

UHPLC-Q-Exactive-Obitriap MS 快速定量附子理中汤 10 种化学成分

杨 阳¹, 辛 杨^{1,2,*}, 马凤延¹, 王 哲¹, 徐 蕾¹, 张伟光¹, 马舒伟³

1. 齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

2. 齐齐哈尔大学 黑龙江省精细化工催化合成重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

3. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江 宁波 315100

摘要: **目的** 建立一种同时定量分析附子理中汤中 10 种化学成分的方法。**方法** 采用超高效液相色谱-质谱 (UHPLC-Q-Exactive Obitriap MS) 检测, 分别对液相色谱流动相、柱温、梯度洗脱条件, 质谱分辨率、喷雾电压等条件进行优化, 确定附子理中汤 10 种化学成分同时被检测的液相条件为 Hypersil Gold C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 柱温 30 ℃; 流动相甲醇 (A)-水 (B), 梯度洗脱: 0~6 min, 25%~80% A, 6~7 min, 80%~95% A, 7~8 min, 95%~100% A, 8~9 min, 100% A; 体积流量 0.3 mL/min。质谱条件为电喷雾离子源; Targeted-SIM 正、负同时分时间段扫描; 扫描范围: *m/z* 200~700 (正)、200~500 (负); 分辨率 17 500; 毛细管温度 300 ℃; 喷雾电压 4.0 kV、-3.5 kV; 鞘气流量 35 L/h; S-lens 电压 50 V。**结果** 定量检测的 10 种化合物均获得令人满意的线性, *r*² 均大于 0.995, 其中正离子模式扫描得苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、党参炔苷含量分别为 2.52、0.11、0.46、1.75、5.8 μg/mL, 负离子模式扫描得大黄素、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚含量分别为 0.35、2.52、0.98、6.65、2.71 μg/mL。**结论** 所建立的液相色谱-质谱检测方法快速、检测限低, 可为附子理中汤的质量控制及相关化合物的定量分析提供方法学依据。

关键词: 附子理中汤; 超高效液相色谱-四级杆轨道阱质谱; 定量分析; 大黄素; 甘草苷; 甘草素

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)07-1839-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.019

UHPLC-Q-Exactive-Obitriap MS for quantification of ten components in Fuzi Lizhong Decoction

YANG Yang¹, XIN Yang^{1,2,*}, MA Feng-yan¹, WANG Zhe¹, XU Lei¹, ZHANG Wei-guang¹, MA Shu-wei³

1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

2. Heilongjiang Key Laboratory of Catalytic Synthesis for Fine Chemicals, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

3. School of Chinese Materia Medica, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

Abstract: Objective To establish a method for quantifying ten components in Fuzi Lizhong Decoction (FLD). **Methods** Ultra high performance liquid chromatography-Q-Exactive Obitriap mass spectrometry was used to detect components under optimized conditions as follows: Hypersil Gold C₁₈ column (50 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), column temperature: 30 ℃, mobile phase: methanol (A)-water (B), gradient elution conditions: 0—6 min, 25%—80% A, 6—7 min, 80%—95% A, 7—8 min, 95%—100% A, 8—9 min, 100% A, flow rate: 0.3 mL/min; Ion source: electrospray, scan mode: full scan (positive, negative), scan range: *m/z* 200—700 (positive), 200—500 (negative), resolution: 17 500, capillary temperature: 300 ℃, spray voltage: +4.0 kV, -3.5 kV, sheath gas flow rate: 35 L/h, S-lens voltage: 50 V. **Results** Satisfactory linearity with correlation coefficient (*r*²) higher than 0.995 was achieved for each compound. The content of benzoyl aconitine, benzoylmesaconine, atractylenolide I, atractylenolide II and lobetyolin scanned under positive mode in FLD was 2.52, 0.11, 0.46, 1.75 and 5.8 μg/mL respectively, and that of emodin, glycyrrhizin, liguiritigenin, 8-gingerol, 10-gingerol scanned under negative mode in FLD was 0.35, 2.52, 0.98, 6.65 and 2.71 μg/mL, respectively. **Conclusion**

收稿日期: 2019-10-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81403067); 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目 (135209306); 浙江省教育厅项目 (Y201534599); 浙江医药高等专科学校校级重点课题资助项目 (ZPCSR2015015)

作者简介: 杨 阳 (1988—), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 研究方向为物理化学。E-mail: babyang2010@126.com

***通信作者** 辛 杨 (1983—), 女, 黑龙江人, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中药复方药效物质基础研究。

Tel: (0452)2738217 E-mail: cc.xinyang@163.com

The developed liquid chromatography-mass spectrometry method was fast with low limit of detection, which could provide methodological basis for quality control of FLD as well as quantification of these compounds.

Key words: Fuzi Lizhong Decoction; UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; quantitative analysis; emodin; glycyrrhizin; liguiritigenin

附子理中汤出自《三因极-病证方论》卷二^[1], 由制附子、人参、干姜(炮)、白术、甘草(炙)组成, 功效补虚回阳、温中散寒, 主要用于胃肠疾病的治^[2-4]。由于党参和人参功效相近^[5], 且不及人参昂贵, 因此现代补益方药中多以党参替代人参, 本研究中附子理中汤即以党参替代人参。本研究前期动物实验结果表明, 所制备的附子理中汤具有治疗利血平型胃溃疡的作用^[6], 因此有望开发具有抗胃溃疡作用的附子理中汤成方制剂。鉴于方剂质量是疗效稳定的保证, 质量又源于药效成分的含量, 因此, 有必要建立附子理中汤化学成分的定量分析方法, 以用于其成方制剂的质量控制。目前尚未见关于附子理中汤中多成分同时定量检测的报道, 仅见其相似方剂——附子理中丸中个别化学成分的含量测定^[7-8], 考虑到中药复方发挥药效依靠多成分的协同作用, 仅测定个别成分的含量对于复方质量控制意义不大, 因此建立复方中多种药效成分的含量测定方法, 对于复方质量控制具有一定的指导意义。因此, 本研究拟选取附子理中汤各组方药材中的主要药效成分(文献报道各组方药材中含量较高、药效作用明显, 特别是在抗炎、抗溃疡方面具有一定疗效的化学成分)作为定量目标^[9-15], 建立一种快速定量测定的分析方法, 为后续其成方制剂质量控制标准的制定提供方法学依据。

高效液相色谱法是中药化学成分定量检测应用较多的方法^[16], 可同时实现多成分的含量测定^[17], 但其较高的检测限, 使中药中一些微量组分的检出受到限制, 而质谱高灵敏度的特点恰好可以解决这样的问题, 因此超高效液相色谱-质谱联用(UHPLC-MS)技术已成为分析中药化学成分的主要手段^[18-20]。特异性强、灵敏度高可以在几分钟内完成多种成分的定量检测, 已广泛应用于食品^[21]、药品行业检测中^[22-24]。因此, 本研究采用与三重四级杆质谱定量效果相当且检测质量精度与分辨率远远优于飞行时间质谱的 Q-Exactive-Orbitrap MS 对附子理中汤中 10 种化学成分实现了含量测定。

1 仪器与试剂

Dionex UltiMate 3000 UHPLC/Q-Exactive-Orbitrap MS 液相色谱-质谱联用仪(Thermo Fisher,

美国), Milli-Q 超纯水仪(Millipore, 美国)。无水乙醇(分析纯, 北京化工厂)、甲醇(色谱纯, Aladdin)、去离子水(自制)。对照品苯甲酰乌头原碱(批号 111794-201705)、苯甲酰新乌头原碱(批号 111795-201604)、白术内酯 I(批号 111975-201501)、白术内酯 II(批号 111976-201501)、白术内酯 III(批号 111978-201501)、党参炔苷(批号 111732-201607)、甘草苷(批号 111610-201607)、8-姜酚(批号 111993-201601)、10-姜酚(批号 111994-201501)、大黄素(批号 110756-201512)购于中国食品药品检定研究院, 质量分数均大于 98%; 甘草素(批号 113288, 北京世纪奥科生物科技有限公司), 质量分数大于 98%。

制附子(黑顺片, 批号 401234024、501232075、601236042)、炮姜(批号 400072194、500042187、600062169)、白术(批号 401004446、501003587、601002146)、炙甘草(批号 401135008、501146112、601134012)、党参(批号 401004745、501003842、601005626), 购于黑龙江省齐泰医药股份有限公司, 以上药材由齐齐哈尔大学辛杨副教授分别鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根加工品, 姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎的炮制加工品, 菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的炮制加工品, 桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 附子理中汤溶液的制备 按《三因极-病证方论》卷二中原方配比称取制附子(黑顺片) 1 g、党参 1 g、干姜(炮) 1 g、白术 1 g、甘草(炙) 1 g, 置于圆底烧瓶中, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 使药材充分润湿, 回流提取 2 次, 第 1 次 30 min, 第 2 次 20 min, 合并 2 次提取液, 在 70 °C 蒸干, 用无水乙醇超声溶解, 将溶液定容至 10 mL 量瓶中。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取苯甲酰乌头原碱 1.6 mg、苯甲酰新乌头原碱 1.6 mg、白术内酯 I 0.9 mg、白术内酯 II 1.2 mg、党参炔苷 1.3 mg、甘草苷 1.6 mg、甘草素 1.2 mg、8-姜酚 2.0 mg、10-姜酚

2.2 mg、大黄素 2.5 mg, 加无水乙醇分别定容到 5 mL 量瓶中, 备用。分别吸取各对照品溶液 150 μ L 混合, 作为混合对照品溶液, 过 0.22 μ m 微孔滤膜后, 备用。

2.2 UHPLC-MS 检测条件优化

采集各化学成分对照品的质谱数据, 对各化学成分的质谱信号进行优化, 主要包括如下参数: 离子模式、喷雾电压 (2.5~5 kV, -4~-2 kV)、分辨率 (17 500、35 000、70 000); 在确定质谱最优检测条件的基础上, 对色谱条件进行优化, 主要包括如下参数: 流动相 (甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水); 柱温 (25、30 $^{\circ}$ C); 梯度洗脱条件。

优化质谱条件: 扫描模式: Target-SIM scan (正、负同时采集); 扫描范围 m/z 200~700 (正), 200~500 (负); 分辨率 17 500; 毛细管温度: 300 $^{\circ}$ C; 喷雾电压: 4.0 kV、-3.5 kV; 鞘气体积流量 35 L/h; S-lens 电压 50 V。

优化色谱条件: 色谱柱 Hypersil Gold (50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9 μ m); 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流动相为甲醇 (A)-水 (B); 梯度洗脱: 0~6 min, 25%~80% A, 6~7 min, 80%~95% A, 7~8 min, 95%~100% A, 8~9 min, 100% A; 体积流量 0.3 mL/min。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统性考察 取无水乙醇空白溶剂、混合对照品溶液, 分别用于液相色谱-质谱检测, 考察无水乙醇溶剂中是否存在干扰 10 种化学成分的色谱峰。

2.3.2 线性关系考察 将制备的混合对照品溶液逐级稀释 2、5、10、20、50、100、200、500、1 000 倍, 配制成 9 个浓度梯度的混合对照品溶液, 按“2.2”项下条件检测, 获得各对照品的 Target-SIM 提取离子流色谱图, 以各对照品浓度为横坐标 (X), 峰面积值为纵坐标 (Y), 计算线性回归方程, 以 $r^2 > 0.995$ 作为线性关系良好的考察依据。

2.3.3 精密度试验 取同一份稀释 20 倍的混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 2 μ L, 计算 6 次进样中各对照品的 Target-SIM 提取离子流色谱图峰面积值的 RSD 值, 以 $RSD \leq 3\%$ 作为精密度考察良好的依据。

2.3.4 稳定性试验 取同一批附子理中汤样品溶液 1 份, 分别于 0、8、16、24、48 h 进样检测, 每次进样 2 μ L, 计算 5 次进样中各对照品的 Target-SIM 提取离子流色谱图峰面积值的 RSD 值, 以 $RSD \leq 3\%$ 作为稳定性考察良好的依据。

2.3.5 重复性试验 平行制备 6 份同一批次附子理

中汤样品溶液, 分别进样 2 μ L, 计算 6 份样品中各成分质量分数的 RSD 值, 以 $RSD \leq 3\%$ 作为重复性考察良好的依据。

2.3.6 加样回收率试验 取 3 批稀释 2 倍的附子理中汤溶液 40 μ L 各 2 份 (供试液 1), 加入 40 μ L 稀释 100 倍的混合对照品溶液 (供试液 2) 得供试液 3, 分别进样 2 μ L, 据相应标准曲线计算各化合物的质量浓度分别为 C_1 、 C_2 和 C_3 , 以 $(C_3 - C_1)/C_2$ 计算回收率, 同时计算回收率的 RSD 值。回收率在 98%~102% 内为合格。

2.3.7 检测限 (LOD) 与定量下限 (LLOQ) 本实验采用比较直观的方法确定各被测成分的 LOD 与 LLOQ, 即在标准曲线低浓度点附近添加一系列已知成分含量的 2 份样品进行检测, 选取分析物峰附近的一段基线为参照, 计算选定色谱峰的信噪比 (S/N), 分别以 $S/N \geq 3$ 与 $S/N \geq 10$ 时的样品浓度为 LOD 与 LLOQ。

2.4 样品测定

取各药材制备 3 个批次附子理中汤 (S1~S3) 样品溶液, 每批次 2 份, 按优化的检测条件测定, 计算各成分的质量分数及 RSD 值。

3 结果与分析

3.1 方法学考察结果

3.1.1 系统性评价 将乙醇空白溶剂的提取离子色谱 (谱图略) 与混合对照品溶液提取离子色谱图 (图 1) 对比, 可以看出, 在 t -SIM 检测模式下, 乙醇溶剂对目标化合物的含量测定无干扰。各化合物色谱-质谱数据见表 1。

3.1.2 线性关系 得到 10 种化合物的标准曲线见表 2。

3.1.3 精密度试验 所制备对照品溶液按“2.2”项下条件检测, 计算苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚的峰面积, 结果其 RSD 分别为 2.18%、2.18%、1.56%、2.42%、1.94%、1.81%、0.08%、2.46%、2.88%、2.96%, 表明仪器精密度良好。

3.1.4 稳定性试验 所制备样品溶液按“2.2”项下条件检测, 计算苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚峰面积的 RSD 分别为 1.80%、1.63%、1.33%、2.82%、0.43%、2.34%、1.83%、1.99%、0.55%、2.58%, 表明化合物 48 h

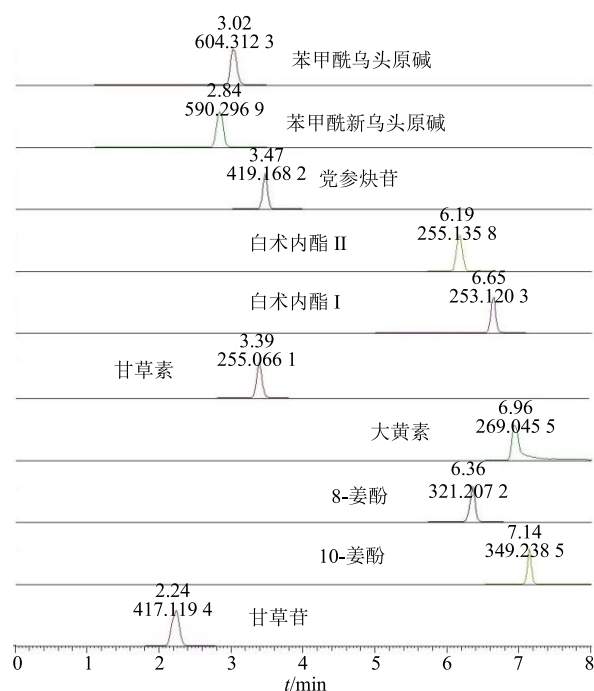


图1 混合对照品溶液提取离子基峰色谱图

Fig. 1 Extract ion chromatogram of mixed standard solution

内稳定性良好。

3.1.5 重复性试验 所制备样品溶液按“2.2”项下条件检测, 苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚峰面积的 RSD 分别为 1.75%、0.99%、2.88%、2.82%、1.68%、2.75%、1.52%、2.47%、1.72%、2.89%, 结果表明实验重复性良好。

3.1.6 加样回收率试验 所制备样品溶液按 2.2 项下条件检测, 按 2.3.6 项下方法计算苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚的加样回收率分别为 99.64%、99.66%、100.20%、101.80%、99.73%、99.33%、99.64%、98.67%、98.98%、101.10%, RSD 分别为 1.02%、0.75%、1.35%、2.33%、1.26%、1.95%、1.12%、2.21%、1.44%、2.02%, 均在可接受范围内, 表明 10 种化合物回收率合格。

以上方法学考察结果表明, 所建立的样品制备方法、液相色谱-质谱检测方法可用于附子理中汤溶

表1 10种化合物色谱-质谱数据

Table 1 Chromatography-mass spectrometry data of ten compounds

编号	化合物名称	m/z		离子模式	t_R/min
		理论值	测定值		
1	苯甲酰乌头原碱	604.311 6	604.310 1	$[M+H]^+$	3.06
2	苯甲酰新乌头原碱	590.295 9	590.297 7	$[M+H]^+$	2.89
3	白术内酯 I	253.119 0	231.137 6	$[M+Na]^+$	6.66
4	白术内酯 II	255.135 6	233.153 3	$[M+Na]^+$	6.19
5	党参炔苷	419.167 3	419.167 2	$[M+H]^+$	3.51
6	甘草苷	417.119 1	417.119 8	$[M-H]^-$	2.27
7	甘草素	255.066 2	255.066 2	$[M-H]^-$	3.41
8	8-姜酚	321.207 1	321.207 0	$[M-H]^-$	6.38
9	10-姜酚	349.238 5	349.238 9	$[M-H]^-$	7.15
10	大黄素	269.045 5	269.045 6	$[M-H]^-$	6.96

表2 10种化合物线性关系考察结果

Table 2 Linear relationship of ten compounds

编号	化合物名称	线性方程	线性范围/ $(\mu g \cdot mL^{-1})$	r^2
1	苯甲酰乌头原碱	$Y=6.205\ 19 \times 10^7 X+6.512\ 13 \times 10^6$	0.027~ 5.340	0.995 1
2	苯甲酰新乌头原碱	$Y=1.001\ 53 \times 10^8 X+1.212\ 14 \times 10^7$	0.027~ 5.340	0.997 5
3	白术内酯 I	$Y=4.071\ 46 \times 10^6 X-1.149\ 95 \times 10^5$	0.075~ 3.000	0.999 7
4	白术内酯 II	$Y=4.293\ 73 \times 10^6 X-1.190\ 84 \times 10^5$	0.100~ 4.000	0.999 8
5	党参炔苷	$Y=5.417\ 99 \times 10^6 X+1.187\ 75 \times 10^7$	0.108~ 4.340	0.999 7
6	甘草苷	$Y=3.460\ 64 \times 10^7 X+3.047\ 90 \times 10^6$	0.027~ 5.340	0.997 0
7	甘草素	$Y=5.123\ 84 \times 10^7 X+3.278\ 66 \times 10^6$	0.020~ 4.000	0.996 0
8	8-姜酚	$Y=2.917\ 14 \times 10^5 X+1.720\ 84 \times 10^4$	0.033~ 6.600	0.997 8
9	10-姜酚	$Y=4.168\ 22 \times 10^5 X-5.413\ 57 \times 10^3$	0.073~ 18.350	0.998 9
10	大黄素	$Y=4.052\ 39 \times 10^7 X+1.477\ 16 \times 10^7$	0.042~ 8.340	0.997 0

液中 10 种化学成分的含量测定。

3.1.7 LOD 与 LLOQ 当 $S/N \geq 3$ 时, 苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚的 LOD 分别为 0.002 7、0.002 7、0.033 0、0.050 0、0.002 1、0.002 2、0.002 7、0.002 0、0.017 0、0.037 0 $\mu\text{g/mL}$ 。当 $S/N \geq 10$ 时, 苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚的 LLOQ 分别为 0.027、0.027、0.075、0.100、0.042、0.110、0.027、0.020、0.033、0.073 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.2 样品测定结果

采用所建立定量方法对附子理中汤中 10 种化学成分进行含量测定, 各成分提取离子基峰色谱图见图 2, 通过图 2 可以看出, 复方中各成分保留时间及 m/z 值均与其在图 1 中相应值基本一致, 可以确定为 10 种化合物。定量结果显示苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、白术内酯 I、白术内酯 II、大黄素、党参炔苷、甘草苷、甘草素、8-姜酚、10-姜酚平均质量分数分别为 2.52、0.11、0.46、1.75、0.35、5.80、2.52、0.98、6.65、2.71 $\mu\text{g/mL}$, RSD 值分别为 1.19%、1.91%、2.70%、1.79%、1.56%、1.64%、1.19%、2.15%、1.85%、2.68%。

4 讨论

本研究采用液质联用技术对中药复方附子理中汤中 10 种化学成分进行了定量检测, 方法学考察结果表明, 所建立方法精密度、稳定性良好、回收率合格, 可以为附子理中汤的质量控制提供参考。所测化合物具有不同的结构母核, 分属不同的中药化学成分类型, 如苯甲酰乌头原碱与苯甲酰新乌头原碱为生物碱类, 白术内酯 I 与白术内酯 II 属于内酯类化合物, 大黄素属于蒽醌类化合物, 甘草苷与甘草素属于黄酮类化合物, 8-姜酚与 10-姜酚属于挥发油类, 可见, 所建立的方法对含有这几种结构母核的化合物检测具有普遍的适用性, 同时, 可用于含有其中一种或几种成分的中药及其复方的质量控制研究。

附子理中汤是治疗胃肠道疾病的经典方剂, 目前有关附子理中汤的研究多是涉及其药理作用、临床疗效, 而有关其质量控制的研究未见报道。为保证附子理中汤的疗效, 有必要制定其质量控制标准, 因此本研究在前期实验证实附子理中汤具有治疗胃溃疡作用的基础上, 采用超高效液相色谱-四级杆联

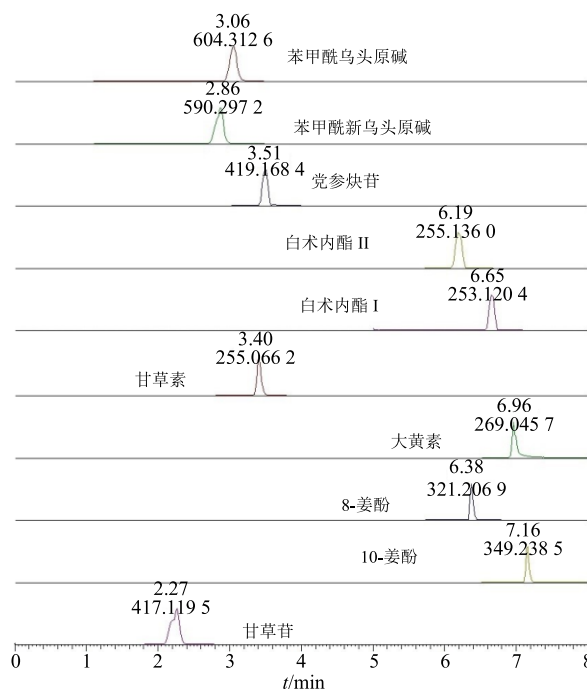


图 2 附子理中汤溶液提取离子基峰色谱图

Fig. 2 Extract ion chromatogram of FLD

道离子阱质谱对其 10 种化学成分进行检测, 一次进样仅需 8 min, 检测方法灵敏、快速, 稳定性好, 可为附子理中汤更多化学成分的含量测定提供方法学依据, 为制定附子理中汤质量控制方法提供实验依据。

参考文献

- [1] 宋·陈无择著, 候如艳校注. 三因极·病证方论 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011.
- [2] 武志娟, 李建华, 郭海萍, 等. 附子理中汤对腹泻型肠易激大鼠模型免疫调节机制的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(12): 2921-2924.
- [3] 谭玮璐, 武志娟, 张大鹏, 等. 附子理中汤对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠黏膜 NALP-3 炎性体等免疫指标的调节作用 [J]. 中药材, 2018, 41(4): 970-974.
- [4] 闫岩. 附子理中汤加减联合化疗治疗晚期脾胃虚寒型胃癌疗效分析 [J]. 北方药学, 2018, 15(5): 70-71.
- [5] 高学敏. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [6] Xin Y, Wang H J. Serum metabolomics analysis of Fuzi Lizhong Decoction for the treatment of splenasthenic [J]. Chromatographia, 2017, 80(7): 1047-1059.
- [7] 张丰梅, 何轶, 李耀磊, 等. 高效液相色谱与 QDA 质谱联用同时测定附子理中丸中 6 个单酯及双酯型生物碱含量 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(7): 1248-1253.
- [8] 方东伟, 彭佳庆. HPLC 法同时测定附子理中丸 (浓缩丸) 中甘草苷和甘草酸的含量 [J]. 中国药房, 2017,

- 28(36): 5147-5149.
- [9] Wang K T, Chen L G, Wu C H, *et al.* Gastroprotective activity of atractylenolide III from *Atractylodes ovata* on ethanol-induced gastric ulcer *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2010, 62(3): 381-388.
- [10] Dugasani S, Pichika M R, Nadarajah D V, *et al.* Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(2): 515-520.
- [11] Chung J G, Wang H H, Wu L T, *et al.* Inhibitory actions of emodin on arylamine *N*-acetyltransferase activity in strains of *Helicobacter pylori* from peptic ulcer patients [J]. *Food Chem Toxicol*, 1997, 35(10/11): 1001-1007.
- [12] 宋 丹, 王峥涛, 李隆云, 等. 党参炔苄对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤保护作用的研究 [J]. 中国中医急症, 2018, 17(7): 963-964.
- [13] Messier C, Epifano F, Genovese S, *et al.* Licorice and its potential beneficial effects in common oro-dental diseases [J]. *Oral Dis*, 2012, 18(1): 32-39.
- [14] Repetto G M, Llesuy S F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers [J]. *Brazilian J Med Biol Res*, 2002, 35(5): 523-534.
- [15] Verma S, Ojha S, Raish M. Anti-inflammatory activity of *Aconitum heterophyllum* on cotton pellet-induced granuloma in rats [J]. *J Med Plants Res*, 2010, 4(15): 1566-1569.
- [16] 谢 东, 高效液相色谱法测定神女乐洗液中苦参碱的含量 [J]. 医学文选, 2000, 19(4): 465-466.
- [17] 杨立伟, 郑传奇, 蒋忠军, 等. 超高效液相色谱法测定西洋参中人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 的含量 [J]. 中药材, 2008, 31(1): 55-57.
- [18] Xu L, Mu L H, Peng J, *et al.* UPLC-Q-TOF-MSE analysis of the constituents of Ding-Zhi-Xiao-Wan, a traditional Chinese antidepressant, in normal and depressive rats [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1026(7): 36-42.
- [19] Chen L W, Wang Q, Qin K M, *et al.* Chemical profiling of Qixue Shuangbu Tincture by ultra-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole-time-of-flight high-definition mass spectrometry (UPLC-QTOF/MS) [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(2): 141-146.
- [20] Lin H Y, Lin T S, Chien H J, *et al.* A rapid, simple, and high-throughput UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of bioactive constituents in *Salvia miltiorrhiza* with positive/negative ionization switching [J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2018, 161(11): 94-100.
- [21] Chen H P, Gao G W, Liu P X, *et al.* Development and validation of an ultra performance liquid chromatography Q-Exactive Orbitrap mass spectrometry for the determination of fipronil and its metabolites in tea and chrysanthemum [J]. *Food Chem*, 2018, 246(4): 328-334.
- [22] Qi H W, Feng F, Zhai J F, *et al.* Development of an analytical method for twelve dioscorea saponins using liquid chromatography coupled to Q-exactive high resolution mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2019, 191(1): 11-20.
- [23] Abdallah M A E, Nguyen K H, Ebele A J, *et al.* A single run, rapid polarity switching method for determination of 30 pharmaceuticals and personal care products in waste water using Q-Exactive Orbitrap high resolution accurate mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1588(1): 68-76.
- [24] Yang Z L, Li H, Wang B, *et al.* An optimized method for neurotransmitters and their metabolites analysis in mouse hypothalamus by high performance liquid chromatography-Q exactive hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution accurate mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1012-1013(2): 79-88.