

## 基于液质联用技术的芪参颗粒化学组成测定及一致性分析

刘璐璐<sup>1,2</sup>, 李月婷<sup>1,2\*</sup>, 苏汝彬<sup>1,2</sup>, 潘绮雪<sup>1,2</sup>, 魏祖英<sup>1,2</sup>, 屈碧琼<sup>1,2</sup>, 刘明妍<sup>1,2</sup>, 刘洁<sup>2,3</sup>, 贾志鑫<sup>2,3</sup>, 肖红斌<sup>2,3\*</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. 北京中医药大学北京中医药研究院, 北京 100029

**摘要:** 目的 建立高效液相色谱-三重串联四极杆质谱联用 (HPLC-QQQ-MS/MS) 测定芪参颗粒中 38 种主要成分含量的方法, 明确其化学组成, 并对制剂批次间一致性进行分析。方法 HPLC 采用 Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub> (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液梯度洗脱, 质谱对正 (11 个离子对)、负 (22 个离子对) 离子进行动态多反应监测 (dynamic multi-response detection, dMRM), 实现多批次芪参颗粒中 38 种主要成分的含量测定。通过主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 筛选影响批次间一致性的成分。结果 建立的 HPLC-MS/MS 方法在 15 min 内完成了 38 个成分的同时定量分析, 12 批次芪参颗粒样品中 38 个化合物的总量为 34.923~47.148 mg/g, 其中臣药丹参中的丹酚酸 B 的量最高 (16.718 mg/g), 其次是金银花中的绿原酸 (3.550 mg/g), 君药黄芪中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷的质量分数分别为 0.136、0.753 mg/g, 黑顺片中 3 种双酯型生物碱的质量分数均低于 0.003 mg/g, 其余化合物的质量分数在 0.004~2.935 mg/g。PCA 结合 OPLS-DA 筛选出了 5 个对批次一致性影响最大的成分, 依次为黄芪甲苷、黄芪皂苷 III、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 和二氢丹参酮 I。结论 所建立的分析方法专属性强, 灵敏度高, 为芪参颗粒质量控制和一致性分析提供了科学方法和依据。

**关键词:** 芪参颗粒; HPLC-QQQ-MS/MS; 质量控制; 主成分分析; 正交偏最小二乘-判别分析; 丹参素; 哈巴苷; 绿原酸; 新绿原酸; 隐绿原酸; 咖啡酸; 当药苷; 芹糖甘草苷; 甘草苷; 异槲皮素; 毛蕊花糖苷; 异绿原酸 C; 迷迭香酸; 芒柄花苷; 异甘草苷; 丹酚酸 B; 甘草素; 丹酚酸 A; 毛蕊异黄酮; 哈巴俄苷; 异甘草素; 黄芪皂苷 III; 芒柄花素; 甘草酸; 二氢丹参酮 I; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 丹参酮 II<sub>A</sub>; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 木犀草苷; 黄芪甲苷; 苯甲酰新乌头原碱; 苯甲酰乌头原碱; 苯甲酰次乌头原碱; 新乌头碱; 乌头碱; 次乌头碱; 异毛蕊花糖苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)08-2312-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.08.007

## Chemical composition determination and consistency analysis of Qishen Granules based on liquid chromatography-mass spectrometry technology

LIU Lu-lu<sup>1,2</sup>, LI Yue-ting<sup>1,2</sup>, SU Ru-bin<sup>1,2</sup>, PAN Qi-xue<sup>1,2</sup>, WEI Zu-ying<sup>1,2</sup>, QU Bi-qiong<sup>1,2</sup>, LIU Ming-yan<sup>1,2</sup>, LIU Jie<sup>2,3</sup>, JIA Zhi-xin<sup>2,3</sup>, XIAO Hong-bin<sup>2,3</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. Beijing Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

**Abstract: Objective** To establish a high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry method (HPLC-QQQ-MS/MS) for the determination of 38 main components in Qishen Granules (芪参颗粒), clarify their chemical composition and analyze the consistency between batches. **Methods** The chromatographic separation was performed on a Zorbax

收稿日期: 2021-11-04

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2019ZX09201004-001); 北京中医药大学新教师启动基金项目 (2021-JYB-XJSJJ002)

作者简介: 刘璐璐 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药检验与分析。Tel: 18801106012 E-mail: ml15936715305@163.com

\*通信作者: 李月婷, 博士, 讲师。Tel: (010)64286490 E-mail: yuetingli1111@163.com

肖红斌, 博士, 教授。Tel: (010)64286490 E-mail: hbxiao69@163.com

Eclipse Plus C<sub>18</sub> column (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) for gradient elution, the mobile phase was 0.1% formic acid water-0.1% formic acid acetonitrile. The dynamic multi-response detection (dMRM) scanning mode was used in the mass spectrometry for 11 ion pairs in positive ion mode and 22 ion pairs in negative ion mode to achieve the determination of 38 characteristic components in multiple batches of Qishen Granules. The principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) of each batch of Qishen Granules were carried out to obtain the components that affected the consistency between batches. **Results** Based on the established HPLC-MS/MS method, the simultaneous quantitative analysis of 38 components was completed within 15 min. The total amount of 38 compounds in 12 batches of Qishen Granules samples was 34.923—47.148 mg/g. Among them, the content of salvianolic acid B (16.718 mg/g) in the minister medicine Dansen (*Salvia miltiorrhiza*) was the highest, the second was the chlorogenic acid (3.550 mg/g) in Jinyinhua (*Lonicerae Japonicae Flos*). The contents of astragaloside IV and calycosin-7-glucoside in the monarch medicine Huangqi (*Astragali Radix*) were 0.136 and 0.753 mg/g. The contents of the three diester-alkaloids in Fuzi (*Aconiti Lateralis Radix Praeparata*) were all less than 0.003 mg/g, and the contents of the remaining compounds were between 0.004 and 2.935 mg/g. PCA combined with OPLS-DA screened out five components that had the greatest impact on batch consistency, followed by astragaloside IV, astragaloside III, cryptotanshinone, tanshinone II<sub>A</sub> and dihydrotanshinone I. **Conclusion** The analytical method established in this study is specific and sensitive, which could provide scientific methods and basis for quality control and consistency analysis of Qishen Granules.

**Key words:** Qishen Granules; HPLC-QQQ-MS/MS; quality control; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; danshensu; harpagide; chlorogenic acid; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; caffeic acid; sweroside; liquiritinapioside; liquiritin; isoquercetin; verbascoside; isochlorogenic acid C; rosmarinic acid; ononin; isoliquiritin; salvianolic acid B; liquiritigenin; salvianolic acid A; calycosin; harpagoside; isoliquiritigenin; astragaloside III; formononetin; glycyrrhizic acid; dihydrotanshinone I; cryptotanshinone; tanshinone I; tanshinone II<sub>A</sub>; calycosin-7-glucoside; luteoloside; astragaloside IV; benzoylmesaconine; benzoylaconitine; benzoylhypaconitine; mesaconitine; aconitine; hypaconitine; isoacteoside

芪参颗粒是来源于经典名方真武汤和四妙勇安汤, 经过著名专家刘渡舟多年的临床研究和用药经验, 形成的以益气活血、温阳解毒为主要治法的固定复方, 由黄芪、丹参、黑顺片、金银花、玄参和甘草 6 味中药材组成, 为临床上具有确切疗效的抗心衰药物。目前已有芪参颗粒质量控制方法为基于 HPLC 的成分含量测定<sup>[1]</sup>, 缺少了君药黄芪中黄芪甲苷等主要药效成分及黑顺片中的有毒成分, 导致芪参颗粒样品在生产等各环节的质量难以控制, 最终可能影响其药效的发挥。因此需要建立相应的含量测定方法, 明确其中主要成分的含量, 用于控制芪参颗粒的质量。

中药(复方)的质量可控是保证其发挥疗效的关键, 然而中药尤其是中药复方所含成分种类复杂, 其发挥疗效是通过多成分、多靶点的协同作用, 因此控制中药(复方)的质量不能仅通过测定其中几个成分来完成<sup>[2]</sup>, 进行多成分的同时定量对于保证中药(复方)批次间的一致性有很大作用<sup>[3-6]</sup>。另外, 由于中药(复方)中成分种类复杂, 许多成分如皂苷类、生物碱类成分在紫外下响应较弱<sup>[7-8]</sup>, 无法和其他成分进行同时定量, 因此基于 LC-MS 的多成分定量分析是当前中药质量控制最常用的方法之一<sup>[2,9-10]</sup>。

本研究在前期建立的芪参颗粒 HPLC 指纹图谱及含量测定方法的基础上<sup>[1]</sup>, 选取包括芪参颗粒各组方药材的药典指标成分<sup>[11]</sup>及主要活性物质<sup>[12-19]</sup>等在内的 38 个成分, 建立了高覆盖、高灵敏的 HPLC-QQQ-MS/MS 同时定量方法, 对 12 批次芪参颗粒样品进行含量测定。同时结合主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对不同来源药材制备的芪参颗粒样品间的质量差异进行分析, 明确影响制剂一致性的成分, 为芪参颗粒质量控制及一致性分析提供参考。

## 1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent 6470 三重四极杆质谱仪、Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 美国安捷伦公司; Milli Q 超纯水机, 美国 Millipore 公司; KQ-500E 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; XS105 十万分之一电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

对照品丹参素(批号 D-036-170426)、哈巴苷(批号 H-021-161128)、绿原酸(批号 L-007-181112)、新绿原酸(批号 X-014-180410)、隐绿原酸(批号 Y-067-180425)、咖啡酸(批号 K-003-161216)、当

药苷(批号 Z-009-161216)、芹糖甘草苷(批号 G-061-170427)、甘草苷(批号 G-009-161018)、异槲皮素(批号 Y-076-171216)、毛蕊花糖苷(批号 M-011-170112)、异绿原酸 C(批号 Y-070-161102)、迷迭香酸(批号 M-024-170508)、芒柄花苷(批号 M-013-171216)、异甘草苷(批号 Y-120-151123)、丹酚酸 B(批号 D-012-170522)、甘草素(批号 G-036-170426)、丹酚酸 A(批号 D-011-170607)、毛蕊异黄酮(批号 M-021-170517)、哈巴俄苷(批号 H-020-160219)、异甘草素(批号 Y-008-161216)、黄芪皂苷 III(批号 H-036-160908)、芒柄花素(批号 C-018-160304)、甘草酸(批号 G-004-170414)、二氢丹参酮 I(批号 E-004-161014)、隐丹参酮(批号 Y-002-170426)、丹参酮 I(批号 D-006-160302)、丹参酮 II<sub>A</sub>(批号 D-008-170508) 购自成都瑞芬思生物科技有限公司; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201606)、木犀草苷(批号 111720-201609)、黄芪甲苷(批号 110781-201717)、苯甲酰新乌头原碱(批号 111795-201604)、苯甲酰乌头原碱(批号 111794-201705)、苯甲酰次乌头原碱(批号 111796-201705)、新乌头碱(批号 110799-201608)、乌头碱(批号 110720-201111)、次乌头碱(批号 110798-201609) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品异毛蕊花糖苷(批号 FY16250325) 购自南通飞宇生物科技有限公司; 内标草质素苷(IS1, 负离子模式, 批号 C-070-170526) 购自成都瑞芬思生物科技有限公司, 吡啶美辛(IS2, 正离子模式, 批号 Y18J7C18042)

购自上海源叶生物科技有限公司。以上化合物经 UHPLC-Q TOF-MS 检测, 质量分数均>98%。

不同来源和批次的黄芪、丹参、黑顺片、金银花、玄参、甘草饮片购买于北京三和药业有限公司、北京太洋树康药业有限责任公司和山东步长制药有限公司, 经北京中医药大学王学勇教授鉴定, 黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎、黑顺片为毛茛科乌头属植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品、金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花、玄参为玄参科玄参属植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根、甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。将饮片随机组合(表 1) 制备得到 12 批次的芪参颗粒样品, 各饮片及 12 批次样品(编号 S1~S12) 均保存于北京中医药大学中药分析与转化研究中心。

质谱级甲醇、乙腈、甲酸购自美国 Thermo Fisher 公司; 超纯水由超纯水机 Milli-Q(美国 Millipore 公司) 制得。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub> 柱(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B); 体积流量 0.5 mL/min; 柱

表 1 12 批芪参颗粒药材饮片样品产地及批号

Table 1 Origin and batch number of 12 batches of Qishen Granules medicinal pieces samples

编号	黄芪		丹参		黑顺片		金银花		玄参		甘草	
	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号
S1	内蒙古	80540202	河北	70270902	四川	1801092	河南	83450501	浙江	81140201	内蒙古	70401102
S2	内蒙古	80540202	河北	70270902	四川	1801092	河南	83450501	浙江	1806038	内蒙古	1806032
S3	内蒙古	80540202	山东	1804087	四川	1801092	山东	1804118	浙江	81140201	内蒙古	1806032
S4	内蒙古	80540202	山东	1804087	四川	1801092	山东	1804118	浙江	1806038	内蒙古	70401102
S5	甘肃	1805034	河北	70270902	四川	1801092	山东	1804118	浙江	81140201	内蒙古	70401102
S6	甘肃	1805034	河北	70270902	四川	1801092	山东	1804118	浙江	1806038	内蒙古	1806032
S7	甘肃	1805034	山东	1804087	四川	1801092	河南	83450501	浙江	81140201	内蒙古	1806032
S8	甘肃	1805034	山东	1804087	四川	1801092	河南	83450501	浙江	1806038	内蒙古	1806032
S9	内蒙古	0200918014	河北	70270902	四川	1801092	山东	1804118	浙江	81140201	内蒙古	1806032
S10	内蒙古	0200918014	河北	70270902	四川	1801092	河南	83450501	浙江	1806038	内蒙古	70401102
S11	内蒙古	0200918014	山东	1804087	四川	1801092	河南	83450501	浙江	81140201	内蒙古	1806032
S12	内蒙古	0200918014	山东	1804087	四川	1801092	山东	1804118	浙江	1806038	内蒙古	70401102

温 40 °C；进样量 5 μL；负离子模式下梯度洗脱条件：0~3 min, 5%~25% B；3~4 min, 25%~30% B；4~8 min, 30%~35% B；8~10 min, 35%~95% B；10~15 min, 95% B。正离子模式下梯度洗脱条件：0~10 min, 25%~27% B；10~12 min, 27%~95% B；12~15 min, 95% B；柱后平衡 5 min。

### 2.2 质谱条件

Dual AJS ESI 源，采用动态多反应监测 (dynamic multi-response detection, dMRM) 模式在正离子模式和负离子模式分别检测。具体参数如下：干燥气温度 300 °C；干燥气体积流量 6 L/min；鞘气温度 300 °C；鞘气体积流量 11 L/min；喷雾器压力 310.264 kPa (45 psi)；毛细管电压 4000 V (正离子模式)/3500 V (负离子模式)；喷嘴电压 500 V (正离子模式)/2000 V (负离子模式)。各定量成分的参数设定见表 2。dMRM 色谱图见图 1。

### 2.3 对照品溶液的制备

称取各对照品，制备成 1 mg/mL 单一对照品储备液。取各对照品储备液适量，以 50% 甲醇稀释成

以下所需质量浓度对照品溶液，负离子模式下混合对照品溶液含绿原酸、丹酚酸 B 和甘草酸 20 μg/mL，丹参素、哈巴昔、新绿原酸、隐绿原酸、甘草昔和芹糖甘草昔 8888 ng/mL，当药昔、毛蕊异黄酮葡萄糖昔、异绿原酸 C、迷迭香酸、芒柄花昔和丹酚酸 A 5000 ng/mL，咖啡酸、异槲皮素、木犀草昔、毛蕊花糖昔、异毛蕊花糖昔、毛蕊异黄酮和哈巴俄昔 1000 ng/mL，异甘草昔、甘草素、异甘草素和芒柄花素 400 ng/mL；正离子模式下混合对照品溶液含苯甲酰新乌头原碱、黄芪甲昔、黄芪皂昔 III、二氢丹参酮 I、隐丹参酮和丹参酮 II<sub>A</sub> 10 μg/mL，苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、次乌头碱和丹参酮 I 500 ng/mL，新乌头碱和乌头碱 10 ng/mL。将上述对照品溶液按照一定比例稀释即得标准曲线各质量浓度点对照品溶液。

正、负离子模式下内标吡啶美辛、草质素昔溶液质量浓度均为 100 ng/mL。

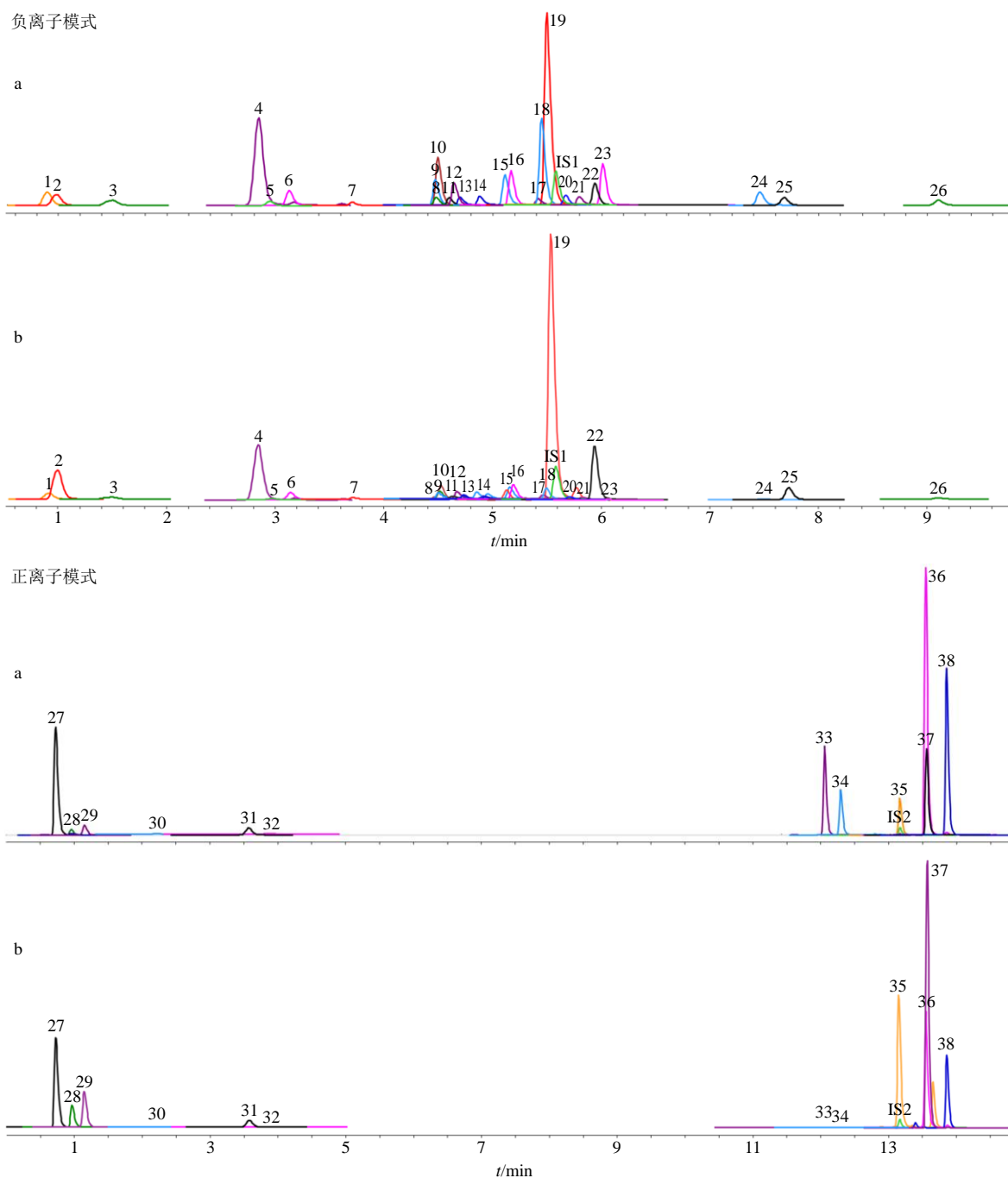
### 2.4 供试品溶液的制备

取各批次芪参颗粒样品约 50.0 mg，精密称定，

表 2 38 种成分的色谱保留时间及质谱参数

Table 2 Chromatographic retention time and mass spectrometry parameters of 38 components

成分	t <sub>R</sub> /min	m/z		毛细管出口电压/V	碰撞能量/eV	电离模式	成分	t <sub>R</sub> /min	m/z		毛细管出口电压/V	碰撞能量/eV	电离模式
		母离子	子离子						母离子	子离子			
丹参素	0.89	197.0	135.1	75	-20	[M-H] <sup>-</sup>	甘草素	5.65	255.1	119.3	125	-30	[M-H] <sup>-</sup>
哈巴昔	0.99	409.0	363.4	75	-10	[M-H] <sup>-</sup>	丹酚酸 A	5.78	493.1	185.2	115	-25	[M-H] <sup>-</sup>
绿原酸	1.43	353.1	191.3	75	-5	[M-H] <sup>-</sup>	毛蕊异黄酮	5.92	283.0	268.0	125	-20	[M-H] <sup>-</sup>
新绿原酸	2.81	353.1	191.3	75	-5	[M-H] <sup>-</sup>	哈巴俄昔	6.05	493.1	345.4	105	-5	[M-H] <sup>-</sup>
咖啡酸	2.94	179.0	135.1	65	-15	[M-H] <sup>-</sup>	异甘草素	7.44	255.1	119.3	105	-25	[M-H] <sup>-</sup>
隐绿原酸	3.14	353.1	173.3	85	-5	[M-H] <sup>-</sup>	芒柄花素	7.66	267.0	252.4	135	-20	[M-H] <sup>-</sup>
当药昔	3.72	403.1	125.0	75	-20	[M-H] <sup>-</sup>	甘草酸	9.10	821.3	351.5	255	-45	[M-H] <sup>-</sup>
毛蕊异黄酮葡萄糖昔	4.45	491.0	283.3	95	-15	[M-H] <sup>-</sup>	苯甲酰新乌头原碱	0.75	590.2	540.5	225	40	[M+H] <sup>+</sup>
甘草昔	4.45	417.1	255.4	155	-40	[M-H] <sup>-</sup>	苯甲酰乌头原碱	0.99	604.3	554.5	235	45	[M+H] <sup>+</sup>
芹糖甘草昔	4.47	549.1	255.4	210	-25	[M-H] <sup>-</sup>	苯甲酰次乌头原碱	1.20	574.3	542.5	225	40	[M+H] <sup>+</sup>
异槲皮素	4.58	463.0	301.0	175	-25	[M-H] <sup>-</sup>	新乌头碱	2.34	632.3	572.5	225	40	[M+H] <sup>+</sup>
木犀草昔	4.62	447.0	285.4	175	-30	[M-H] <sup>-</sup>	次乌头碱	3.77	616.3	556.5	215	40	[M+H] <sup>+</sup>
毛蕊花糖昔	4.67	623.1	161.1	105	-45	[M-H] <sup>-</sup>	乌头碱	3.88	646.3	586.6	215	40	[M+H] <sup>+</sup>
异毛蕊花糖昔	4.86	623.1	161.1	200	-35	[M-H] <sup>-</sup>	黄芪甲昔	12.10	785.4	143.1	185	20	[M+H] <sup>+</sup>
异绿原酸 C	5.09	515.0	179.3	155	-35	[M-H] <sup>-</sup>	黄芪皂昔 III	12.30	785.4	143.1	185	20	[M+H] <sup>+</sup>
迷迭香酸	5.15	359.0	161.3	105	-10	[M-H] <sup>-</sup>	吡啶美辛	13.17	358.6	139.2	85	20	[M+H] <sup>+</sup>
异甘草昔	5.40	417.1	255.4	195	-20	[M-H] <sup>-</sup>	二氢丹参酮 I	13.19	279.0	233.3	125	25	[M+H] <sup>+</sup>
芒柄花昔	5.43	475.0	267.2	95	-15	[M-H] <sup>-</sup>	丹参酮 I	13.55	277.0	249.1	155	20	[M+H] <sup>+</sup>
丹酚酸 B	5.48	717.1	519.2	145	-15	[M-H] <sup>-</sup>	隐丹参酮	13.57	297.1	251.3	155	30	[M+H] <sup>+</sup>
草质素昔	5.54	447.0	301.3	155	-20	[M-H] <sup>-</sup>	丹参酮 II <sub>A</sub>	13.85	295.1	149.3	155	25	[M+H] <sup>+</sup>



1-丹参素 2-哈巴苷 3-绿原酸 4-新绿原酸 5-咖啡酸 6-隐绿原酸 7-当药苷 8-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 9-甘草苷 10-芹糖甘草苷 11-异槲皮素 12-木犀草苷 13-毛蕊花糖苷 14-异毛蕊花糖苷 15-异绿原酸 C 16-迷迭香酸 17-异甘草苷 18-芒柄花苷 19-丹酚酸 B 20-甘草素 21-丹酚酸 A 22-毛蕊异黄酮 23-哈巴俄苷 24-异甘草素 25-芒柄花素 26-甘草酸 27-苯甲酰新乌头原碱 28-苯甲酰乌头原碱 29-苯甲酰次乌头原碱 30-新乌头碱 31-次乌头碱 32-乌头碱 33-黄芪甲苷 34-黄芪皂苷 III 35-二氢丹参酮 I 36-丹参酮 I 37-隐丹参酮 38-丹参酮 II<sub>A</sub> IS1-草质素苷 IS2-吡喹美辛

1-danshensu 2-harpagide 3-chlorogenic acid 4-neochlorogenic acid 5-caffeic acid 6-cryptochlorogenic acid 7-sweroside 8-calycosin-7-glucoside 9-liquiritin 10-liquiritinapioside 11-isoquercetin 12-luteoloside 13-verbascoside 14-isoacteoside 15-isochlorogenic acid C 16-rosmarinic acid 17-isoliquiritin 18-ononin 19-salvianolic acid B 20-liquiritigenin 21-salvianolic acid A 22-calycosin 23-harpagoside 24-isoliquiritigenin 25-formononetin 26-glycyrrhizic acid 27-benzoylmesaconine 28-benzoylaconitine 29-benzoylhypaconitine 30-mesaconitine 31-hypaconitine 32-aconitine 33-astragaloside IV 34-astragaloside III 35-dihydrotanshinone I 36-tanshinone I 37-cryptotanshinone 38-tanshinone II<sub>A</sub> IS1-rhodiocin IS2-indometacin

图 1 38 种成分和内标物混合对照溶液 (a) 和供试品溶液 (b) 动态多反应检测 (dMRM) 色谱图

Fig. 1 dMRM chromatography of 38 components and internal standards in mixed reference solution (a) and test solution (b)

分别置具塞锥形瓶中,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 2 mL 溶液用相同溶剂稀释并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜滤过, 取续滤液, 即得正离子模式下供试品溶液; 精密量取 1 mL 溶液用相同溶剂稀释并定容至 100 mL 量瓶中, 摇匀, 用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜滤过, 取续滤液, 即得负离子模式下供试品溶液。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性关系考察与检测限、定量限** 取“2.3”项下方法配制的系列混合对照品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件进行测定, 以各待测物的峰面积和内标峰面积的比值 ( $Y$ ) 与待测物的浓度 ( $X$ ) 做线性回归, 以  $1/X$  作为权重因子, 需保证标准曲线的相关系数 ( $R^2$ )  $>0.99$ , 结果见表 3, 38 个成分在各自的质量浓度范围内线性良好。以检测限评估方法的灵敏度, 以信噪比 ( $S/N$ ) 为 3 时的待测物浓度作为检测限, 以  $S/N$  为 10 时的待测物浓度作为定量限。结果显示, 灵敏度较好。

**2.5.2 精密度试验** 取“2.3”项下线性范围内高、中、低质量浓度的混合对照品溶液, 进样测定峰面积。同一样品在 1 d 内连续测定 6 次得日内精密度, 同一样品 1 d 内重复测定 2 次, 连续测定 3 d 得日间精密度。精密度以相对标准偏差 (RSD) 表示。结果表明各成分在高、中、低 3 个质量浓度下的日内精密度 RSD 在 0.71%~12.57%, 日间精密度在 1.10%~14.76%, 该方法的精密度良好。

**2.5.3 重复性试验** 按“2.4”项下方法平行制备 6 批供试品溶液 (S1), 按照“2.1”项下色谱条件和“2.2”项下质谱条件进行测定, 记录测得的成分质量浓度, 计算成分的 RSD, 作为方法重复性结果。结果显示 38 个成分质量分数的 RSD 值均小于 12.69%, 表明该方法重复性满足实验要求。

**2.5.4 稳定性试验** 取同一供试品溶液 (S1), 在“2.1”及“2.2”项下色谱及质谱条件下, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 进样测定, 以 RSD 测试样品的稳定性。结果显示 38 种成分的 RSD 均小于 14.49%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.5.5 加样回收率试验** 取已准确测定各成分质量分数的芪参颗粒样品 (S1) 50 mg, 加入等体积的高、中、低水平 (120%、100%、80%) 对照品溶液,

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。38 个成分在高、中、低 3 个质量浓度下回收率均在 85.16%~115.0%, RSD 在 0.44%~12.00%, 表明方法回收率良好。

## 2.6 样品含量测定

取各批次芪参颗粒样品 (S1~S12), 按照“2.4”项下方法制备得到供试品溶液, 进行测定并计算 12 批次样品中各成分的含量, 结果见表 4, 各成分所占比例见图 2。

## 2.7 PCA

为考察主要成分对 12 批次芪参颗粒样品一致性的影响, 选取了对药效贡献更大的君药黄芪、臣药丹参以及对药物安全性有较大影响的有毒中药黑顺片中的 18 个成分进行分析, 将 18 个成分的含量测定结果进行归一化处理后导入 SIMCA 14.0 软件进行 PCA, 得分见图 3。结果发现 12 批次样品被明显区分为 3 组, S1~S8 为 1 组, S9~S10 为第 2 组, S11~S12 为第 3 组。

## 2.8 OPLS-DA

将黄芪、丹参、黑顺片中 18 个化学成分的含量测定结果进行归一化处理后导入 SIMCA-P 14.0 (Umetrics, umea, Sweden) 软件进行 OPLS-DA 处理, 得分图见图 4-A。为验证所建模型是否存在过拟合现象, 进一步采用 200 次响应排序检验, 结果所有通过随机排序计算得到的  $R^2$  和  $Q^2$  值均小于原始值, 且  $Q^2$  回归直线与  $Y$  轴有负截距, 说明模型是有效的, 不存在过度拟合, 可用于筛选导致 12 批样品产生差异的成分。

通过提取 OPLS-DA 模型中 18 个变量的重要值 (variable importance in projection, VIP), 以  $VIP > 1$  为标准, 筛选出了 5 个成分, 结果见图 4-B, 按 VIP 值大小排序分别为黄芪甲苷、黄芪皂苷 III、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 和二氢丹参酮 I。结合 12 批次芪参颗粒样品的含量测定结果 (表 4), 可以发现以上 5 个化合物在 S9~S12 中的含量明显高于 S1~S8, 尤其是黄芪甲苷和黄芪皂苷 III, 在 S9~S12 中的含量分别为 S1~S8 中的 3.32 和 2.36 倍; 进一步比较 S9~S10 和 S11~S12, 可以发现, 隐丹参酮、二氢丹参酮 I 和丹参酮 II<sub>A</sub> 在 S11~S12 中的含量为 S9~S10 中的 2.07、1.82 和 1.54 倍。通过以上分析发现, 黄芪甲苷、黄芪皂苷 III、隐丹参酮、二氢丹参酮 I 和丹参酮 II<sub>A</sub> 5 个成分是影响 12 批次样品一致性的主要成分。

表 3 38 种成分的线性方程、相关系数、线性范围、检测限和定量限

Table 3 Linear equation, correlation coefficient, linear range, LODs and LOQs of 38 components

成分	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> )	检测限/(ng·mL <sup>-1</sup> )	定量限/(ng·mL <sup>-1</sup> )
丹参素	$Y=0.1691X+0.003295$	0.9974	11.1100~444.4000	0.4000	1.0000
哈巴苷	$Y=1.335X+0.01071$	0.9984	4.4440~444.4000	0.1000	0.2000
绿原酸	$Y=0.0545X+0.001809$	0.9990	25.0000~1000.0000	10.0000	15.0000
新绿原酸	$Y=1.621X+0.02620$	0.9981	4.4440~444.4000	2.0000	4.0000
咖啡酸	$Y=0.6415X+0.00001401$	0.9983	0.5000~50.0000	0.2000	0.4000
隐绿原酸	$Y=0.2138X+0.002052$	0.9981	4.4440~444.4000	0.8000	2.0000
当药苷	$Y=0.07164X+0.0003078$	0.9986	2.5000~250.0000	0.0500	0.1000
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=0.5544X+0.005225$	0.9914	6.2500~250.0000	1.0000	2.0000
甘草苷	$Y=0.1083X+0.001356$	0.9980	4.4440~222.2000	0.4000	1.0000
芹糖甘草苷	$Y=0.4335X+0.01093$	0.9950	4.4440~444.4000	2.0000	4.0000
异槲皮素	$Y=0.8049X+0.001549$	0.9974	0.5000~50.0000	0.1000	0.2000
木犀草苷	$Y=2.420X+0.02192$	0.9961	0.5000~50.0000	0.1000	0.2000
毛蕊花糖苷	$Y=2.031X+0.001637$	0.9988	0.5000~50.0000	0.1000	0.2000
异毛蕊花糖苷	$Y=2.516X+0.001439$	0.9975	1.2500~50.0000	0.1000	0.2000
异绿原酸 C	$Y=0.3768X+0.01027$	0.9972	11.1100~444.4000	0.1000	0.2000
迷迭香酸	$Y=0.7798X+0.005065$	0.9995	4.4440~444.4000	0.1000	0.2000
异甘草苷	$Y=4.257X+0.003646$	0.9992	0.2000~20.0000	0.1000	0.2000
芒柄花苷	$Y=1.790X+0.01613$	0.9971	2.5000~250.0000	0.0250	0.0500
丹酚酸 B	$Y=1.169X+0.008601$	0.9999	25.0000~2500.0000	0.0100	0.0200
甘草素	$Y=3.290X+0.00004261$	0.9966	0.2000~20.0000	0.1000	0.2000
丹酚酸 A	$Y=0.1772X+0.004578$	0.9988	2.5000~2500.0000	1.0000	2.0000
毛蕊异黄酮	$Y=12.34X+0.01060$	0.9987	0.5000~50.0000	0.0100	0.0200
哈巴俄苷	$Y=0.04968X+0.0006357$	0.9968	2.5000~250.0000	1.0000	2.0000
异甘草素	$Y=6.384X+0.0008821$	0.9992	0.2000~20.0000	0.0500	0.1000
芒柄花素	$Y=8.489X+0.01532$	0.9973	0.2000~20.0000	0.1000	0.2000
甘草酸	$Y=0.04012X+0.001381$	0.9986	10.0000~1000.0000	0.1000	0.5000
苯甲酰新乌头原碱	$Y=44.43X+0.04014$	0.9960	2.5000~250.0000	0.0020	0.0040
苯甲酰乌头原碱	$Y=49.07X+0.0001947$	0.9992	0.2500~50.0000	0.0020	0.0040
苯甲酰次乌头原碱	$Y=86.63X+0.03659$	0.9915	0.2500~125.0000	0.0020	0.0040
新乌头碱	$Y=99.14X+0.001130$	0.9988	0.0025~1.0000	0.0005	0.0010
次乌头碱	$Y=97.40X+0.005029$	0.9989	0.1250~50.0000	0.0100	0.0200
乌头碱	$Y=143.8X+0.001628$	0.9976	0.0025~0.5000	0.0002	0.0010
黄芪甲苷	$Y=0.04997X+0.002770$	0.9942	25.0000~5000.0000	10.0000	20.0000
黄芪皂苷 III	$Y=0.2420X+0.005324$	0.9948	10.0000~5000.0000	5.0000	10.0000
二氢丹参酮 I	$Y=17.72X+0.005286$	0.9964	1.0000~250.0000	0.0200	0.0400
丹参酮 I	$Y=502.3X+0.2894$	0.9912	0.0500~5.0000	0.0200	0.0400
隐丹参酮	$Y=95.66X+0.2875$	0.9945	1.0000~100.0000	0.1000	0.2000
丹参酮 II <sub>A</sub>	$Y=59.49X+0.1683$	0.9973	1.0000~100.0000	0.0200	0.0400

### 3 讨论

本研究建立了一种 HPLC-QQQ-MS/MS 同时测

定芪参颗粒中 38 种化学成分含量的方法,综合考虑不同成分的结构和极性特点,采用 dMRM 扫描模

表 4 12 批次芪参颗粒样品中 38 个成分的含量测定结果

Table 4 Content determination results of 38 components in 12 batches of Qishen Granule samples

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素	黄芪甲苷	黄芪皂苷 III	丹参素	迷迭香酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
S1	0.646	0.334	0.240	0.091	0.085	0.059	1.804	1.158	15.391	0.815
S2	0.624	0.307	0.222	0.079	0.091	0.053	1.928	0.773	13.589	0.575
S3	0.668	0.341	0.194	0.068	0.072	0.047	1.646	0.747	16.276	0.505
S4	0.787	0.382	0.248	0.094	0.091	0.058	1.985	0.781	17.990	0.525
S5	0.727	0.319	0.273	0.094	0.075	0.049	2.041	1.030	15.806	0.444
S6	0.636	0.286	0.234	0.078	0.059	0.047	1.834	0.932	14.128	0.546
S7	0.848	0.368	0.268	0.089	0.077	0.068	1.897	0.863	19.978	0.504
S8	0.783	0.347	0.255	0.083	0.062	0.051	1.981	0.852	21.516	0.470
S9	0.733	0.316	0.281	0.074	0.192	0.099	1.592	0.772	11.471	0.478
S10	0.825	0.419	0.313	0.090	0.243	0.124	2.038	0.916	15.611	0.642
S11	0.870	0.394	0.329	0.088	0.287	0.147	2.078	0.824	20.099	0.483
S12	0.889	0.366	0.325	0.085	0.294	0.139	2.188	0.718	18.756	0.523

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									
	苯甲酰新乌头原碱	丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 II <sub>A</sub>	异槲皮素	苯甲酰乌头原碱	异甘草苷	次乌头碱	异甘草素	甘草酸
S1	0.032	0.003	0.039	0.013	0.296	0.003	0.089	0.002	0.012	4.714
S2	0.029	0.003	0.036	0.017	0.295	0.003	0.059	0.002	0.007	2.286
S3	0.028	0.003	0.051	0.016	0.304	0.003	0.060	0.002	0.007	2.144
S4	0.033	0.003	0.065	0.023	0.393	0.004	0.061	0.002	0.010	3.237
S5	0.029	0.003	0.032	0.014	0.346	0.003	0.042	0.002	0.009	2.506
S6	0.032	0.003	0.032	0.015	0.338	0.004	0.066	0.002	0.008	2.611
S7	0.036	0.004	0.068	0.025	0.348	0.004	0.066	0.002	0.008	2.786
S8	0.033	0.003	0.044	0.013	0.322	0.004	0.067	0.002	0.008	2.582
S9	0.024	0.003	0.032	0.018	0.313	0.003	0.045	0.001	0.007	2.031
S10	0.025	0.003	0.037	0.019	0.318	0.004	0.055	0.002	0.011	3.918
S11	0.040	0.004	0.076	0.032	0.322	0.005	0.059	0.002	0.011	2.641
S12	0.032	0.004	0.067	0.025	0.332	0.004	0.057	0.002	0.011	2.884

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									
	苯甲酰次乌头原碱	新绿原酸	毛蕊花糖苷	隐绿原酸	当药苷	二氢丹参酮 I	木犀草苷	异绿原酸 C	哈巴苷	哈巴俄苷
S1	0.007	2.577	0.154	1.938	0.765	0.143	0.074	1.697	1.756	0.635
S2	0.006	2.631	0.091	2.026	0.725	0.107	0.098	1.720	0.956	0.158
S3	0.006	2.792	0.094	2.111	0.825	0.122	0.104	2.033	1.457	0.606
S4	0.007	3.363	0.088	2.608	0.997	0.185	0.154	2.667	1.494	0.220
S5	0.006	3.070	0.102	2.346	0.884	0.099	0.124	2.179	1.877	0.535
S6	0.007	3.018	0.053	2.275	0.853	0.087	0.112	2.286	1.030	0.271
S7	0.008	3.036	0.110	2.213	0.844	0.186	0.131	2.127	1.204	0.243
S8	0.008	2.932	0.058	2.140	0.778	0.128	0.108	1.986	1.213	0.205
S9	0.005	2.903	0.082	2.168	0.760	0.109	0.107	2.491	1.635	0.471
S10	0.008	3.037	0.073	2.254	0.781	0.102	0.106	2.220	0.973	0.161
S11	0.009	2.854	0.221	2.210	0.962	0.191	0.118	2.099	1.950	0.441
S12	0.008	3.003	0.077	2.484	0.891	0.192	0.119	2.370	1.376	0.366



续表 4

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						质量分数/(μg·g <sup>-1</sup> )	
	异毛蕊花糖苷	甘草苷	芹糖甘草苷	咖啡酸	甘草素	绿原酸	新乌头碱	乌头碱
S1	0.098	1.511	3.488	0.216	0.074	2.774	0.012	0.020
S2	0.060	0.975	1.348	0.177	0.045	3.150	0.013	0.027
S3	0.059	1.118	1.340	0.145	0.046	3.411	0.007	0.013
S4	0.061	0.973	3.073	0.204	0.061	4.221	0.012	0.020
S5	0.084	0.758	2.022	0.155	0.061	3.752	0.010	0.017
S6	0.036	1.079	1.562	0.174	0.049	3.566	0.016	0.028
S7	0.076	1.153	1.656	0.164	0.045	3.554	0.013	0.024
S8	0.047	1.178	1.541	0.160	0.051	3.381	0.012	0.021
S9	0.053	0.868	1.142	0.185	0.044	3.415	0.009	0.013
S10	0.055	0.992	2.668	0.193	0.073	3.588	0.012	0.017
S11	0.139	1.144	1.480	0.189	0.066	3.595	0.014	0.016
S12	0.058	1.137	2.515	0.194	0.073	4.192	0.010	0.015

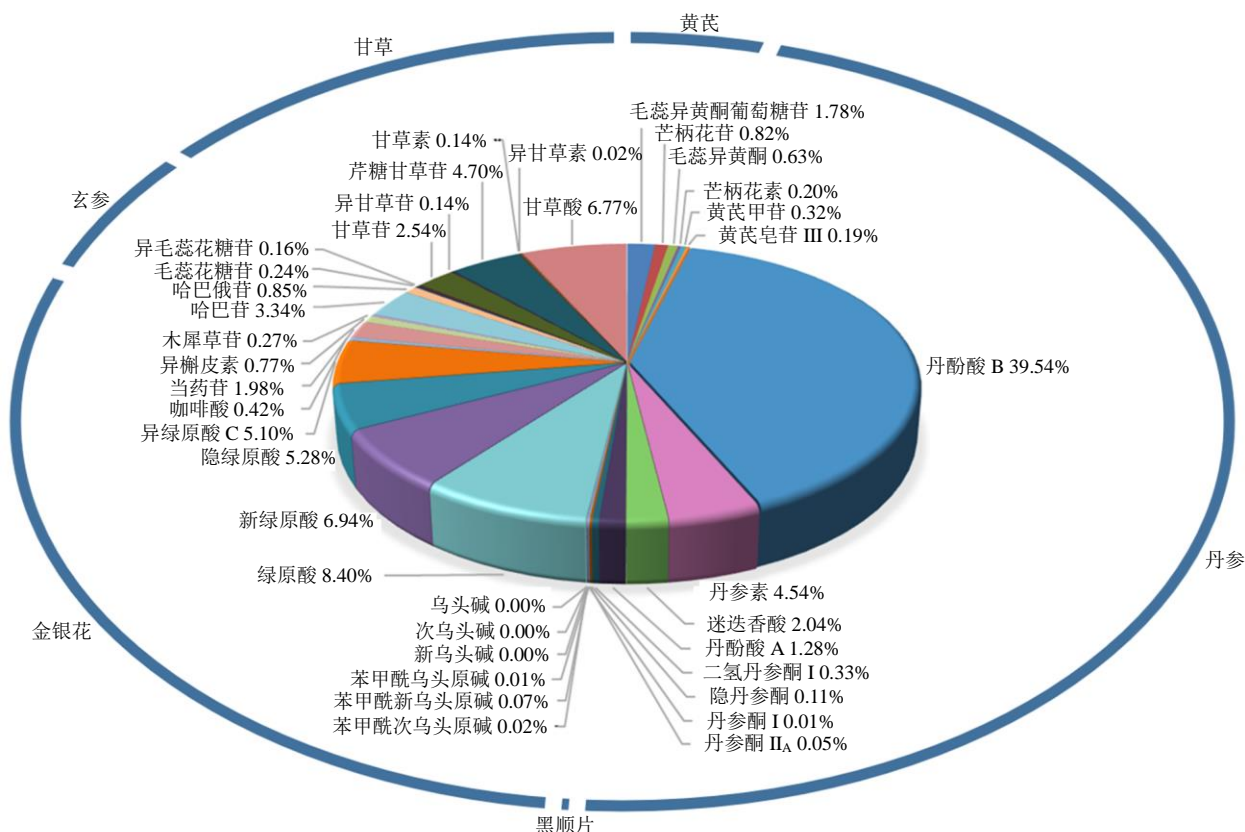


图 2 芪参颗粒 38 个成分组成图

Fig. 2 Composition diagram of 38 components of Qishen Granules

式，正、负离子模式分别检测，各成分均有较好的响应。在选择流动相时，分别考察了乙腈-水和甲醇-水体系，实验结果发现乙腈-水系统更能实现芪参颗粒各色谱峰的较好分离，因此选择乙腈-水体系为本实验流动相体系，在 2 相体系中分别添加 0.1% 甲酸能优化峰型，因此最终确定本实验的流动相为

0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液。然后，考察了提取方式（超声、加热回流）、提取溶剂（水及 50%、70%、100% 甲醇）、提取时间（10、20、30、40 min）对芪参颗粒有效成分提取的影响，综合色谱峰数量及响应值，最终确定供试品溶液制备方法为 50% 甲醇超声提取 30 min。本研究所测定的 38 种化学成分

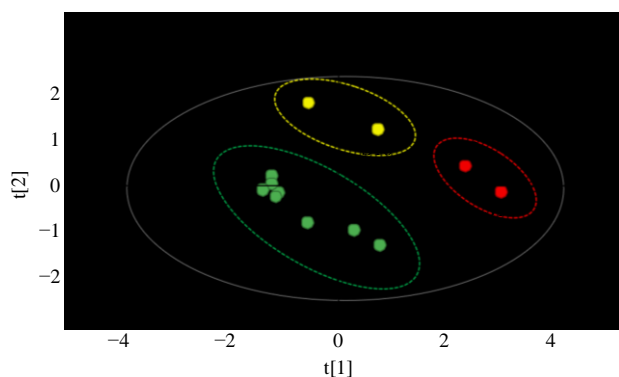


图 3 12 批次芪参颗粒样品中 18 个成分含量测定结果的 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score graph of content determination results of 18 components in 12 batches of Qishen Granule samples

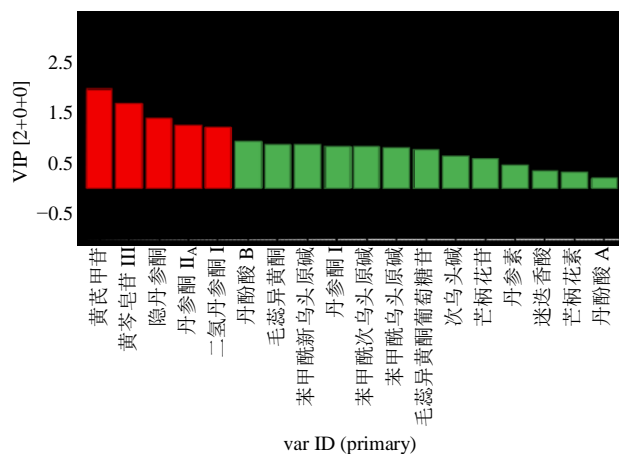
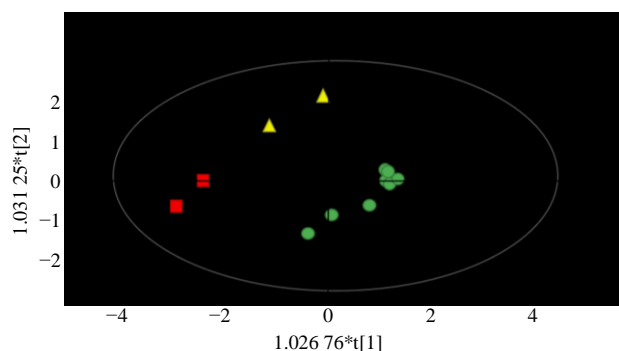


图 4 12 批次芪参颗粒样品中 18 个成分含量测定结果的 OPLS-DA 得分图 (A) 和 VIP 值图 (B)

Fig. 4 OPLS-DA score graph (A) and VIP value graph (B) of content determination results of 18 components in 12 batches of Qishen Granule samples

中包括绿原酸和新绿原酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷、甘草苷和异甘草苷、甘草素和异甘草素、黄芪甲苷和黄芪皂苷 III 5 对同分异构体, 每对同分异构体共用 1 个离子对, 通过优化流动相种类及洗脱条件, 均获得了良好的分离和响应, 各色谱峰的分离度和峰形良好。38 种化学成分含量的同时测定在

15 min 内即可完成, 且测定结果准确、稳定性良好, 是一种高效和可靠的测定芪参颗粒中多种结构类型化学成分的方法。

在进行测定成分的选择时, 首先将 6 味药材的 15 个药典指标成分纳入本次含量测定的指标内; 另外选取了前期基于 UHPLC-Q TOF-MS 识别的芪参颗粒<sup>[16]</sup>中含量较高的 23 个主要成分, 同时这 23 个成分具有抗心肌细胞凋亡、抗炎、抗氧化应激、改善心肌缺血、改善心肌纤维化等作用<sup>[17-24]</sup>, 如芒柄花素可以有效降低缺氧复氧处理的 H9C2 心肌细胞的 ROS 水平, 发挥心肌细胞保护作用<sup>[18]</sup>; 丹酚酸 A 能明显地减少急性心肌缺血犬的心肌梗死/心室的比率, 抑制急性心肌缺血及心肌梗塞引起的血清乳酸脱氢酶, 肌酸激酶活性的升高, 表现出良好的抗心肌缺血和梗死的作用<sup>[21]</sup>; 甘草素和异甘草素均具有一定的抗氧化、抗炎和抗心肌细胞凋亡的作用, 从而对大鼠心肌缺血再灌注的损伤具有一定的恢复作用<sup>[23-24]</sup>等。

38 个成分分别为君药黄芪中的毛蕊异黄酮苷葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷、黄芪皂苷 III, 臣药丹参中的丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub>, 佐药黑顺片中的苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱, 佐药金银花中的绿原酸、新绿原酸、咖啡酸、隐绿原酸、当药苷、异槲皮素、木犀草苷、异绿原酸 C, 佐药玄参中的哈巴苷、哈巴俄苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷, 使药甘草中的甘草苷、芹糖甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸, 较为全面地囊括了制剂中的主要成分及活性成分, 将此方法应用到 12 批次芪参颗粒样品的含量测定, 38 个化合物的总量为 34.923~47.148 mg/g, 其中臣药丹参中的丹酚酸 B 的含量最高, 12 批样品平均含量为 16.718 mg/g, 其次是金银花中的绿原酸, 为 3.550 mg/g, 君药黄芪中药典指标成分黄芪甲苷、毛蕊异黄酮苷葡萄糖苷的含量分别为 0.136、0.753 mg/g, 黑顺片中 3 种双酯型生物碱的含量均低于 0.003 mg/g, 其余成分的质量分数在 0.004~2.935 mg/g。

本研究明确了芪参颗粒样品中主要成分的含量组成, 为制定芪参颗粒质量控制提供了参考, 黑顺片中有毒成分双酯型生物碱<sup>[25]</sup>的测定为保证芪参颗粒安全性奠定了基础。

12 批样品中黑顺片的来源为同一产地, 由表 4 结果可以看出, 黑顺片 6 个成分苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱含量差异较小, 表明芪参颗粒制剂工艺稳定。大多数成分对应的药材来源为多个产地, 成分批间含量一致性较好, 表明这些成分受产地的影响较小。为考察主要成分对 12 批次芪参颗粒样品一致性的影响, 选取了对药效贡献更大的君药黄芪、臣药丹参以及对药物安全性有较大影响的有毒中药黑顺片中的 18 个成分进行分析, 将 18 个成分含量测定结果归一化处理后进行 PCA, 12 批次芪参颗粒聚为 3 类, 结合 OPLS-DA 发现黄芪甲苷、黄芪皂苷 III、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 和二氢丹参酮 I 对 12 批次样品的一致性影响较大。5 个成分源自本方的君药黄芪和臣药丹参, 黄芪和丹参作为君药臣药在本方的用量大, 且这 5 个成分是黄芪和丹参的活性成分<sup>[26-30]</sup>, 其含量的差异可能导致药效的差异, 因此需要对 2 个组方药材的质量进行严格把控, 以确保芪参颗粒的质量一致性。

本实验建立了芪参颗粒中 38 种成分的含量测定方法, 结合多元统计分析方法, 能够较为全面地对芪参颗粒进行质量评价, 为实现制剂的深度质量控制提供了重要依据, 为保证制剂批次间一致性进而保证芪参颗粒药效的稳定发挥奠定了基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 苏汝彬, 李月婷, 马兆臣, 等. 芪参颗粒的 HPLC 指纹图谱与多成分定量测定研究 [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4329-4337.
- [2] 平洋, 李英鹏, 吕邵娃, 等. 中药药剂复方药性传递理论的构建 [J]. 中成药, 2021, 43(7): 1823-1829.
- [3] Yang Y, Wang HJ, Yang J, *et al.* Chemical profiling and quantification of Chinese medicinal formula Huang-Lian-Jie-Du decoction, a systematic quality control strategy using ultra high performance liquid chromatography combined with hybrid quadrupole-orbitrap and triple quadrupole mass spectrometers [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1321: 88-99.
- [4] Sun J, Song Y L, Sun H, *et al.* Characterization and quantitative analysis of phenolic derivatives in Longxuetongluo Capsule by HPLC-DAD-IT-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 145: 462-472.
- [5] 魏紫奕, 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.
- [6] 马兆臣, 陈奎奎, 李月婷, 等. 丹荷颗粒 25 种特征性成分 LC-MS 测定及制剂一致性分析 [J]. 中草药, 2019, 50(24): 5970-5979.
- [7] 赵曼佳. 含皂苷类成分中药的质量控制方法的研究及应用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [8] 张盼盼, 张俊贞, 王朝虹, 等. 参附注射液中 3 种痕量成分乌头碱、次乌头碱、新乌头碱的测定 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1521-1525.
- [9] Song Y L, Zhang N, Shi S P, *et al.* Large-scale qualitative and quantitative characterization of components in Shenfu Injection by integrating hydrophilic interaction chromatography, reversed phase liquid chromatography, and tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1407: 106-118.
- [10] Ma X L, Guo X Y, Song Y L, *et al.* An integrated strategy for global qualitative and quantitative profiling of traditional Chinese medicine formulas: Baoyuan decoction as a case [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38379.
- [11] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 302.
- [12] Liu Y, Liu J, Wu K X, *et al.* A rapid method for sensitive profiling of bioactive triterpene and flavonoid from *Astragalus mongholicus* and *Astragalus membranaceus* by ultra-pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1085: 110-118.
- [13] Cao J L, Wei J C, Hu Y J, *et al.* Qualitative and quantitative characterization of phenolic and diterpenoid constituents in Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with hybrid linear ion trap Orbitrap mass [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1427: 79-89.
- [14] Ren M T, Chen J, Song Y, *et al.* Identification and quantification of 32 bioactive compounds in *Lonicera* species by high performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48(5): 1351-1360.
- [15] 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.
- [16] Li Y, Su R, Xiao H, *et al.* Pseudotargeted screening and determination of constituents in Qishen Granule based on compound biosynthetic correlation using UHPLC coupled with high-resolution MS [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(6): 1032-1042.

- [17] 李春洁, 邢晓雪, 周正灿, 等. 毛蕊异黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用机制研究 [J]. 天津中医药, 2017, 34(5): 341-344.
- [18] 于雪, 付帮泽, 郭淑贞, 等. 山奈酚和芒柄花黄素对缺氧/复氧条件下 H9C2 心肌细胞活性氧水平的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(1): 111-113.
- [19] Pan R R, Zhuang Q, Wang J. Ononin alleviates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function by activating the AMPK/mTOR/autophagy pathway. [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(5): 1307-1307.
- [20] Liu Q S, Wang H F, Sun A K, *et al.* A comparative study on inhibition of total astragalus saponins and astragaloside IV on TNFR1-mediated signaling pathways in arterial endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101504.
- [21] 李磊, 任建勋, 林治荣, 等. 丹酚酸 A 不同给药途径对犬急性心肌缺血影响 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 910-916.
- [22] 黄小梅. 冠心丹参方药代标志性成分的择取研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2017.
- [23] 张岩, 冯超, 韩吉春, 等. 甘草素减轻大鼠离体心肌缺血再灌注损伤作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(9): 1492-1497.
- [24] 任欢欢, 韩吉春, 卢宁, 等. 异甘草素对心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2016, 34(3): 343-348.
- [25] 周天梅, 杨洁红, 万海同, 等. 附子甘草主要成分配伍对乌头碱致大鼠传代心肌细胞损伤的保护作用 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(1): 22-26.
- [26] 唐斌, 张金国, 谭洪勇, 等. 黄芪甲苷对慢性心衰大鼠心肌纤维化及能量代谢的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(3): 411-416.
- [27] 尤旭, 朱小芳, 胡运鹏, 等. 黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌细胞凋亡和线粒体膜电位的影响 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(9): 1218-1223.
- [28] Francis F, John H, Kam M, *et al.* Mechanisms of the dilator action of cryptotanshinone on rat coronary artery [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 578(2): 253-260.
- [29] 宋焯. 丹参酮 I 和二氢丹参酮 I 对人胃癌细胞 MGC-803、乳腺癌细胞 MCF-7 的抗肿瘤活性研究 [J]. 数理医药学杂志, 2015, 28(6): 803-806.
- [30] 刘慧颖, 姜长涛, 冯娟, 等. 丹参酮类化合物研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(12): 1643-1647.

[责任编辑 郑礼胜]