的对照品溶液。按照“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件进行测定,以成分峰面积与内标峰面积的比值(*Y*)对相应的成分质量浓度(*X*)做线性回归,绘制标准曲线,结果见表 2。25 种成分在各自的质量浓度范围内线性关系良好。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*)大于 10 的质量浓度为定量限(LOQ)。结果显示,灵敏度较好。

### 2.6 精密度试验

精密吸取“2.3”项下混合对照品溶液,并按照 1:1 加入内标液,进样测定峰面积,1 d 内连续进样 6 次测定得日内精密度,连续 3 d 测定得日间精密度,分别计算各成分与内标物的峰面积比值及比值的 RSD。结果表明日内精密度 RSD 在 0.24%~7.42%,日间精密度 RSD 在 0.30%~8.90%,仪器精密度良好。

### 2.7 重复性试验

按“2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液(批

表 1 25 种成分的色谱保留时间及质谱检测参数

Table 1 Chromatographic retention time and mass spectrometry parameters of 25 components

| 成分                                 | <i>t<sub>R</sub></i> /min | 电离模式               | 母离子 ( <i>m/z</i> ) | 子离子 ( <i>m/z</i> ) | 毛细管出口电压/V | 碰撞能量/eV |
|------------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------|---------|
| 没食子酸                               | 0.59                      | [M-H] <sup>-</sup> | 168.7              | 125.1              | 86        | -14     |
| 丹参素                                | 0.95                      | [M-H] <sup>-</sup> | 197.2              | 135.3              | 85        | -14     |
| 儿茶素                                | 2.70                      | [M-H] <sup>-</sup> | 289.1              | 245.0              | 125       | -14     |
| 绿原酸                                | 2.70                      | [M-H] <sup>-</sup> | 353.1              | 191.1              | 68        | -34     |
| 咖啡酸                                | 2.80                      | [M-H] <sup>-</sup> | 179.0              | 135.0              | 100       | -15     |
| 表儿茶素                               | 3.00                      | [M-H] <sup>-</sup> | 289.1              | 245.0              | 125       | -14     |
| 芦丁                                 | 3.40                      | [M-H] <sup>-</sup> | 609.1              | 300.0              | 200       | -40     |
| 虎杖苷                                | 3.40                      | [M-H] <sup>-</sup> | 389.1              | 227.0              | 111       | -28     |
| 金丝桃苷                               | 3.50                      | [M-H] <sup>-</sup> | 463.0              | 300.1              | 152       | -40     |
| 紫云英苷                               | 3.90                      | [M-H] <sup>-</sup> | 447.2              | 284.0              | 151       | -32     |
| 柚皮苷                                | 4.00                      | [M-H] <sup>-</sup> | 578.7              | 270.9              | 102       | -40     |
| 橙皮苷                                | 4.20                      | [M-H] <sup>-</sup> | 609.1              | 301.2              | 155       | -32     |
| 迷迭香酸                               | 4.40                      | [M-H] <sup>-</sup> | 359.1              | 161.1              | 110       | -20     |
| 白藜芦醇                               | 4.80                      | [M-H] <sup>-</sup> | 227.1              | 185.0              | 140       | -18     |
| 丹酚酸 B                              | 5.50                      | [M-H] <sup>-</sup> | 717.0              | 519.2              | 145       | -15     |
| 槲皮素                                | 5.90                      | [M-H] <sup>-</sup> | 301.0              | 150.9              | 140       | -20     |
| 大黄素-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷 | 5.90                      | [M-H] <sup>-</sup> | 431.1              | 269.0              | 190       | -30     |
| 异鼠李素                               | 6.10                      | [M-H] <sup>-</sup> | 315.1              | 300.0              | 155       | -20     |
| 大黄素                                | 6.60                      | [M-H] <sup>-</sup> | 269.0              | 225.0              | 158       | -30     |
| 乌药碱                                | 0.53                      | [M+H] <sup>+</sup> | 286.1              | 106.9              | 125       | 10      |
| 荷叶碱                                | 1.92                      | [M+H] <sup>+</sup> | 296.1              | 265.1              | 112       | 14      |
| 隐丹参酮                               | 2.62                      | [M+H] <sup>+</sup> | 297.0              | 254.0              | 159       | 21      |
| 丹参酮 I                              | 2.60                      | [M+H] <sup>+</sup> | 277.0              | 249.0              | 125       | 25      |
| 去氢荷叶碱                              | 2.72                      | [M+H] <sup>+</sup> | 294.1              | 279.2              | 148       | 18      |
| 丹参酮 II <sub>A</sub>                | 2.84                      | [M+H] <sup>+</sup> | 295.1              | 277.0              | 148       | 21      |
| 吡啶美辛                               | 2.34                      | [M+H] <sup>+</sup> | 358.6              | 139.2              | 75        | 30      |
| 尼莫地平                               | 6.60                      | [M-H] <sup>-</sup> | 417.0              | 122.0              | 160       | -20     |

号 180807), 在“2.1”项下色谱条件及“2.2”项下质谱条件进样测定, 结果显示, 没食子酸、丹参素、儿茶素、绿原酸、咖啡酸、表儿茶素、芦丁、虎杖苷、金丝桃苷、紫云英苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、白藜芦醇、丹酚酸 B、槲皮素、大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、异鼠李素、大黄素、乌药碱、荷叶碱、隐丹参酮、丹参酮 I、去氢荷叶碱、丹参酮 II<sub>A</sub> 的平均质量分数分别为 (249.28±3.71)、(1 112.80±42.10)、(20.55±0.78)、(195.99±7.48)、(21.30±0.55)、(28.99±0.53)、(222.65±7.97)、(3 085.40±74.30)、(1 126.10±42.00)、(523.00±20.80)、(2 592.40±102.00)、(7 178.10±213.00)、(481.07±17.30)、(42.18±1.56)、(9 138.50±345.00)、

(276.12±7.92)、(2 143.70±43.10)、(0.79±0.03)、(379.02±15.80)、(374.95±9.54)、(591.69±14.10)、(87.61±1.70)、(3.64±0.14)、(3.30±0.12)、(3.71±0.09) μg/g, 其 RSD 均在 1.49%~4.18%, 表明方法重复性良好。

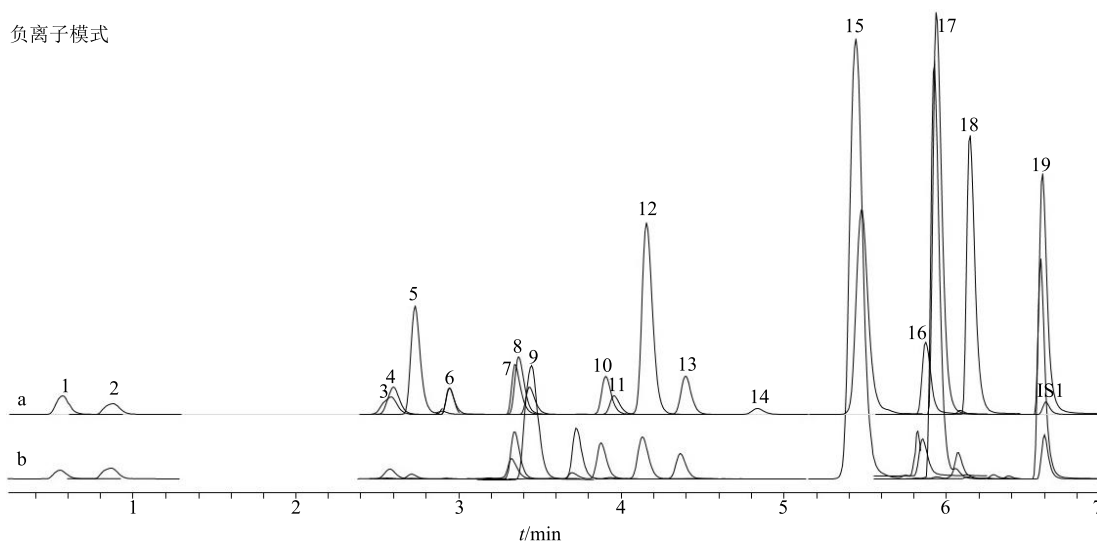
## 2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液 (批号 180807), 在“2.1”及“2.2”项下色谱及质谱条件下, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 结果显示 25 种成分的平均质量分数 RSD 均在 0.58%~4.12%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

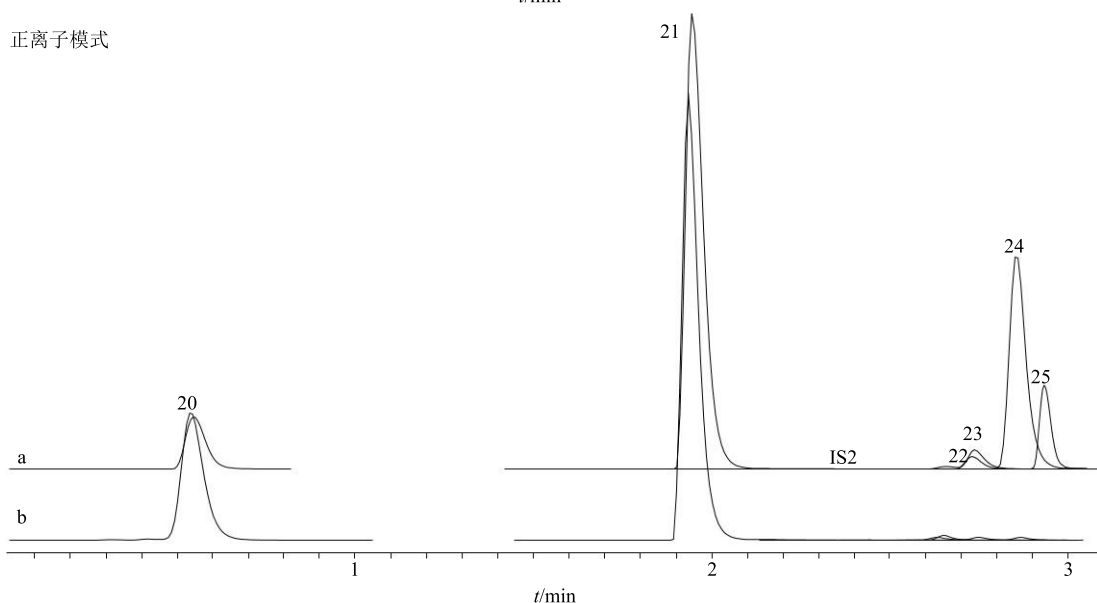
## 2.9 加样回收率试验

取同一批号样品 (批号 180807) 6 份, 每份约

负离子模式



正离子模式



1-没食子酸 2-丹参素 3-儿茶素 4-绿原酸 5-咖啡酸 6-表儿茶素 7-芦丁 8-虎杖苷 9-金丝桃苷 10-紫云英苷 11-柚皮苷 12-橙皮苷 13-迷迭香酸 14-白藜芦醇 15-丹酚酸 B 16-槲皮素 17-大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 18-异鼠李素 19-大黄素 20-乌药碱 21-荷叶碱 22-隐丹参酮 23-丹参酮 I 24-去氢荷叶碱 25-丹参酮 II<sub>A</sub>, 图 2、3 同, IS1-尼莫地平 IS2-吲哚美辛

1-gallic acid 2-tanshinol 3-catechin 4-chlorogenic acid 5-caffeic acid 6-epicatechin 7-rutin 8-polydatin 9-hyperin 10-astragalol 11-naringin 12-hesperidin 13-rosmarinic acid 14-resveratrol 15-salvianolic acid B 16-quercetin 17-emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside 18-isorhamnetin 19-emodin 20-coclaurine 21-nuciferine 22-cryptotanshinone 23-tanshinone I 24-dehydronuciferine 25-tanshinone II<sub>A</sub>, same as Fig. 2 and 3, IS1-nimodipine IS2-indometacin

图 1 25 种成分和内标物混合对照品溶液 (a) 和 DG 供试品溶液 (b) 动态多反应监测 (dMRM) 色谱图

Fig. 1 dMRM chromatography of 25 components and internal standards in mixed reference solution (a) and DG test solution (b)

50 mg, 精密称定, 分别精密加入各成分等量的对照品溶液适量, 按“2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”及“2.2”项下色谱及质谱条件进样测定。计算加样回收率及其 RSD, 结果见表 3, 各成分平均回收率在 85.16%~113.46%, RSD 在 2.01%~8.80%, 表明方法回收率良好。

## 2.10 样品测定

取 10 批样品, 按“2.4”项下方法制备供试品

溶液, 依法测定。用内标法计算样品中各成分的质量分数, 结果见表 4。各成分在不同批次样品间含量一致性见图 2。

## 2.11 10 批次制剂中 25 种成分含量一致性分析

DG 中 25 种成分含量相差较大, 因此本实验将成分含量转换为  $P$  值, 在相同水平比较不同成分  $P$  值的波动情况来分析成分在批次间的含量一致性。 $P = C_A / C_B$ , 其中  $C_A$  为每批制剂中各成分的含量,

表 2 25 种成分线性方程和定量限  
Table 2 Calibration curves and LODs of 25 components

| 成分                                | 线性方程                      | $r$     | 定量限/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------------------|---------------------------|---------|----------------------------|-----------------------------|
| 没食子酸                              | $Y=0.005\ 1\ X-0.015$     | 0.994 8 | 0.250                      | 5.00~500.00                 |
| 丹参素                               | $Y=0.001\ 8\ X-0.055$     | 0.991 2 | 1.000                      | 50.00~1 000.00              |
| 儿茶素                               | $Y=0.005\ 2\ X-0.006\ 8$  | 0.992 7 | 0.500                      | 2.50~50.00                  |
| 绿原酸                               | $Y=0.006\ 8\ X+0.014$     | 0.991 3 | 0.250                      | 2.50~250.00                 |
| 咖啡酸                               | $Y=0.022\ X+0.078$        | 0.999 7 | 0.250                      | 0.50~125.00                 |
| 表儿茶素                              | $Y=0.009\ 1\ X+0.12$      | 0.995 8 | 0.250                      | 0.50~50.00                  |
| 芦丁                                | $Y=0.009\ 6\ X+0.031$     | 0.991 2 | 0.250                      | 2.50~250.00                 |
| 虎杖苷                               | $Y=0.001\ 4\ X+0.030$     | 0.997 0 | 2.000                      | 20.00~4 000.00              |
| 金丝桃苷                              | $Y=0.005\ 6\ X-0.062$     | 0.995 3 | 0.250                      | 50.00~2 000.00              |
| 紫云英苷                              | $Y=0.007\ 9\ X-0.005\ 7$  | 0.996 4 | 0.250                      | 5.00~500.0                  |
| 柚皮苷                               | $Y=0.002\ 0\ X-0.003\ 4$  | 0.993 7 | 5.000                      | 50.00~2 000.00              |
| 橙皮苷                               | $Y=0.011\ X-0.024$        | 0.996 1 | 1.000                      | 100.00~4 000.00             |
| 迷迭香酸                              | $Y=0.008\ 3\ X-0.12$      | 0.991 5 | 0.500                      | 25.00~500.00                |
| 白藜芦醇                              | $Y=0.001\ 1\ X+0.000\ 70$ | 0.996 6 | 0.250                      | 0.50~125.00                 |
| 丹酚酸 B                             | $Y=0.015\ X-2.6$          | 0.998 1 | 1.000                      | 200.00~8 000.00             |
| 槲皮素                               | $Y=0.014\ X+0.012$        | 0.996 3 | 0.250                      | 5.00~500.00                 |
| 大黄素-8- <i>O</i> - $\beta$ -D-葡萄糖苷 | $Y=0.019\ X+0.27$         | 0.990 1 | 0.200                      | 100.00~2 000.00             |
| 异鼠李素                              | $Y=0.050\ X+0.029$        | 0.999 1 | 0.025                      | 0.05~50.00                  |
| 大黄素                               | $Y=0.038\ X+0.94$         | 0.991 0 | 0.050                      | 5.00~500.00                 |
| 乌药碱                               | $Y=9.7\ X+2.3$            | 0.992 1 | 0.025                      | 0.05~25.00                  |
| 荷叶碱                               | $Y=40\ X+11$              | 0.996 5 | 0.250                      | 5.00~500.00                 |
| 隐丹参酮                              | $Y=1.0\ X+0.18$           | 0.996 0 | 0.500                      | 2.50~125.00                 |
| 丹参酮 I                             | $Y=6.5\ X+0.84$           | 0.997 6 | 0.050                      | 0.25~25.00                  |
| 去氢荷叶碱                             | $Y=21\ X-4.2$             | 0.998 9 | 0.025                      | 0.50~25.00                  |
| 丹参酮 II <sub>A</sub>               | $Y=8.0\ X+1.3$            | 0.997 4 | 0.250                      | 5.00~500.00                 |

表 3 DG 中 25 种成分的加样回收率试验 ( $n=6$ )

Table 3 Recoveries of 25 components in DG ( $n=6$ )

| 成分   | 原含量/<br>$\mu\text{g}$ | 添加量/<br>$\mu\text{g}$ | 测得量/<br>$\mu\text{g}$ | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% | 成分                                    | 原含量/<br>$\mu\text{g}$ | 添加量/<br>$\mu\text{g}$ | 测得量/<br>$\mu\text{g}$ | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% |
|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------|-----------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------|-----------|
| 没食子酸 | 12.52                 | 15.00                 | 27.59                 | 100.43      | 5.99      | 白藜芦醇                                  | 2.12                  | 2.00                  | 3.89                  | 88.47       | 8.10      |
| 丹参素  | 55.90                 | 50.00                 | 103.31                | 94.82       | 6.84      | 丹酚酸 B                                 | 459.06                | 450.00                | 919.47                | 102.31      | 4.60      |
| 儿茶素  | 1.03                  | 1.00                  | 2.08                  | 104.26      | 8.20      | 槲皮素                                   | 13.87                 | 15.00                 | 30.89                 | 113.46      | 4.30      |
| 绿原酸  | 9.85                  | 10.00                 | 20.10                 | 102.52      | 6.90      | 大黄素-8- <i>O</i> - $\beta$ -<br>D-葡萄糖苷 | 107.69                | 100.00                | 198.74                | 91.06       | 5.37      |
| 咖啡酸  | 1.07                  | 1.00                  | 2.02                  | 94.59       | 7.90      | 异鼠李素                                  | 0.04                  | 0.10                  | 0.15                  | 106.16      | 5.74      |
| 表儿茶素 | 1.46                  | 1.00                  | 2.35                  | 89.71       | 8.80      | 大黄素                                   | 19.04                 | 20.00                 | 38.02                 | 94.89       | 8.70      |
| 芦丁   | 11.18                 | 10.00                 | 21.27                 | 100.85      | 8.55      | 乌药碱                                   | 18.85                 | 20.00                 | 40.95                 | 110.50      | 2.01      |
| 虎杖苷  | 154.99                | 150.00                | 292.51                | 91.68       | 3.40      | 荷叶碱                                   | 29.75                 | 30.00                 | 55.30                 | 85.16       | 3.83      |
| 金丝桃苷 | 56.57                 | 60.00                 | 122.34                | 109.61      | 4.80      | 隐丹参酮                                  | 4.40                  | 4.00                  | 8.25                  | 96.23       | 3.96      |
| 紫云英苷 | 26.27                 | 30.00                 | 56.73                 | 101.51      | 4.20      | 丹参酮 I                                 | 0.18                  | 0.20                  | 0.39                  | 102.84      | 5.59      |
| 柚皮苷  | 130.22                | 130.00                | 253.96                | 95.18       | 2.50      | 去氢荷叶碱                                 | 0.17                  | 0.20                  | 0.35                  | 91.20       | 4.71      |
| 橙皮苷  | 360.58                | 350.00                | 698.61                | 96.58       | 3.68      | 丹参酮 II <sub>A</sub>                   | 0.19                  | 0.20                  | 0.37                  | 89.52       | 4.75      |
| 迷迭香酸 | 24.17                 | 20.00                 | 44.32                 | 100.80      | 4.41      |                                       |                       |                       |                       |             |           |

表 4 10 批 DG 25 种成分质量分数 ( $\omega$ ) 及其  $P$  值  
Table 4 Content and  $P$  values of 25 components in 10 batches of DG

| 批号    | 没食子酸                                     |        | 丹参素                                      |        | 儿茶素                                      |        | 绿原酸                                      |        | 咖啡酸                                      |        | 表儿茶素                                     |        | 芦丁                                       |        |
|-------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|
|       | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ |
| S1    | 251.18                                   | 100.12 | 1 314.10                                 | 104.84 | 19.73                                    | 105.07 | 215.37                                   | 105.82 | 22.55                                    | 106.89 | 32.11                                    | 105.27 | 257.30                                   | 109.16 |
| S2    | 250.38                                   | 99.80  | 1 192.50                                 | 95.14  | 19.13                                    | 101.86 | 198.02                                   | 97.30  | 19.40                                    | 91.97  | 28.99                                    | 95.05  | 235.20                                   | 99.78  |
| S3    | 246.23                                   | 98.15  | 1 213.17                                 | 96.79  | 19.39                                    | 103.29 | 201.07                                   | 98.79  | 21.59                                    | 102.35 | 28.84                                    | 94.56  | 233.52                                   | 99.07  |
| S4    | 248.60                                   | 99.09  | 1 238.45                                 | 98.81  | 15.02                                    | 79.99  | 202.54                                   | 99.52  | 21.24                                    | 100.69 | 29.55                                    | 96.87  | 231.00                                   | 98.00  |
| S5    | 245.82                                   | 97.98  | 1 213.26                                 | 96.80  | 20.35                                    | 108.39 | 195.50                                   | 96.06  | 20.76                                    | 98.38  | 30.56                                    | 100.19 | 227.43                                   | 96.49  |
| S6    | 253.43                                   | 101.02 | 1 244.47                                 | 99.29  | 16.92                                    | 90.09  | 198.35                                   | 97.46  | 21.61                                    | 102.44 | 29.99                                    | 98.31  | 231.69                                   | 98.30  |
| S7    | 252.26                                   | 100.55 | 1 254.96                                 | 100.13 | 21.29                                    | 113.39 | 196.43                                   | 96.52  | 20.38                                    | 96.59  | 33.13                                    | 108.61 | 215.18                                   | 91.29  |
| S8    | 245.58                                   | 97.89  | 1 273.32                                 | 101.59 | 17.65                                    | 93.99  | 204.65                                   | 100.56 | 20.53                                    | 97.32  | 30.81                                    | 101.00 | 228.48                                   | 96.93  |
| S9    | 267.59                                   | 106.66 | 1 260.88                                 | 100.60 | 19.32                                    | 102.88 | 207.88                                   | 102.14 | 20.27                                    | 96.08  | 28.39                                    | 93.06  | 247.40                                   | 104.96 |
| S10   | 247.72                                   | 98.74  | 1 328.51                                 | 106.00 | 18.98                                    | 101.06 | 215.40                                   | 105.84 | 22.64                                    | 107.29 | 32.67                                    | 107.08 | 249.90                                   | 106.02 |
| 平均值   | 250.88                                   |        | 1 253.35                                 |        | 18.78                                    |        | 203.52                                   |        | 21.10                                    |        | 30.50                                    |        | 235.71                                   |        |
| RSD/% | 2.58                                     |        | 3.47                                     |        | 9.63                                     |        | 3.59                                     |        | 4.87                                     |        | 5.46                                     |        | 5.27                                     |        |

| 批号    | 虎杖苷                                      |        | 金丝桃苷                                     |        | 紫云英苷                                     |        | 柚皮苷                                      |        | 橙皮苷                                      |        | 迷迭香酸                                     |        | 白藜芦醇                                     |        |
|-------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|
|       | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ |
| S1    | 3 469.08                                 | 106.21 | 1 435.07                                 | 108.11 | 599.44                                   | 108.85 | 2 787.36                                 | 107.47 | 8 190.20                                 | 107.76 | 560.68                                   | 105.31 | 45.89                                    | 108.19 |
| S2    | 3 145.32                                 | 96.30  | 1 215.77                                 | 91.59  | 540.49                                   | 98.15  | 2 518.36                                 | 97.10  | 7 264.59                                 | 95.58  | 511.12                                   | 96.00  | 42.29                                    | 99.70  |
| S3    | 3 190.07                                 | 97.67  | 1 331.18                                 | 100.29 | 540.56                                   | 98.16  | 2 520.03                                 | 97.17  | 7 344.66                                 | 96.64  | 519.82                                   | 97.64  | 40.15                                    | 94.66  |
| S4    | 3 226.24                                 | 98.78  | 1 237.36                                 | 93.22  | 531.77                                   | 96.56  | 2 563.74                                 | 98.85  | 7 461.48                                 | 98.17  | 524.04                                   | 98.43  | 42.27                                    | 99.66  |
| S5    | 3 164.72                                 | 96.89  | 1 275.28                                 | 96.07  | 529.90                                   | 96.23  | 2 471.80                                 | 95.31  | 7 262.38                                 | 95.55  | 515.63                                   | 96.85  | 41.47                                    | 97.77  |
| S6    | 3 243.47                                 | 99.30  | 1 256.34                                 | 94.65  | 542.30                                   | 98.48  | 2 589.55                                 | 99.85  | 7 474.39                                 | 98.34  | 531.96                                   | 99.92  | 40.14                                    | 94.64  |
| S7    | 3 243.04                                 | 99.29  | 1 437.65                                 | 108.31 | 535.98                                   | 97.33  | 2 550.41                                 | 98.34  | 7 570.93                                 | 99.61  | 539.80                                   | 101.39 | 41.12                                    | 96.96  |
| S8    | 3 273.46                                 | 100.22 | 1 410.88                                 | 106.29 | 535.41                                   | 97.23  | 2 570.29                                 | 99.10  | 7 625.74                                 | 100.33 | 544.14                                   | 102.21 | 40.15                                    | 94.65  |
| S9    | 3 258.74                                 | 99.77  | 1 228.54                                 | 92.55  | 558.32                                   | 101.39 | 2 614.30                                 | 100.80 | 7 483.18                                 | 98.46  | 523.83                                   | 98.39  | 40.73                                    | 96.03  |
| S10   | 3 448.26                                 | 105.57 | 1 445.85                                 | 108.92 | 592.72                                   | 107.63 | 2 749.35                                 | 106.01 | 8 325.31                                 | 109.54 | 552.92                                   | 103.86 | 49.94                                    | 117.74 |
| 平均值   | 3 266.24                                 |        | 1 327.39                                 |        | 550.69                                   |        | 2 593.52                                 |        | 7 600.28                                 |        | 532.39                                   |        | 42.42                                    |        |
| RSD/% | 3.35                                     |        | 7.23                                     |        | 4.58                                     |        | 3.89                                     |        | 4.84                                     |        | 3.10                                     |        | 7.44                                     |        |

| 批号    | 丹酚酸 B                                    |        | 槲皮素                                      |        | 大黄素-8- <i>O</i> - $\beta$ -D-葡萄糖苷        |        | 异鼠李素                                     |        | 大黄素                                      |        | 乌药碱                                      |        | 荷叶碱                                      |        |
|-------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|
|       | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ |
| S1    | 10 067.82                                | 106.62 | 302.65                                   | 102.92 | 2 562.05                                 | 108.07 | 0.91                                     | 115.08 | 416.84                                   | 108.98 | 380.09                                   | 99.88  | 604.83                                   | 101.51 |
| S2    | 9 050.10                                 | 95.84  | 283.41                                   | 96.38  | 2 244.94                                 | 94.70  | 0.82                                     | 103.62 | 369.99                                   | 96.74  | 353.20                                   | 92.81  | 567.62                                   | 95.27  |
| S3    | 9 136.01                                 | 96.75  | 292.10                                   | 99.33  | 2 322.02                                 | 97.95  | 0.70                                     | 89.18  | 371.49                                   | 97.13  | 322.13                                   | 84.65  | 473.50                                   | 79.47  |
| S4    | 9 362.47                                 | 99.15  | 292.91                                   | 99.61  | 2 334.92                                 | 98.49  | 0.68                                     | 86.43  | 375.67                                   | 98.22  | 419.81                                   | 110.32 | 664.07                                   | 111.45 |
| S5    | 9 015.96                                 | 95.48  | 282.14                                   | 95.95  | 2 267.52                                 | 95.65  | 0.72                                     | 91.64  | 362.78                                   | 94.85  | 381.68                                   | 100.30 | 609.94                                   | 102.37 |
| S6    | 9 451.90                                 | 100.10 | 295.58                                   | 100.51 | 2 367.53                                 | 99.87  | 0.64                                     | 81.39  | 379.96                                   | 99.34  | 340.72                                   | 89.54  | 536.29                                   | 90.01  |
| S7    | 9 565.99                                 | 101.31 | 308.59                                   | 104.94 | 2 401.05                                 | 101.28 | 0.87                                     | 109.89 | 379.20                                   | 99.14  | 411.39                                   | 108.11 | 643.18                                   | 107.95 |
| S8    | 9 470.94                                 | 100.30 | 306.41                                   | 104.20 | 2 404.60                                 | 101.43 | 0.86                                     | 109.04 | 378.35                                   | 98.92  | 413.14                                   | 108.57 | 646.27                                   | 108.47 |
| S9    | 9 258.51                                 | 98.05  | 285.51                                   | 97.09  | 2 266.62                                 | 95.61  | 0.82                                     | 103.43 | 380.69                                   | 99.53  | 398.46                                   | 104.71 | 622.38                                   | 104.46 |
| S10   | 10 045.39                                | 106.38 | 291.37                                   | 99.08  | 2 535.47                                 | 106.95 | 0.87                                     | 110.30 | 409.75                                   | 107.13 | 384.81                                   | 101.12 | 590.19                                   | 99.05  |
| 平均值   | 9 442.51                                 |        | 294.07                                   |        | 2 370.67                                 |        | 0.79                                     |        | 382.47                                   |        | 380.54                                   |        | 595.83                                   |        |
| RSD/% | 3.93                                     |        | 3.17                                     |        | 4.59                                     |        | 11.81                                    |        | 4.51                                     |        | 8.60                                     |        | 9.65                                     |        |

续表 4

| 批号    | 隐丹参酮                                     |        | 丹参酮 I                                    |        | 去氢荷叶碱                                    |        | 丹参酮 II <sub>A</sub>                      |        |
|-------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|
|       | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ | $\omega/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ | $P/\%$ |
| S1    | 90.35                                    | 103.28 | 7.26                                     | 117.33 | 3.93                                     | 112.58 | 3.66                                     | 114.53 |
| S2    | 86.19                                    | 98.53  | 5.26                                     | 85.03  | 3.19                                     | 91.46  | 3.20                                     | 100.18 |
| S3    | 70.03                                    | 80.06  | 7.16                                     | 115.67 | 3.63                                     | 103.97 | 3.40                                     | 106.23 |
| S4    | 95.87                                    | 109.59 | 5.78                                     | 93.30  | 3.53                                     | 101.12 | 3.31                                     | 103.45 |
| S5    | 86.73                                    | 99.14  | 5.00                                     | 80.78  | 3.29                                     | 94.34  | 2.80                                     | 87.52  |
| S6    | 77.04                                    | 88.07  | 6.85                                     | 110.62 | 2.98                                     | 85.51  | 2.49                                     | 77.92  |
| S7    | 90.41                                    | 103.35 | 6.07                                     | 98.09  | 3.54                                     | 101.34 | 3.01                                     | 94.03  |
| S8    | 89.96                                    | 102.84 | 6.15                                     | 99.37  | 3.46                                     | 99.14  | 2.94                                     | 92.01  |
| S9    | 98.49                                    | 112.58 | 5.49                                     | 88.66  | 3.33                                     | 95.47  | 3.58                                     | 111.86 |
| S10   | 89.74                                    | 102.58 | 6.88                                     | 111.16 | 4.01                                     | 115.07 | 3.59                                     | 112.28 |
| 平均值   | 87.48                                    |        | 6.19                                     |        | 3.49                                     |        | 3.20                                     |        |
| RSD/% | 9.60                                     |        | 13.14                                    |        | 9.07                                     |        | 12.00                                    |        |

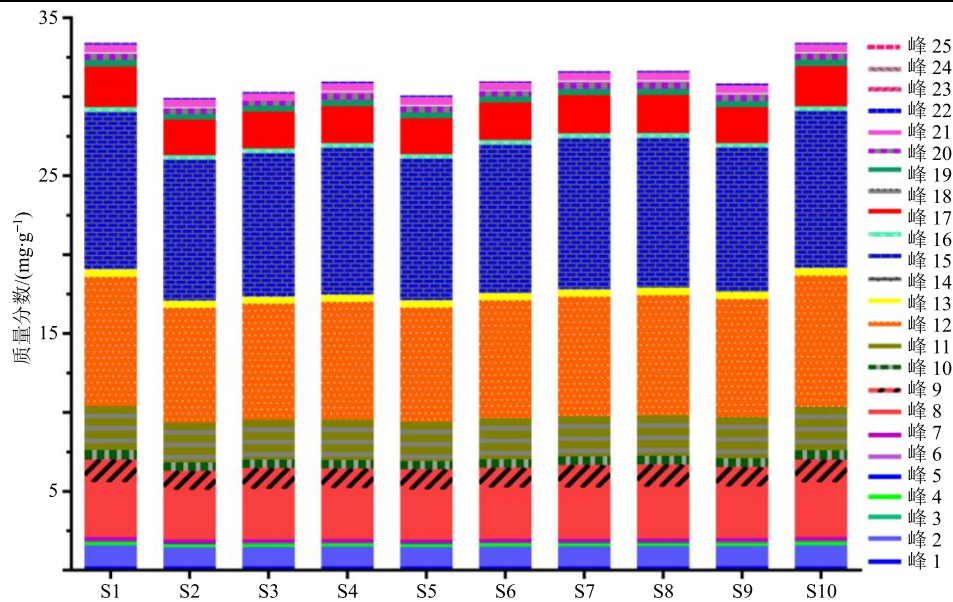


图 2 10 批 DG 25 种成分含量分布图

Fig. 2 Content distribution map of 25 components in 10 batches of DG

$C_B$  为 10 批制剂中各成分的平均含量，各成分  $P$  值见表 4。将 10 批制剂中 25 种成分  $P$  值导入 SPSS 19.0 软件进行处理，结果见图 3。成分  $P$  值越接近于 100% 表明在批次间的含量差异越小。规定批次间的波动在 75%~125%是可以接受的<sup>[11]</sup>，在 90%~110%是波动较小的。“o”“\*”均为成分在不同批次制剂中的含量异常值，表明了该成分含量波动较大的批次。

由图 3 可以看出 25 种成分在 10 批制剂中的含量波动均在可接受范围内，表明其含量一致性合格。进一步分析发现儿茶素、白藜芦醇、异鼠李素、乌药碱、荷叶碱、隐丹参酮、丹参酮 I、去氢荷叶碱、丹参酮 II<sub>A</sub> 这 9 种成分含量波动范围较大，而其他

16 种成分含量波动较小，因此在 10 批制剂间的一致性更好。此外，统计分析结果表明，10 批制剂中 25 种成分含量的 RSD 在 2.58%~13.10%，小于 15.00%，表明各成分含量一致性均合格，与箱线图分析结果相一致。

3 讨论

本研究首先通过质谱 Scan、Sim、Product 模式选择母离子、优化毛细管出口电压、确定离子对，并优化碰撞能量，从而得到质谱响应最佳的定量及定性离子；然后分别建立正离子模式下 6 种及负离子模式下 19 种成分 Dynamic MRM 检测方法；研究过程中发现，在两相流动相中均加入 0.1%甲酸，



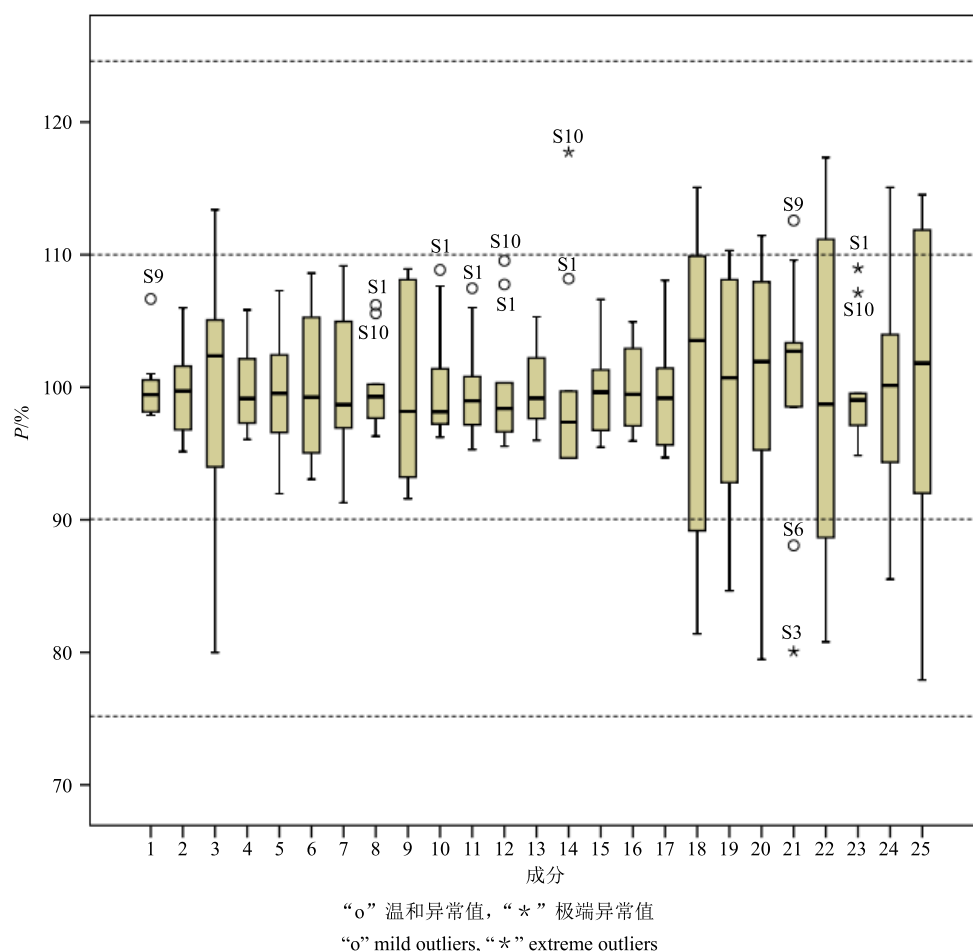


图 3 10 批 DG 中 25 种成分箱线图

Fig. 3 Boxplot of 25 components in 10 batches of DG

可显著提高丹参酮类及生物碱类成分  $[M+H]^+$  离子的丰度, 并消除酚酸类成分的拖尾; 同时研究中还发现, 表儿茶素和儿茶素互为顺反异构体, 其定量离子对均为 289.1~245.0, 因此需对其梯度洗脱条件进行考察, 通过优化流动相种类及洗脱条件发现, 在流动相为 20% 乙腈-水体系下等度洗脱既可以将两者基线分离, 又能保证不增加总的分离时间。本实验所建立的分析方法, 可在 10 min 内对 DG 复方制剂中 25 种极性差异较大 ( $-1.879 \leq \text{clog}P \leq 5.741$ ) 成分进行同时快速定量分析。

本研究中所测定的 25 种成分, 其总量为 31.49 mg/g, 较为全面地囊括了制剂中的主要成分及活性成分, 并基本涵盖复方中君臣佐使药材; 同时, 君药丹参、臣药虎杖及山楂、佐使药陈皮及荷叶中所测定成分的质量分数分别占 25 种成分总量的 36%、27%、37%, 表明各药材中成分在复方制剂中均起着重要作用, 因此, 在 DG 质控时应该同等对待。

此外, 由表 4 结果可知, 本实验测得的 DG 中

25 种成分质量分数为 0.80~9 442.50  $\mu\text{g/g}$ , 其中以丹酚酸 B、橙皮苷质量分数为最高, 其次为虎杖苷、柚皮苷、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、金丝桃苷、丹参素、荷叶碱。从特征性角度看, 这 8 种活性成分的质量分数占所测成分总量的 90%, 是复方最主要成分; 且批间含量差异相对较小 (RSD 值依次为 3.93%、4.84%、3.35%、3.89%、4.59%、7.23%、3.47%、9.65%), 表明以上成分在不同批次 DG 制剂中能够稳定存在; 其次丹酚酸 B、丹参素来源于君药丹参, 虎杖苷、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷及金丝桃苷分别来源于臣药虎杖、山楂, 橙皮苷、柚皮苷及荷叶碱分别来源于佐使药陈皮、荷叶, 且丹酚酸 B、虎杖苷、橙皮苷、荷叶碱分别为丹参、虎杖、陈皮、荷叶药典指标成分, 可控制君臣佐使药材质量。不仅如此, 大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、金丝桃苷、橙皮苷可通过抑制胆固醇调节元件结合蛋白 (SREBPs) 通路或羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (HMGCR) 的活性抑制胆固醇的合成<sup>[12-14]</sup>, 虎杖苷、柚皮苷可

通过抑制低密度脂蛋白 (LDLR) 的表达减少细胞对胆固醇的摄取<sup>[15-16]</sup>, 荷叶碱可通过增加过氧化物酶体增殖激活受体- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) 和三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1) 的表达, 促进胆固醇流出, 减少细胞内脂质蓄积, 改善脂质代谢<sup>[17-19]</sup>, 丹酚酸 B、丹参素能够通过抑制氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 产生促进粪便胆固醇、胆汁酸的排泄<sup>[20-21]</sup>, 共同发挥 DG 临床疗效。如上所述, 合理、稳定的质控指标是制剂一致性分析的先决条件。以上 8 种成分不仅可表征复方系统调节胆固醇代谢整体药效, 且覆盖 5 味药材, 并囊括了制剂的主要成分, 同时在制剂中还可以稳定的存在。因此, 在企业生产过程中, 可将以上成分作为复方质控的首选指标, 从而有效地保证 DG 制剂的一致性。

#### 参考文献

- [1] 魏紫突, 徐文娟, 刘洁, 等. 基于 HPLC-QQQ/MS 的龙生蛭胶囊中 19 种代表性成分含量一致性分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 948-953.
- [2] 曾锐, 陈俊可, 雍潘, 等. 基于 UHPLC-ESI-HRMS<sup>n</sup> 的清热灵颗粒中 8 种活性成分定量研究 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3842-3848.
- [3] 王静, 蒋慧宇, 邵妹鸣, 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.
- [4] 曾永长, 梁少瑜, 吴俊洪, 等. 基于 UHPLC-ESI-QQ-MS/MS 技术的中药复方新天泰 1 号多类别多成分质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3835-3841.
- [5] 支旭然, 刘洪涛, 吴茵, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定肾康注射液 7 个有效成分 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(1): 37-42.
- [6] 吴茵, 穆华, 刘勇, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定玄麦甘桔颗粒中 8 种有效成分 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3034-3038.
- [7] Wang Q, Song W, Qiao X, *et al.* Simultaneous quantification of 50 bioactive compounds of the traditional Chinese medicine formula Gegen-Qinlian Decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1454: 15-25.
- [8] 梁大虎, 何春远, 汪昱晖, 等. HPLC-MS/MS 法测定 2 型糖尿病患者血浆中瑞格列奈 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(4): 960-964.
- [9] 熊茜, 潘媛, 张婷, 等. HPLC-MS/MS 多组分定量测定结合化学计量学研究市售小金丸的质量一致性 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2189-2196.
- [10] 贾俊平, 何晓群, 金勇. 统计学 [M]. 第四版. 北京: 中国人民大学出版社, 2009.
- [11] Liu X S, Wu Z Z, Yang K, *et al.* Quantitative analysis combined with chromatographic fingerprint for comprehensive evaluation of Danhong Injection using HPLC-DAD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 76: 70-74.
- [12] Ye X L, Huang W W, Chen Z, *et al.* Synergetic effect and structure-activity relationship of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors from *Crataegus pinnatifida* Bge. [J]. *J Agr Food Chem*, 2010, 58(5): 3132-3138.
- [13] Mishra S K, Tiwari S, Shrivastava A, *et al.* Antidyslipidemic effect and antioxidant activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi* rhizomes in dyslipidemic rats [J]. *J Nat Med*, 2014, 68(2): 363-371.
- [14] Jung U J, Lee M K, Park Y B, *et al.* Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice [J]. *Int J Biochem Cell B*, 2006, 38(7): 1134-1145.
- [15] Hao J, Chen C, Huang K P, *et al.* Polydatin improves glucose and lipid metabolism in experimental diabetes through activating the Akt signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 745: 152-165.
- [16] Sui G, Xiao H, Lu X, *et al.* Naringin activates AMPK resulting in altered expression of SREBPs, PCSK9, and LDLR to reduce body weight in obese C57BL/6J mice [J]. *J Agr Food Chem*, 2018, 66(34): 8983-8990.
- [17] Zhang C, Deng J J, Liu D, *et al.* Nuciferine ameliorates hepatic steatosis in high-fat diet/streptozocin-induced diabetic mice through PPAR  $\alpha$ /PGC1  $\alpha$  pathway [J]. *Brit J Pharmacol*, 2018, 175 (22): 4218-4228.
- [18] 佟文娟, 徐新, 张社兵, 等. 荷叶生物碱下调 THP-1 源性巨噬细胞 microRNA-33a-5p 的表达及上调 ABCA1/G1 的表达 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(12): 1219-1223.
- [19] Guo F C, Yang X, Li X X, *et al.* Nuciferine prevents hepatic steatosis and injury induced by a high-fat diet in hamsters [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63770.
- [20] 陈娟, 邓军, 张宇燕, 等. 丹参素对高脂血症大鼠脂代谢调节机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(2): 313-317.
- [21] 迟晓君, 朱靖博, 李梅松, 等. 丹酚酸 B 调节胆固醇代谢的研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(8): 4742-4746.