

液质联用法同时测定加味左金丸中 13 种有效成分

陈会朋¹, 王 银¹, 陈香玲², 丘春晖², 余惠旻^{3*}, 张广路⁴

1. 北京中医药大学深圳医院(龙岗), 广东 深圳 518116

2. 广东省深圳市中医院, 广东 深圳 518033

3. 深圳大学医学院, 广东 深圳 518060

4. 深圳市第二人民医院, 广东 深圳 518000

摘要: 目的 建立了 HPLC-ESI-MS/MS 法同时测定加味左金丸中阿魏酸、木香烃内酯、黄芩苷、芍药苷、延胡索乙素、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、吴茱萸碱、柚皮苷、橙皮苷、柴胡皂苷 a 与柴胡皂苷 d 13 种有效成分的分析方法。方法 HPLC 采用色谱柱 Thermo Synchronis C₁₈ 柱 (100 mm×4.6 mm, 3.0 μm), 流动相为甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.35 mL/min, 进样量 10 μL; 质谱采用电喷雾离子源、正负离子模式同时采集, 通过多反应监测 (MRM) 同时对加味左金丸中的 13 种有效成分进行定量分析。结果 加味左金丸中 13 种有效成分阿魏酸、木香烃内酯、黄芩苷、芍药苷、延胡索乙素、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、吴茱萸碱、柚皮苷、橙皮苷、柴胡皂苷 a 与柴胡皂苷 d 的线性范围分别为 2~80 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、0.5~20.0 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、3.5~140.0 μg/mL ($r=0.999\ 8$)、1~40 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、0.3~12.0 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、1~40 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、3~120 μg/mL ($r=0.999\ 7$)、2.5~100.0 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、0.5~20.0 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、0.5~20.0 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、1~40 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、0.3~12.0 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、0.3~12.0 μg/mL ($r=0.999\ 2$), 平均加样回收率分别为 99.5%、98.9%、100.2%、99.2%、99.5%、99.7%、98.6%、99.9%、101.3%、98.7%、99.8%、97.9%、101.3%, RSD 值分别为 4.11%、4.88%、1.08%、3.23%、4.13%、3.23%、2.78%、3.12%、4.53%、3.43%、3.58%、5.22%、5.13%。12 批加味左金丸样品中 13 种有效成分的质量分数分别为 0.324~0.383、0.051~0.072、3.225~3.466、0.154~0.198、0.015~0.062、0.144~0.199、2.145~2.982、0.441~0.953、0.032~0.099、0.062~0.089、0.111~0.178、0.012~0.065、0.011~0.069 mg/g。结论 所建立的分析方法快速、高效、灵敏度高、专属性好, 可应用于加味左金丸的质量控制。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱; 加味左金丸; 黄芩苷; 芍药苷; 阿魏酸; 柚皮苷; 橙皮苷; 木香烃内酯; 延胡索乙素; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 小檗碱; 巴马汀

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)14-3693-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.14.012

Simultaneous determination of 13 bioactive components in Jiawei Zuojin Pill by HPLC-MS/MS

CHEN Hui-peng¹, WANG Yin¹, CHEN Xiang-ling², QIU Chun-hui², YU Hui-min³, ZHANG Guang-lu⁴

1. Beijing University of Chinese Medicine Shenzhen Hospital (Longgang), Shenzhen 518116, China

2. Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518033, China

3. Shenzhen University Medical School, Shenzhen 518060, China

4. Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518000, 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 13 major bioactive components (ferulic acid, costunolide, baicalin, paeoniflorin, tetrahydropalmatine, rutecarpine, berberine, palmatine, evodiamine, naringin, hesperidin, saikosaponin a, and saikosaponin d) in Jiawei Zuojin Pills (JZP). **Methods** The chromatographic separation was

收稿日期: 2020-02-17

基金项目: 深圳市知识创新基础研究(自由探索)(JCYJ20170818094033689); 深圳市战略新兴产业发展专项资金(JCYJ20130326112248968); 深圳大学聚徒+创研项目(2019 延续)

作者简介: 陈会朋(1988—), 男, 主管中药师, 研究方向为中药复方研究。Tel: 13410898605 E-mail: 372677278@qq.com

*通信作者 余惠旻, 男, 博士, 副研究员, 主要从事中药及其复方与幽门螺杆菌的研究。E-mail: yuhuimin@szu.edu.cn

performed on a Thermo Synchronis C₁₈ column (100 mm × 4.6 mm, 3.0 μm) with a gradient elution of methanol and 0.02 mol/L ammonium acetate in water at a flow rate of 0.35 mL/min, and the injection volume was 10 μL. The 13 major bioactive components were detected using an electrospray ionization source in ESI⁺ and ESI⁻ ionization mode, quantified by multiple reaction monitor (MRM) scanning at the same time. **Results** The linear ranges of ferulic acid, costunolide, baicalin, paeoniflorin, tetrahydropalmatine, rutecarpine, berberine, palmatine, evodiamine, naringin, hesperidin, saikosaponin a and saikosaponin d were 2—80 μg/mL ($r = 0.999\ 2$), 0.5—20.0 μg/mL ($r = 0.999\ 1$), 3.5—140.0 μg/mL ($r = 0.999\ 8$), 1—40 μg/mL ($r = 0.999\ 2$), 0.3—12.0 μg/mL ($r = 0.999\ 1$), 1—40 μg/mL ($r = 0.999\ 2$), 3—120 μg/mL ($r = 0.999\ 7$), 2.5—100.0 μg/mL ($r = 0.999\ 5$), 0.5—20.0 μg/mL ($r = 0.999\ 3$), 0.5—20.0 μg/mL ($r = 0.999\ 1$), 1—40 μg/mL ($r = 0.999\ 1$), 0.3—12.0 μg/mL ($r = 0.999\ 2$), 0.3—12.0 μg/mL ($r = 0.999\ 2$), and the average recoveries were 99.5% (RSD = 4.11%), 98.9% (RSD = 4.88%), 100.2% (RSD = 1.08%), 99.2% (RSD = 3.23%), 99.5% (RSD = 4.13%), 99.7% (RSD = 3.23%), 98.6% (RSD = 2.78%), 99.9% (RSD = 3.12%), 101.3% (RSD = 4.53%), 98.7% (RSD = 3.43%), 99.8% (RSD = 3.58%), 97.9% (RSD = 5.22%), and 101.3% (RSD = 5.13%), respectively. The contents of 12 batches of the 13 major bioactive components were 0.324—0.383, 0.051—0.072, 3.225—3.466, 0.154—0.198, 0.015—0.062, 0.144—0.199, 2.145—2.982, 0.441—0.953, 0.032—0.099, 0.062—0.089, 0.111—0.178, 0.012—0.065, 0.011—0.069 mg/g, respectively. **Conclusion** The developed method is simple, specific, and sensitive, and it can be applied for the determination of 13 major bioactive components and the quality control of JZP.

Key words: HPLC-MS/MS; Jiawei Zuojin Pill; baicalin; paeoniflorin; ferulic acid; naringin; hesperidin; costunolide; tetrahydropalmatine; evodiamine; rutecarpine; saikosaponin a; saikosaponin d; berberine; palmatine

加味左金丸 (Jiawei Zuojin Pill, JZP) 由 14 味中药材组成, 包括姜黄连、制吴茱萸、黄芩、柴胡、木香、醋香附、郁金、白芍、醋青皮、麸炒枳壳、陈皮、醋延胡索、当归和甘草, 方中黄连、吴茱萸两味为君药, 黄连清热泻火、降逆止呕, 吴茱萸辛温, 开郁散结、下气降逆, 2 药相伍有清泻肝火, 降逆止呕的作用。柴胡、延胡索、木香、香附、枳壳、郁金、陈皮、青皮疏肝和胃、理气止痛, 8 味均为行气理气之品, 共为臣药。黄芩苦寒清热, 白芍、当归两者入血分, 养血柔肝, 且可防止辛苦之品的伤阴耗津, 共为佐药。甘草调和诸药, 为使药。诸药合用, 具有平肝降逆、疏郁止痛之功。用于治疗肝郁化火、肝胃不和引起的胸脘痞闷、急躁易怒、嗳气吞酸、胃痛少食^[1]。临床上单独使用该药可以治疗慢性浅表性胃炎^[2-3]、反流性食管炎^[4-5]与慢性结肠炎^[6], 同时可以与中药、化学药联用治疗胃溃疡^[7-8]与胃食管反流病^[9]。此外, 药理实验表明, JZP 可以抑制肿瘤的生长^[10]。

目前, 中成药的质量控制一直是中药发展的一个难点, 刘昌孝院士^[11]提出了中药质量标志物 (Q-marker) 的概念, 客观评价中成药的质量是非常重要的^[12-16]。已有研究者采用薄层色谱法^[17-20]、高效液相色谱法^[21-22]、液质联用法^[23]等手段对 JZP 进行定量分析, 《中国药典》以盐酸小檗碱作为该中成药的指标成分^[1]。薄层色谱法的定量准确性远远低于高效液相色谱法和质谱法, 质谱法的定性功能和灵敏度优于高效液相色谱法, 本实验选择液质联用法进行定量分析。基于化学成分的药理作用, 确定

黄芩苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、橙皮苷、木香烯内酯、延胡索乙素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、小檗碱、巴马汀为指标成分, 建立了 HPLC-MS/MS 法同时测定 JZP 中 13 种指标成分的方法, 更加科学地控制 JZP 的质量。

1 仪器和材料

Shimadzu LC-30AD 超高效液相色谱仪, 配置 Triple Quad 5500 质谱仪, 美国 AB Sciex 公司; Sartorius SECURA225D-1CN 十万分之一天平, 德国赛多利斯公司; KQ400ES 超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司。

对照品阿魏酸 (批号 110773-201313, 质量分数 99.6%)、芍药苷 (批号 110736-201842, 质量分数 97.4%)、黄芩苷 (批号 110715-201821, 质量分数 95.4%)、木香烯内酯 (批号 111524-201710, 质量分数 99.5%)、延胡索乙素 (批号 110726-201819, 质量分数 99.8%)、吴茱萸次碱 (批号 110801-201608, 质量分数 99.7%)、盐酸小檗碱 (批号 110713-201814, 质量分数 86.7%)、盐酸巴马汀 (批号 110732-201812, 质量分数 97.6%)、吴茱萸碱 (批号 110802-201710, 质量分数 99.6%)、柚皮苷 (批号 110722-201815, 质量分数 91.7%)、橙皮苷 (批号 110721-201818, 质量分数 96.2%)、柴胡皂苷 a (批号 110777-201912, 质量分数 94.8%)、柴胡皂苷 d (批号 110778-201912, 质量分数以 96.3% 计) 购自中国食品药品检验研究院; 甲醇、乙腈, 色谱纯, 西格玛有限公司; 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。JZP 共 12 个批次, 北京同仁堂制药有限公司,

批号为 1705061、1705062、1705063、1903226；山东东方健制药有限公司，批号为 190102、190501、190903、191101；江苏青春康源制药有限公司，批号为 1900217、1900524、1900809、1901004；分别编号为 S1~S12。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Thermo Synchronis C₁₈ 柱 (100 mm×4.6 mm, 3.0 μm)；流动相为甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵水溶液，梯度洗脱程序：0~5 min, 5%甲醇；5~10 min, 5%~60%甲醇；10~14 min, 60%甲醇；14~15 min, 60%~5%甲醇；15~20 min, 5%甲醇；体积流量 0.35 mL/min；柱温 35 ℃；进样量 10 μL。

2.2 质谱条件

离子源为电喷雾离子源 (ESI)；正负离子模式同时测定；离子源喷雾电压 4.5 kV；离子源温度 500 ℃；喷雾气压力 413.685 kPa (60 psi)；辅助加热气压力 413.685 kPa (60 psi)；气帘气压力 206.843 kPa (30 psi)；碰撞气为氮气；扫描模式为多反应监测模式 (MRM)。具体参数见表 1，各成分的提取离子流色谱图见图 1。

2.3 混合对照品溶液的制备

精密称取阿魏酸、木香烃内酯、黄芩苷、芍药苷、延胡索乙素、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、吴茱萸碱、柚皮苷、橙皮苷、柴胡皂苷 a 与柴胡皂苷 d 对照品适量，分别置于量瓶中，加 50%甲醇溶

解并稀释至刻度，摇匀，制成各对照品储备液。精密量取上述各对照品储备液适量，加 50%甲醇稀释至刻度摇匀，即得含阿魏酸 10 μg/mL、木香烃内酯 5 μg/mL、黄芩苷 100 μg/mL、芍药苷 5 μg/mL、延胡索乙素 1 μg/mL、吴茱萸次碱 5 μg/mL、小檗碱 60 μg/mL、巴马汀 30 μg/mL、吴茱萸碱 2 μg/mL、柚皮苷 4 μg/mL、橙皮苷 5 μg/mL、柴胡皂苷 a 2 μg/mL 与柴胡皂苷 d 4 μg/mL 的混合对照品溶液。冰箱保存。

2.4 供试品溶液的制备

取本品适量，研细，取约 1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%甲醇 50 mL，称定质量，超声 30 min (功率 250 W，频率 40 kHz)，放冷，用 50%甲醇补足减失质量，摇匀，摇匀，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.5 检出限和定量限

精密量取“2.3”项下的混合对照品溶液，加 50%甲醇稀释至刻度摇匀，按“2.1”和“2.2”项下条件进样分析，记录色谱图，同时不断稀释已知质量浓度的对照品溶液，以信噪比为 3:1 和 10:1 分别计算检出限和定量限，结果见表 2。

2.6 线性关系的考察

将对照品储备液用 50%甲醇逐级稀释，配制不同质量浓度的混合对照品工作溶液，在“2.1”和“2.2”项下条件测定，以质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归。结果表明，13 种成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好，见表 2。

2.7 精密度试验

取批号为 1903226 的样品，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，连续进样 6 次，记录色谱图，测得各成分峰面积 RSD 分别为阿魏酸 2.11%、木香烃内酯 2.84%、黄芩苷 1.22%、芍药苷 2.66%、延胡索乙素 2.13%、吴茱萸次碱 2.36%、小檗碱 1.82%、巴马汀 1.95%、吴茱萸碱 3.15%、柚皮苷 3.27%、橙皮苷 3.13%、柴胡皂苷 a 3.58%、柴胡皂苷 d 3.29%，均小于 5%，表明本方法的精密度良好。

2.8 稳定性试验

取批号为 1903226 的样品，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，分别于 0、2、4、6、8、12 h 按“2.1”和“2.2”项下条件测定，记录色谱图，测得各成分峰面积 RSD 分别为阿魏酸 4.15%、木香烃内酯 3.82%、黄芩苷 4.35%、芍药苷 3.57%、延胡索乙

表 1 各成分质谱参数

Table 1 MS parameters of various constituents

成分	离子模式	离子对 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/V
阿魏酸	[M-H] ⁻	193.1/133.6	-50	-30
木香烃内酯	[M+H] ⁺	233.1/145.3	70	30
黄芩苷	[M+H] ⁺	447.2/271.0	115	20
芍药苷	[M+Na] ⁺	503.1/219.0	105	25
延胡索乙素	[M+H] ⁺	356.1/192.1	110	30
吴茱萸次碱	[M+H] ⁺	287.9/115.0	52	30
小檗碱	[M] ⁺	336.1/320.1	90	35
巴马汀	[M] ⁺	352.1/308.1	90	33
吴茱萸碱	[M+H] ⁺	304.1/134.0	105	26
柚皮苷	[M+H] ⁺	581.6/270.4	70	25
橙皮苷	[M-H] ⁻	609.2/301.2	-70	-40
柴胡皂苷 A	[M+Na] ⁺	803.0/203.0	100	78
柴胡皂苷 D	[M+Na] ⁺	803.0/203.1	100	78

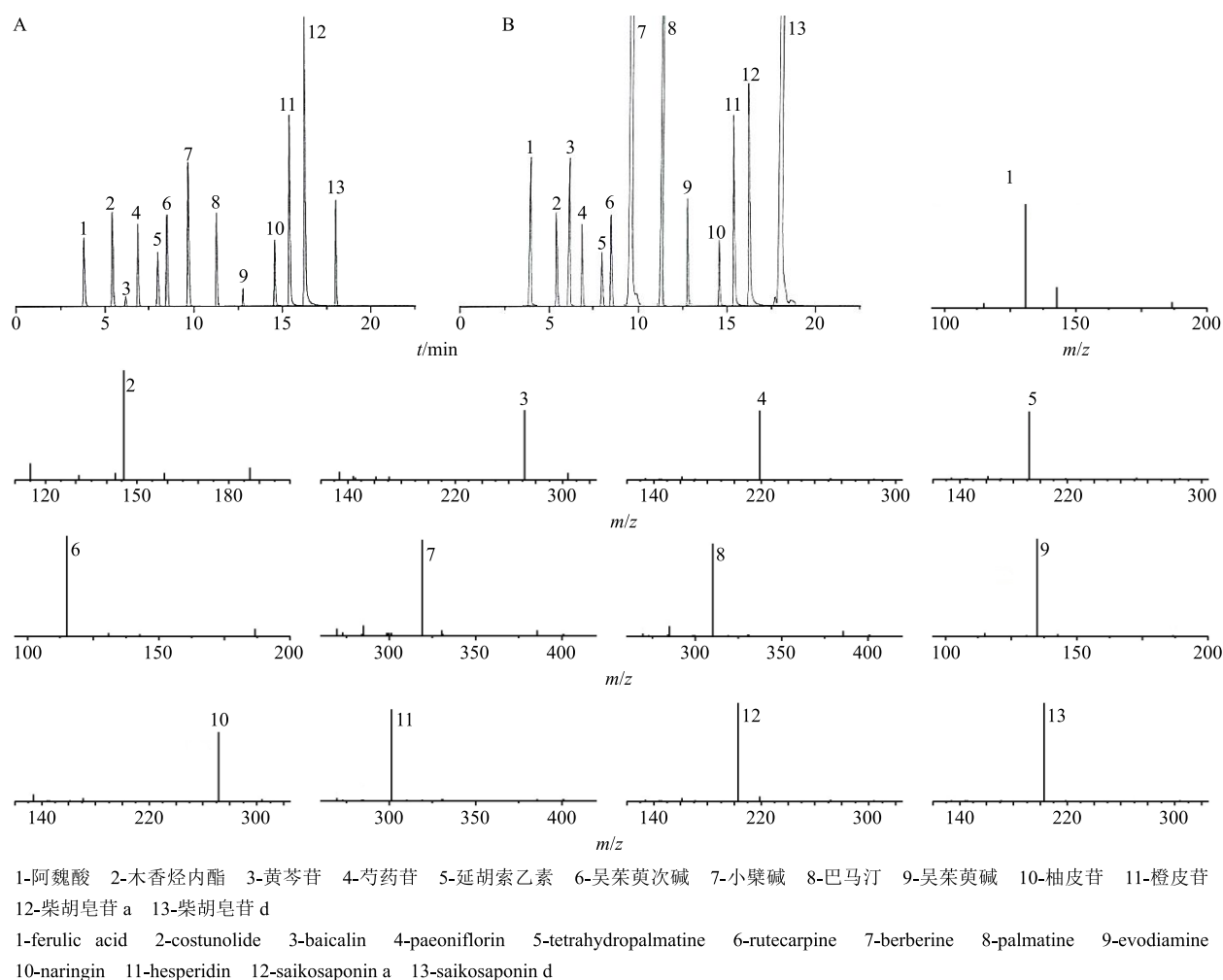


图 1 对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B) 的总离子流图和 13 种成分的二级质谱图

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

表 2 各成分线性关系、检测限和定量限

Table 2 Linear relationships, LODs, and LOQs of various constituents

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检出限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
阿魏酸	$Y=1\,122\,X-2\,341$	0.999 2	2~80	0.100	0.300
木香烯内酯	$Y=1\,452\,X+35.75$	0.999 1	0.5~20	0.020	0.040
黄芩苷	$Y=134.7\,X+5.745$	0.999 8	3.5~140	0.140	0.360
芍药苷	$Y=25.83\,X+4.735$	0.999 2	1~40	0.050	0.120
延胡索乙素	$Y=478.3\,X-24.38$	0.999 1	0.3~12	0.013	0.030
吴茱萸次碱	$Y=579.1\,X+267.3$	0.999 2	1~40	0.040	0.110
小檗碱	$Y=351.2\,X-269.1$	0.999 7	3~120	0.120	0.300
巴马汀	$Y=123.5\,X+13.77$	0.999 5	2.5~100	0.130	0.240
吴茱萸碱	$Y=346.8\,X-563.8$	0.999 3	0.5~20	0.024	0.060
柚皮苷	$Y=55.66\,X-3.793$	0.999 1	0.5~20	0.021	0.040
橙皮苷	$Y=67.12\,X-7.823$	0.999 1	1~40	0.030	0.090
柴胡皂苷 a	$Y=114.8\,X+7.245$	0.999 2	0.3~12	0.016	0.040
柴胡皂苷 d	$Y=163.7\,X+423.8$	0.999 2	0.3~12	0.020	0.050

素 4.66%、吴茱萸次碱 4.37%、小檗碱 2.69%、巴马汀 2.94%、吴茱萸碱 4.84%、柚皮苷 4.59%、橙皮苷 4.83%、柴胡皂苷 a 4.32%、柴胡皂苷 d 3.98%，均小于 5%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.9 重复性试验

取批号为 1903226 的样品，按“2.4”项下方法制备供试品溶液 6 份，按“2.1”和“2.2”项下条件测定，记录色谱图，测得各成分质量分数 RSD 分别为阿魏酸 3.67%、木香炔内酯 3.53%、黄芩苷 3.15%、芍药苷 2.97%、延胡索乙素 2.94%、吴茱萸次碱 4.13%、小檗碱 1.95%、巴马汀 1.75%、吴茱萸碱 4.37%、柚皮苷 4.83%、橙皮苷 4.98%、柴胡皂苷 a 4.64%、柴胡皂苷 d 5.04%，均小于 10%，表明本方法的重复性良好。

2.10 加样回收率试验

取已知含量的样品（批号 1903226）研细，取约 0.5 g，精密称定，精密称取 6 份，分别置锥形瓶中，分别加入低、中、高 3 种质量浓度的对照品储备溶液适量，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，进样测定，计算加样回收率，结果阿魏酸、木香炔内酯、黄芩苷、芍药苷、延胡索乙素、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、吴茱萸碱、柚皮苷、橙皮苷、柴胡皂苷 a 与柴胡皂苷 d 的平均加样回收率分别为 99.5%、98.9%、100.2%、99.2%、99.5%、99.7%、98.6%、99.9%、101.3%、98.7%、99.8%、97.9%、101.3%，RSD 值分别为 4.11%、4.88%、1.08%、

3.23%、4.13%、3.23%、2.78%、3.12%、4.53%、3.43%、3.58%、5.22%、5.13%。

2.11 样品含量测定

精密称取 12 个不同批次 JZP，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”和“2.2”项条件下进样测定，计算含量，结果见表 3。12 批 JZP 样品中的阿魏酸、木香炔内酯、黄芩苷、芍药苷、延胡索乙素、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、吴茱萸碱、柚皮苷、橙皮苷、柴胡皂苷 a 与柴胡皂苷 d 的质量分数分别为 0.324~0.383、0.051~0.072、3.225~3.466、0.154~0.198、0.015~0.062、0.144~0.199、2.145~2.982、0.441~0.953、0.032~0.099、0.062~0.089、0.111~0.178、0.012~0.065、0.011~0.069 mg/g。

2.12 统计学分析

应用 SIMCA 13.0 对测定结果进行统计学分析，并采用主成分分析法综合评价各批次药物的质量稳定性，同时筛选出对药物质量差异起主要影响的成分。经主成分分析后，得到样品批次的散点分布图和药物成分的载荷贡献图，分别见图 2、3。图 2 表明 12 批次 JZP 存在差异，分为 3 类，其中 S1~S4 为第 1 类；S5~S8 为第 2 类；S9~S12 为第 3 类。图 3 通过分析不同成分的载荷贡献图表明，小檗碱、巴马汀、阿魏酸、黄芩苷 4 种成分权重系数较大，表明其对药物质量差异具有重要影响，对以上 4 种化学成分的含量变化应当关注。

表 3 13 种有效成分的测定结果 ($n = 3$)

Table 3 Quantitative determination of 13 components ($n = 3$)

编号	质量浓度/(mg·g ⁻¹)												
	阿魏酸	木香炔 内酯	黄芩苷	芍药苷	延胡索 乙素	吴茱萸 次碱	小檗碱	巴马汀	吴茱萸碱	柚皮苷	橙皮苷	柴胡皂 苷 a	柴胡皂 苷 d
S1	0.324	0.051	3.225	0.154	0.022	0.144	2.912	0.953	0.035	0.082	0.139	0.028	0.045
S2	0.351	0.060	3.358	0.161	0.027	0.149	2.982	0.948	0.041	0.081	0.141	0.029	0.041
S3	0.366	0.052	3.346	0.159	0.018	0.151	2.946	0.922	0.033	0.089	0.139	0.031	0.040
S4	0.381	0.055	3.357	0.168	0.015	0.147	2.841	0.920	0.032	0.073	0.154	0.030	0.051
S5	0.363	0.051	3.321	0.169	0.029	0.166	2.153	0.511	0.059	0.089	0.123	0.061	0.062
S6	0.371	0.061	3.361	0.178	0.028	0.159	2.162	0.555	0.070	0.079	0.111	0.065	0.068
S7	0.383	0.053	3.466	0.167	0.034	0.168	2.145	0.541	0.067	0.082	0.121	0.062	0.069
S8	0.369	0.052	3.458	0.175	0.032	0.172	2.148	0.549	0.063	0.081	0.122	0.064	0.061
S9	0.356	0.051	3.351	0.197	0.056	0.199	2.533	0.451	0.098	0.070	0.171	0.016	0.012
S10	0.371	0.058	3.349	0.198	0.054	0.192	2.526	0.441	0.099	0.068	0.173	0.012	0.016
S11	0.383	0.062	3.364	0.188	0.062	0.188	2.536	0.443	0.086	0.064	0.178	0.013	0.014
S12	0.364	0.072	3.348	0.186	0.053	0.189	2.542	0.453	0.084	0.062	0.176	0.017	0.011

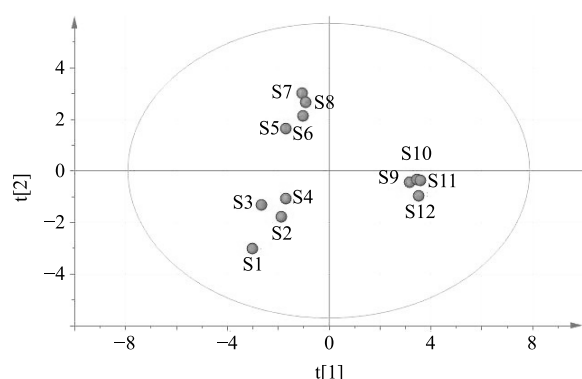
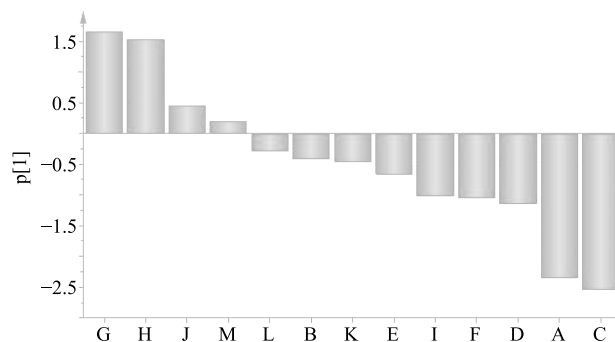


图2 12批药物的质量得分散点分布图

Fig. 2 Scatter plot of quality scores for 12 batches of drugs



A-阿魏酸 B-木香炔内酯 C-黄芩苷 D-芍药苷 E-延胡索乙素 F-吴茱萸次碱 G-小檗碱 H-巴马汀 I-吴茱萸碱 G-柚皮苷 K-橙皮苷 L-柴胡皂苷 a M-柴胡皂苷 d
A-ferulic acid B-costunolide C-baicalin D-paeoniflorin E-tetrahydropalmatine F-rutecarpine G-berberine H-palmatine I-evodiamine G-naringin K-hesperidin L-saikosaponin a M-saikosaponin d

图3 药物中各成分的载荷贡献图

Fig. 3 Loading plot of various constituents in drugs

3 讨论

3.1 提取方法的考察

本实验参照《中国药典》2015年版中JZP项下条件,分别考察了不同的提取溶剂,如水、甲醇及80%、50%、20%甲醇,考察了不同的超声时间,如10、20、30、40 min,实验结果表明,不同的提取溶剂会影响各种成分的含量,最终确定的“2.4”项下供试品溶液的制备方法为最优方法。

3.2 色谱条件与质谱条件的考察

由于液质联用体系对流动相的要求,只能选择挥发性的盐溶液,分别考察了甲酸水溶液、乙酸水溶液、乙酸铵水溶液,甲酸铵水溶液,乙酸铵水溶液体系加梯度洗脱不仅有利于多种成分的分离,同时各成分的质谱响应也能达到检测的要求。同时,对于不同填料的色谱柱进行了筛选,如C₈、C₃₀、苯基、C₁₈填料,C₁₈填料能够兼顾各种不同极性化

合物的分离,最终确定了“2.1”项下色谱条件法为最优。在此基础上,优化了质谱的各项参数,不同的化合物在正负离子模式下的响应是有差异的,最终确定正负离子模式同时采集,其中阿魏酸与橙皮苷采用负离子模式,其他化合物采用正离子模式。

3.3 样品含量结果分析

从样品的测定结果分析,黄芩苷与小檗碱的含量比较高,柴胡皂苷a的含量最低,不同厂家的含量结果具有差异。其中JZP中的小檗碱与巴马汀含量存在显著差异,推测是由于样品使用的黄连不同,在《中国药典》2015年版中记载,黄连有3种来源,分别为味连、雅连、云连,它们中生物碱含量是有差异的。因此,中药材的质量会影响最终中成药的质量,建立多指标的成分测定方法是非常必要的。所以中成药质量的控制必须从源头抓起,在GAP阶段对中药材的产地和来源进行控制,进而保证最终的中成药的产品质量的一致性。此外,还需要从中药材的采收、炮制、贮藏等方面进行严格把控,保证中药材质量的一致性。中成药的质量会受到多种因素的影响,需要在每一步都要建立严格的标准。

本实验采用液质联用技术,对加味左金丸中的多种成分进行了定量测定。中成药成分复杂,质谱检测器的高选择性和高灵敏度是非常有利于复杂体系的测定。实验结果也进一步证明,该方法快速、高效、灵敏度高、专属性好,可应用于JZP的质量控制。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 辛可. 加味左金丸治疗肝胃不和型慢性浅表性胃炎的临床效果观察 [J]. 中国医药指南, 2017, 15(26): 191-192.
- [3] 王道春. 加味左金丸治疗肝胃不和型慢性浅表性胃炎的临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(3): 622-624.
- [4] 徐婷婷. 加味左金丸治疗肝胃郁热型难治性胃食管反流病的临床疗效观察 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [5] 李亚南. 加味左金丸治疗肝胃郁热型胃食管反流病的临床观察及抗复发的研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2018.
- [6] 侯杏. 加味左金丸治疗寒热错杂型慢性结肠炎的临床疗效观察 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [7] 侯凤霞, 李坤, 张晓丽. 加味左金丸联合三联疗法对胃溃疡患者的疗效及三叶因子与表皮生长因子的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 298-301.

- [8] 万军鸽. 加味左金丸合金铃子散治疗消化性溃疡临床观察 [J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(4): 517-519.
- [9] 林 婕. 加味左金丸与艾司奥美拉唑治疗肝胃郁热型难治性胃食管反流病疗效对比观察 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2018, 23(3): 364-366.
- [10] 胡丽娟. 加味左金丸对大肠癌裸鼠信号通路的干预作用 [J]. 新中医, 2015, 47(2): 230-232.
- [11] 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.
- [12] 张铁军, 白 钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [13] 张铁军, 白 钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 35-37.
- [14] 刘蕴秀, 罗淑荣, 冯孝章. 薄层荧光扫描法测定吴茱萸药材及其制剂中 5 种生物碱的含量 [J]. 药学学报, 1999, 34(5): 383-386.
- [15] Xu A L, Liu B M, Sun D M, *et al.* Selection of quality markers of *Jasminum amplexicaule* based on its anti-diarrheal and anti-inflammatory activities: Effect-target affiliation-traceability-pharmacokinetics strategy [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(4): 379-386.
- [16] 邢炎华, 侯少平, 何志鹏. 基于整合药理学的金铃子散治疗消化性溃疡的质量标志物发现及分子机制研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(1): 56-62.
- [17] 曹建华, 刘艳之, 刘海霞, 等. 基于“五原则”的脑震宁颗粒质量标志物 (Q-marker) 的辨识分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4654-4662.
- [18] 胡 蓉, 姚 闽, 饶印保, 等. 加味左金丸的质量标准研究 [J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(4): 52-55.
- [19] 耿 铮, 车 慧, 苏 丹. 加味左金丸质量标准提高研究 [J]. 中药材, 2014, 37(1): 137-140.
- [20] 赵 颖, 张丽娟, 赵晶晶, 等. 加味左金丸质量标准研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2012, 26(6): 60-64.
- [21] 李 宇, 韩凤梅, 柳 伟, 等. 反相高效液相色谱法测定加味左金丸中盐酸小檗碱和吴茱萸次碱的含量 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(8): 631-633.
- [22] 耿 铮, 车 慧. 加味左金丸中盐酸小檗碱的提取与含量测定 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(14): 401-402.
- [23] 覃 莎, 王 锦, 徐远金. 超高效液相色谱-串联质谱同时测定加味左金丸中的 9 种有效成分 [J]. 色谱, 2012, 30(11): 1153-1158.