

# 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 加味清络颗粒生物碱类化学成分分析及多指标含量测定

张日美<sup>1,2</sup>, 廖嘉穗<sup>1,2</sup>, 胡军华<sup>2,3</sup>, 王振中<sup>1,2,3</sup>, 王欣<sup>3</sup>, 王佳<sup>2,3\*</sup>, 肖伟<sup>1,2,3\*</sup>

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210000

2. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

**摘要:** 目的 对加味清络颗粒中生物碱类成分进行定性鉴别分析, 建立加味清络颗粒生物碱类多成分含量测定方法。方法 采用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对加味清络颗粒进行正、负离子模式扫描, 利用 MassHunter 软件计算化合物准确相对分子质量, 结合质谱二级碎片信息及对照品比对, 对加味清络颗粒中生物碱类成分进行定性鉴别, 并总结化合物裂解规律; 利用 HPLC 测定加味清络颗粒中 6 个生物碱成分的含量, 检测条件: 采用 Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈为流动相 A, 磷酸盐缓冲溶液 (pH 5.8) 为流动相 B, 梯度洗脱, 柱温 30 °C, 体积流量 0.9 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长 210 nm。结果 加味清络颗粒中共鉴定出 50 个生物碱成分, 分别来源于青风藤、苦参、延胡索、知母, 其中喹诺里西啶类生物碱 16 个、苜蓿基四氢异喹啉类生物碱 31 个、其他类型生物碱 3 个; 建立了 HPLC 同时测定加味清络颗粒中苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的多指标含量测定方法, 该方法中 6 个待测成分在检测质量浓度范围内线性关系良好 ( $r \geq 0.9999$ ), 精密度、重复性、稳定性 RSD 均小于 4%, 样品中苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的平均加样回收率分别为 94.32%、96.89%、97.83%、109.53%、99.32%、87.13%, RSD 值分别为 3.24%、4.99%、4.95%、4.85%、2.52%、5.95%。结论 建立的方法可准确、灵敏地对加味清络颗粒中的生物碱类化学成分进行定性及定量分析, 为加味清络颗粒后续物质基础研究、质量控制、制剂开发建立了基础。

**关键词:** 加味清络颗粒; 定性鉴别; 定量测定; 质量控制; HPLC-Q-TOF-MS/MS; 苦参碱; 槐果碱; 青藤碱; 原阿片碱; 延胡索乙素; 延胡索甲素

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)10-3255-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.005

## Chemical composition analysis and multi-index content determination of alkaloids in Jiawei Qingluo Granules by HPLC-Q-TOF-MS/MS

ZHANG Rimei<sup>1,2</sup>, LIAO Jiasui<sup>1,2</sup>, HU Junhua<sup>2,3</sup>, WANG Zhenzhong<sup>1,2,3</sup>, WANG Xin<sup>3</sup>, WANG Jia<sup>2,3</sup>, XIAO Wei<sup>1,2,3</sup>

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. National Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture, Lianyungang 222001, China

3. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

**Abstract: Objective** To qualitatively identify and analyze the alkaloids in Jiawei Qingluo Granules (加味清络颗粒), and establish a method for the determination of alkaloids in Jiawei Qingluo Granules. **Methods** HPLC-Q-TOF-MS/MS technology was used to scan Jiawei Qingluo Granules in positive and negative ion mode, the precise molecular weight of the compound was calculated by MassHunter software, combined with secondary fragment information of mass spectrometry and comparison of reference substance, to identify the alkaloids in Jiawei Qingluo Granules qualitatively, and the cracking law of the compound was summarized; Determination of six alkaloids in Jiawei Qingluo Granules by HPLC, detection condition: Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm); Acetonitrile as mobile phase A and phosphate buffer solution (pH 5.8) as mobile phase B, gradient elution (0—25 min,

收稿日期: 2023-12-12

基金项目: 连云港市揭榜挂帅项目 - 中药口服固体制剂智能化连续制造关键技术研究 (CGJBG2101)

作者简介: 张日美, 硕士研究生, 研究方向为中药制药技术与产品开发。E-mail: 1665400364@qq.com

\*通信作者: 肖伟, 中国工程院院士, 研究员, 博士生导师, 从事中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com

王佳, 硕士, 工程师, 从事中药新药研发研究。E-mail: wj15062958810@163.com

5% A; 25—35 min, 5%—7% A; 35—50 min, 7%—15% A; 50—60 min, 15%—19% A; 60—80 min, 19%—20% A; 80—90 min, 20%—35% A; 90—115 min, 35% A; 15—120 min, 35%—44% A; 120—145 min, 44%—48% A), the column temperature was 30 °C, the flow rate was 0.9 mL/min, the sample size was 10 μL, and the detection wavelength was 210 nm. **Results** A total of 50 alkaloids were identified in Jiawei Qingluo Granules, which were derived from Qingfengteng (*Sinomenii Caulis*), Kushen (*Sophorae Flavescentis Radix*), Yanhusuo (*Corydalis Rhizoma*) and Zhimu (*Anemarrhenae Rhizoma*), including 16 quinolizidine alkaloids, 31 benzyl tetrahydroisoquinoline alkaloids and three other types alkaloids; A multi-index HPLC method for simultaneous determination of matrine, sophocarpine, sinomenine, protopine, tetrahydropalmatine and corydaline in Jiawei Qingluo Granules was established, the six components in the method had good linear relationship in the concentration range ( $r \geq 0.9999$ ), the relative standard deviations (RSD) of precision, repeatability and stability were all less than 4%, the average recoveries of matrine, sophocarpine, sinomenine, protopine, tetrahydropalmatine and corydaline were 94.32%, 96.89%, 97.83%, 109.53%, 99.32%, 87.13%, and RSD values were 3.24%, 4.99%, 4.95%, 4.85%, 2.52%, 5.95%, respectively. **Conclusion** The established method can accurately and sensitively analyze the chemical components of alkaloids in Jiawei Qingluo Granules, which lays a foundation for the follow-up material basic research, quality control and preparation development of Jiawei Qingluo Granules.

**Key words:** Jiawei Qingluo Granules; qualitative identification; quantitative determination; quality control; HPLC-Q-TOF-MS/MS; matrine; sophocarpine; sinomenine; protopine; tetrahydropalmatine; corydaline

加味清络颗粒处方由青风藤、苦参、知母、豨莶草、延胡索、筋骨草、救必应、粉萆薢、刺五加 9 味药组成<sup>[1]</sup>, 具有清络舒筋、散结止痛、祛风除湿的功效, 主治痹病反复发作症见筋脉拘挛、屈伸不利、皮下结节; 或痹病急性发作期症见关节红肿热痛明显, 伴发热、口渴。药理研究表明, 加味清络颗粒对于治疗活动期类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 具有较好的临床疗效, 通过调节炎症反应并针对 RA 血管新生靶点进行治疗, 通过抑制血管新生, 达到改善症状、治疗风湿性疾病的目的<sup>[2-6]</sup>。目前有关加味清络颗粒的研究尚停留在药效学方面研究, 药效物质基础研究较为薄弱。

中药复方成分复杂, 具有多靶点、多效应的特点, 遵循君臣佐使用药配伍规律, 以君药起主要治疗作用, 臣药起到增强治疗主病的作用。本方君药青风藤、苦参均为治疗 RA 的常用中药, 且具有良好的疗效<sup>[7]</sup>。青风藤中生物碱为其祛风止痛的主要有效成分, 青藤碱是其主要活性成分, 也是青风藤质量控制与评价的主要指标性成分<sup>[8]</sup>。研究显示, 苦参中苦参碱<sup>[9]</sup>、槐果碱<sup>[10-11]</sup>等多种成分均具有抗肿瘤活性和抗炎镇痛的作用; 臣药延胡索主要化学成分生物碱具有镇痛、镇静、抗炎、抗肿瘤等作用, 延胡索总生物碱能有效抑制中枢和外周疼痛<sup>[12]</sup>。因此本研究利用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对制剂中生物碱类成分进行了定性鉴别, 并采用 HPLC 建立同时测定加味清络颗粒中 6 种成分苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的含量测定方法, 为加味清络颗粒药效物质基础研究、

质量控制及后续的制剂开发提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪 (美国安捷伦公司); Mettler Toledo XP6 型电子分析天平 (百万分之一, 瑞士梅特勒公司); Mettler Toledo MS204 型电子分析天平 (万分之一, 瑞士梅特勒公司); Waters Arc HPLC 高效液相色谱仪 (美国沃特世公司); KQ-500DB 型超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); Milli-Q Academic 纯水仪 (美国密理博公司); H1650-W 型医用离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); HH 数显恒温水浴锅 (常州国宇仪器制造有限公司); Mettler Toledo Seven Compact plus S120 pH 计 (瑞士梅特勒公司)。

### 1.2 材料

加味清络颗粒 (江苏康缘药业股份有限公司, 批号 230501)。对照品苦参碱 (质量分数 98.7%, 批号 110805-202010)、槐果碱 (质量分数 91.8%, 批号 112052-202001)、青藤碱 (质量分数 94.6%, 批号 110774-201808)、原阿片碱 (质量分数 99.6%, 批号 110853-201805)、延胡索乙素 (质量分数 99.3%, 批号 110726-202020)、氧化苦参碱 (质量分数 92.9%, 批号 110780-201909)、氧化槐果碱 (质量分数 93.1%, 批号 111652-202202)、槐定碱 (质量分数 98.8%, 批号 110784-201706)、木兰花碱 (批号 112090-202201), 均购自中国食品药品检定研究院; 去氢紫堇碱 (质量分数  $\geq 98.0\%$ , 批号 ST07380120)、N-甲基野靛碱 (质量分数  $\geq 98.0\%$ , 批号 ST15520105)、金雀花碱 (质量

分数 $\geq 98.0\%$ ，批号 ST07830120)、清风藤碱(质量分数 $\geq 98.0\%$ ，批号 ST79770120)、左旋千金藤啶碱(质量分数 $\geq 98.0\%$ ，批号 ST22400105)、右旋异紫堇定(质量分数 $\geq 98.0\%$ ，批号 ST79150120)、表小檗碱(质量分数 $\geq 98.0\%$ ，批号 ST23680105)，均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司；海罂粟碱(质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 CFS202201)购自 ChemFaces；黄连碱(质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 DST201105-003)购自成都德思特生物技术有限公司；延胡索甲素(质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 250152-202204)购自上海鸿永生物科技有限公司；四氢黄连碱(质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 S-113-140630)购自成都瑞芬思生物科技有限公司；小檗碱(质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 S01A10K94340)购自上海源叶生物科技有限公司。乙腈、甲醇为质谱纯，乙酸铵、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾为色谱纯，其余为分析纯，超纯水为实验室自制。

## 2 方法与结果

### 2.1 加味清络颗粒生物碱类化学成分分析

**2.1.1 色谱条件** 采用 Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m)；以乙腈-[0.01 mol/L 乙酸铵甲醇溶液(浓氨试液调 pH 8.1)](3:2)为流动相 A，0.01 mol/L 乙酸铵溶液(浓氨试液调 pH 8.1)为流动相 B，梯度洗脱(0~20 min, 5%~12% A；20~40 min, 12%~18% A；40~60 min, 18%~20% A；60~90 min, 20%~24% A；90~115 min, 24%~30% A；115~140 min, 30%~40% A；140~150 min, 40%~43% A；150~180 min, 43%~49% A；180~210 min, 49%~56% A)，柱温 30  $^{\circ}$ C，体积流量 0.9 mL/min，进样量 4  $\mu$ L。

**2.1.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI)，正、负离子模式，毛细管电压 4 000 V；干燥气温度

350  $^{\circ}$ C；干燥气体积流量 10 L/min；雾化气压力 50 kPa；裂解电压 135 V；锥孔电压 65 V；碰撞能量根据不同化合物的需要选取 10~40 eV。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取加味清络颗粒 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%甲醇 25 mL，超声处理 30 min(功率 500 W、频率 40 kHz)，取出，离心，取上清液，即得。

**2.1.4 混合对照品溶液的制备** 精密称取苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、氧化苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱、木兰花碱、去氢紫堇碱、N-甲基野靛碱、金雀花碱、清风藤碱、左旋千金藤啶碱、右旋异紫堇定、表小檗碱、海罂粟碱、黄连碱、延胡索甲素、四氢黄连碱、小檗碱对照品各 1 mg 于 25 mL 棕色量瓶中，加甲醇溶解，摇匀，定容，制成对照品质量浓度均为 40  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液，即得。

**2.1.5 成分分析** 采用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术，使用上述方法对加味清络颗粒进行正负离子扫描，由质谱信息可知，生物碱在阳离子模式下有较好的响应，正离子模式下总离子流图见图 1。根据文献报道、TCMSP 数据库、PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)、HMDB 数据库(<https://hmdb.ca>)中收录的苦参、青风藤、延胡索、豨莶草、筋骨草、救必应、粉萆薢、刺五加、知母化学成分信息，利用 MassHunter 软件计算其准确相对分子质量，通过其准分子离子峰的相对分子质量推测可能的化合物(误差小于  $5 \times 10^{-6}$ )，再结合二级碎片信息及对照品比对。在加味清络颗粒中共鉴定和推测出 50 个生物碱成分，21 个经过对照品标定，分别来自苦参、青风藤、延胡索、知母中，包括喹诺里西啶类生物碱，苜蓿基四氢异喹啉类生物碱以及其他类生物碱成分。结果见表 1。

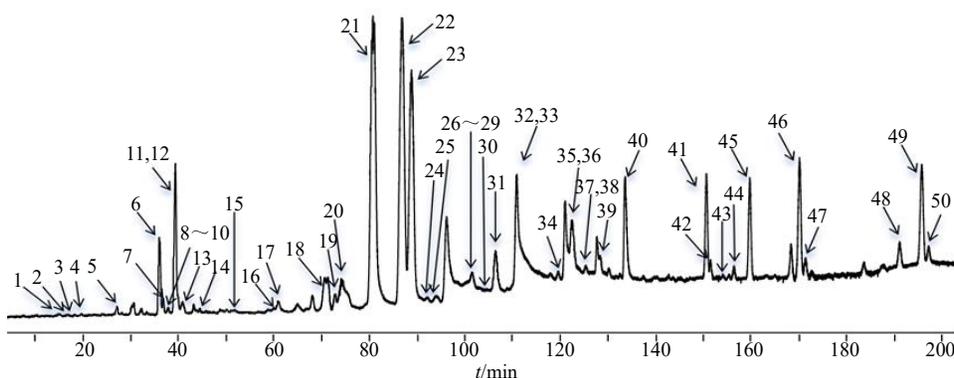


图 1 加味清络颗粒样品总离子流图(正离子模式)

Fig. 1 TIC of Jiawei Qingluo Granules sample (positive ion mode)

表1 加味清络颗粒生物碱类化学成分鉴定

Table 1 Identification of alkaloids from Jiawei Qingluo Granules

峰号	$t_R$ /min	实测值 ( $m/z$ )	理论值 ( $m/z$ )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	分子式	离子 模式	类型	化合物名称	碎片离子	来源
1	16.935	265.190 3	265.191 1	-3.02	$C_{15}H_{24}N_2O_2$	$[M+H]^+$	苦参碱型	氧化苦参碱 <sup>[13-14]</sup>	247.179 9, 205.132 5, 148.113 7	A
2	18.236	342.170 0	342.170 5	-1.46	$C_{20}H_{24}NO_4^+$	$[M]^+$	阿朴啡类生物碱	木兰花碱 <sup>[15]</sup>	311.128 4, 297.108 6, 282.086 8, 265.085 6, 237.086 9	B, C
3	18.410	191.117 4	191.117 9	-2.62	$C_{11}H_{14}N_2O$	$[M+H]^+$	金雀花碱型	金雀花碱 <sup>[13-14]</sup>	148.075 4	A
4	24.253	263.175 7	263.175 4	1.14	$C_{15}H_{22}N_2O_2$	$[M+H]^+$	苦参碱型	氧化槐果碱 <sup>[13-14]</sup>	245.161 2, 150.124 6, 138.127 0	A
5	28.120	249.196 2	249.196 1	0.40	$C_{15}H_{24}N_2O$	$[M+H]^+$	羽扇豆碱型	羽扇豆碱 <sup>[13-14]</sup>	136.111 6	A
6	36.065	205.134 0	205.133 5	2.44	$C_{12}H_{16}N_2O$	$[M+H]^+$	金雀花碱型	<i>N</i> -甲基金雀花碱 <sup>[13-14]</sup>	149.022 2, 146.059 0, 108.080 0, 58.065 4	A
7	36.811	265.190 3	265.191 1	-3.02	$C_{15}H_{24}N_2O_2$	$[M+H]^+$	苦参碱型	9a-羟基苦参碱 <sup>[13-14]</sup>	247.180 0, 150.128 4, 148.111 1, 112.074 9	A
8	37.805	261.159 2	261.159 8	-2.30	$C_{15}H_{20}N_2O_2$	$[M+H]^+$	臭豆碱型	脲酰叶碱 <sup>[13-14]</sup>	243.145 3, 164.107 2, 114.090 6	A
9	37.821	263.174 7	263.175 4	-2.66	$C_{15}H_{22}N_2O_2$	$[M+H]^+$	苦参碱型	5a-羟基槐果碱或 9a-羟 基槐果碱或 12a-羟基 槐果碱 <sup>[13-14]</sup>	245.165 5, 164.103 4	A
10	37.987	328.153 2	328.154 3	-3.35	$C_{19}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	吗啡烷类生物碱	清风藤碱 <sup>[15]</sup>	297.107 8, 282.089 6, 265.083 9, 237.088 1	B
11	39.354	249.197 0	249.196 1	3.61	$C_{15}H_{24}N_2O$	$[M+H]^+$	苦参碱型	槐定碱 <sup>[13-14]</sup>	176.106 1, 150.125 2, 148.110 4	A
12	39.901	265.190 3	265.191 1	-3.02	$C_{15}H_{24}N_2O_2$	$[M+H]^+$	羽扇豆碱型	lamprolobine <sup>[13-14]</sup>	150.126 7	A
13	40.870	344.186 3	344.186 2	0.29	$C_{20}H_{26}NO_4^+$	$[M]^+$	苜蓿四氢异喹啉 类生物碱	<i>N</i> -甲基网叶番荔枝碱 <sup>[16]</sup>	312.167 9, 299.127 0, 267.098 0	C
14	44.499	263.174 7	263.175 4	-2.66	$C_{15}H_{22}N_2O_2$	$[M+H]^+$	苦参碱型	leontalbinin <i>N</i> -oxide <sup>[13-14]</sup>	245.164 4, 195.148 4, 166.121 1	A
15	52.776	314.175 0	314.175 1	-0.32	$C_{19}H_{23}NO_3$	$[M+H]^+$	吗啡烷类生物碱	6- <i>O</i> -甲基可待因 <sup>[15]</sup>	269.115 9, 237.086 4	B
16	60.091	303.168 9	303.167 9	3.30	$C_{15}H_{24}N_2O_3$	$[M+Na]^+$	苦参碱型	氧化槐醇或 5a,9a-二羟 基苦参碱 <sup>[13-14]</sup>	243.148 8, 138.056 4	A
17	61.002	356.184 6	356.186 2	-4.49	$C_{21}H_{26}NO_4^+$	$[M]^+$	阿朴啡类生物碱	蝙蝠葛任碱 <sup>[16]</sup>	311.124 9, 296.100 9, 279.100 9, 251.105 1	C
18	71.350	332.184 9	332.185 6	-2.11	$C_{19}H_{25}NO_4$	$[M+H]^+$	吗啡烷类生物碱	4-hydroxy-3,6-dimethoxy- 17-methyl-morphinan- 7-one <sup>[15]</sup>	330.173 6	B
19	72.842	245.165 5	245.164 8	2.86	$C_{15}H_{20}N_2O$	$[M+H]^+$	臭豆碱型	臭豆碱 <sup>[13-14]</sup>	227.153 2, 150.126 9, 148.110 5	A
20	75.716	298.144 3	298.143 8	1.68	$C_{18}H_{19}NO_3$	$[M+H]^+$	阿朴啡类生物碱	土藤碱 <sup>[15]</sup>	269.115 6	B
21	80.919	249.196 9	249.196 1	3.21	$C_{15}H_{24}N_2O$	$[M+H]^+$	苦参碱型	苦参碱 <sup>[13-14]</sup>	247.179 9, 204.132 6, 176.105 6, 150.126 2, 148.110 9, 136.112 5	A
22	86.777	330.170 1	330.170 0	0.30	$C_{19}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	吗啡烷类生物碱	青藤碱 <sup>[15]</sup>	273.113 0, 255.101 6, 241.085 2, 239.070 1, 213.090 6, 209.058 6,	B
23	88.831	247.179 9	247.180 5	-2.43	$C_{15}H_{22}N_2O$	$[M+H]^+$	苦参碱型	槐果碱 <sup>[13-14]</sup>	245.161 2, 179.153 5, 150.126 5, 148.110 9, 136.111 2,	A
24	90.861	352.152 6	352.154 3	-4.83	$C_{21}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	阿朴啡类生物碱	7-methoxyisinomendine <sup>[15]</sup>	337.130 5, 322.102 9	B
25	92.187	247.179 9	247.180 5	-2.43	$C_{15}H_{22}N_2O$	$[M+H]^+$	苦参碱型	7,11-去氢苦参碱 <sup>[13-14]</sup>	176.103 2, 148.112 4	A
26	101.400	328.189 3	328.190 7	-4.27	$C_{20}H_{25}NO_3$	$[M+H]^+$	苜蓿四氢异喹啉 类生物碱	6- <i>O</i> -methylosine <sup>[16]</sup>	283.131 0, 251.103 4, 236.958 8	C
27	101.574	314.139 3	314.138 7	1.91	$C_{18}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	其他类生物碱	阿魏酰基酪胺 <sup>[17]</sup>	121.064 9, 177.054 1	D
28	101.582	336.123 1	336.123 6	-1.49	$C_{20}H_{18}NO_4^+$	$[M]^+$	小檗碱类生物碱	表小檗碱 <sup>[15-16]</sup>	320.082 8, 308.122 9, 292.095 0	B, C

表 1 (续)

峰号	<i>t<sub>R</sub></i> /min	实测值 ( <i>m/z</i> )	理论值 ( <i>m/z</i> )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	分子式	离子 模式	类型	化合物名称	碎片离子	来源
29	101.946	352.119 2	352.117 9	3.69	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	其他类生物碱	蝙蝠葛宁 <sup>[15]</sup>	322.069 3, 308.089 5	B
30	104.150	320.091 7	320.092 3	-1.87	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	黄连碱 <sup>[16]</sup>	292.096 9, 262.085 0, 234.087 7	C
31	106.503	370.164 8	370.164 9	-0.27	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	原阿片碱类生物碱	隐品碱 <sup>[16]</sup>	352.155 5, 336.121 8	C
32	111.052	352.154 5	352.154 9	-1.14	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	巴马亭 <sup>[16]</sup>	337.130 9, 336.118 9, 322.104 7, 320.127 1, 308.128 8, 294.115 2,	C
33	111.358	328.155 0	328.154 3	2.13	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	阿朴啡类生物碱	异波尔定碱 <sup>[16]</sup>	121.076 1, 115.055 0	C
34	119.610	328.153 2	328.154 3	-3.35	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	左旋千金藤啶碱 <sup>[15]</sup>	313.127 8, 178.085 5	B
35	122.418	354.132 0	354.133 6	-4.52	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	原阿片碱类生物碱	原阿片碱 <sup>[16]</sup>	336.121 6, 308.129 4, 206.079 7, 188.067 3, 149.058 0	C
36	122.940	330.170 3	330.170 0	0.91	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	吗啡烷类生物碱	异青藤碱 <sup>[15]</sup>	312.158 1, 298.142 3, 270.148 3	B
37	125.368	352.154 6	352.154 9	-0.85	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	去氢紫堇麟茎碱 <sup>[16]</sup>	337.128 3, 336.119 8, 322.104 3	C
38	126.594	336.123 0	336.123 6	-1.79	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	小檗碱 <sup>[16]</sup>	321.109 5, 320.093 2, 306.075 1, 292.094 6, 304.095 6, 278.119 5	C
39	128.450	328.153 2	328.154 3	-3.35	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	金黄紫堇碱 <sup>[16]</sup>	311.127 5, 296.096 8, 264.100 6	C
40	133.586	366.171 9	366.170 5	3.82	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	去氢紫堇碱 <sup>[16]</sup>	351.144 1, 350.135 6, 336.127 2	C
41	150.629	342.171 4	342.170 0	4.09	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	紫堇达明碱 <sup>[16]</sup>	327.150 4, 192.105 8	C
42	151.573	342.171 0	342.170 0	2.92	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	四氢非洲防己碱 <sup>[16]</sup>	327.145 4, 326.140 0, 294.114 0	C
43	152.791	352.116 2	352.117 9	-4.83	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	阿朴啡类生物碱	氧海罂粟碱 <sup>[16]</sup>	306.074 3, 322.067 8, 337.091 1	C
44	156.469	356.184 6	356.185 6	-2.81	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	元胡宁 <sup>[16]</sup>	341.161 4, 326.137 7, 192.101 1	C
45	159.701	356.185 4	356.185 6	-0.56	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	阿朴啡类生物碱	海罂粟碱 <sup>[16]</sup>	325.142 2, 310.119 5, 295.096 1, 279.101 2	C
46	170.123	356.184 7	356.185 6	-2.53	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	延胡索乙素 <sup>[16]</sup>	340.153 6, 339.160 6, 327.158 8, 324.124 1, 192.101 9, 165.069 4	C
47	171.382	356.184 4	356.185 6	-3.37	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	其他类生物碱	元胡菲碱 <sup>[16]</sup>	178.085 7, 163.062 8, 151.074 4, 135.067 3	C
48	191.092	340.155 7	340.154 3	4.12	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	四氢小檗碱 <sup>[16]</sup>	308.102 6, 293.103 0, 278.087 4	C
49	195.773	370.201 4	370.201 3	0.27	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	延胡索甲素 <sup>[16]</sup>	354.170 9, 353.247 2, 341.153 3, 338.175 2, 192.101 9, 179.102 3	C
50	197.239	324.122 7	324.123 0	-0.93	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	小檗碱类生物碱	四氢黄连碱 <sup>[16]</sup>	294.113 7, 176.070 2	C

\*与对照品比对确认的成分: A-苦参; B-青风藤; C-延胡索; D-知母。

\*compared with the reference substance; A-*Sophorae Flavescentis*; B-*Sinomenii Caulis*; C-*Corydalis Rhizoma*; D-*Anemarrhenae Rhizoma*.

**2.1.6 喹诺里西啶类生物碱** 加味清络颗粒中共分析指出 16 个喹诺里西啶类生物碱, 均来自苦参。喹诺里西啶类生物碱具有 2 个哌啶环共用 1 个氮原子稠合而成的基本骨架, 苦参中的喹诺里西啶类生物碱按骨架结构可分为 4 类<sup>[18]</sup>, 分别为苦参碱型(1、4、7、9、11、14、16、21、23、25)、金雀花碱型(3、6)、臭豆碱型(8、19)、羽扇豆碱型(5、12)。

苦参碱型生物碱是苦参中主要的生物碱类型, 此类化合物易在 C 环开环裂解, 产生丰度较强的 *m/z* 148, *m/z* 150 等特征碎片离子, 氧化苦参碱型生物碱还会产生 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 和 [M+H-OH]<sup>+</sup> 等离子; 金雀花碱型生物碱易发生 B 环和 C 环质谱裂

解, 可见 *m/z* 146 的特征碎片离子, 并具有特征紫外吸收波长 201、231、305 nm; 臭豆碱型生物碱裂解规律与金雀花碱型相似, 易发生 C 环的裂解, 产生 *m/z* 146、*m/z* 148 的特征碎片离子, 除此以外还会发生 D 环的裂解, 产生一系列偶数碎片离子, 与金雀花碱型有所区别; 羽扇豆碱型生物碱特征碎片离子为 11-12 键断裂产生的 *m/z* 150 碎片离子<sup>[18-19]</sup>。以苦参碱型生物碱苦参碱、槐果碱<sup>[18]</sup>为例, 图 2 和图 3 为苦参碱(21)、槐果碱(23)可能的裂解途径。

**2.1.7 苜基四氢异喹啉类生物碱** 加味清络颗粒中共分析指出 31 个苜基四氢异喹啉类生物碱, 分别来源于青风藤和延胡索, 包括吗啡烷类、小檗

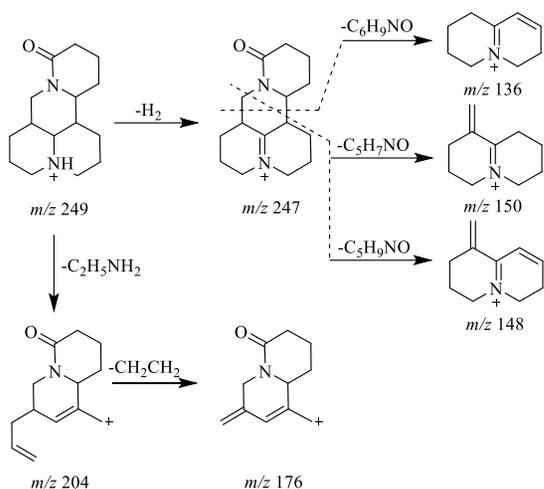


图2 苦参碱可能的裂解途径

Fig. 2 Possible fragmentation pathways of matrine

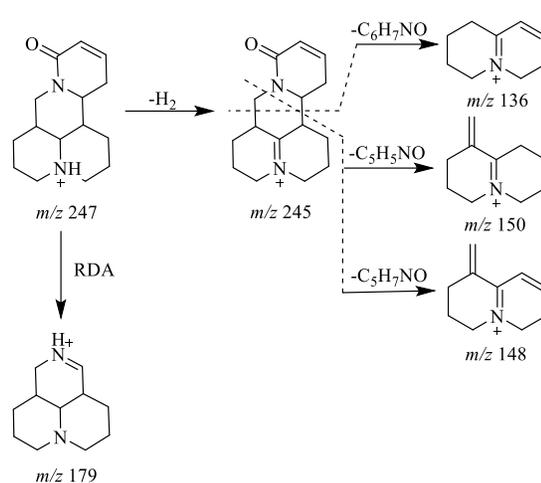


图3 槐果碱可能的裂解途径

Fig. 3 Possible fragmentation pathways of sophocarpine

碱类、原阿片碱类、阿朴啡类、苄基四氢异喹啉类。

吗啡烷类生物碱共鉴别出 5 个成分，分别为化合物 10、15、18、22、36。该类成分为含部分饱和和菲核的具四环基本骨架的结构，在质谱中会脱去-CH<sub>3</sub>CHNR<sub>1</sub>，并经过重排裂解脱去-CO、H<sub>2</sub> 等产生 *m/z* 120 以上的离子<sup>[20]</sup>。吗啡烷类生物碱含氮的环状结构易发生断裂失去氮及其所连取代基<sup>[21]</sup>，苯环上

失去-CO、-CH<sub>4</sub>O、-CH<sub>2</sub>O 形成三元环的结构<sup>[22]</sup>。以吗啡烷类生物碱青藤碱<sup>[20-21]</sup>为例，图 4 为青藤碱 (22) 可能的裂解途径。

小檗碱类生物碱共鉴别出 15 个成分，其中原小檗碱类 6 个 (28、30、32、37、38、40)，四氢原小檗碱类 9 个 (34、39、41、42、44、46、48~50)。该类成分基本骨架为 2 个异喹啉环稠合而成，原小

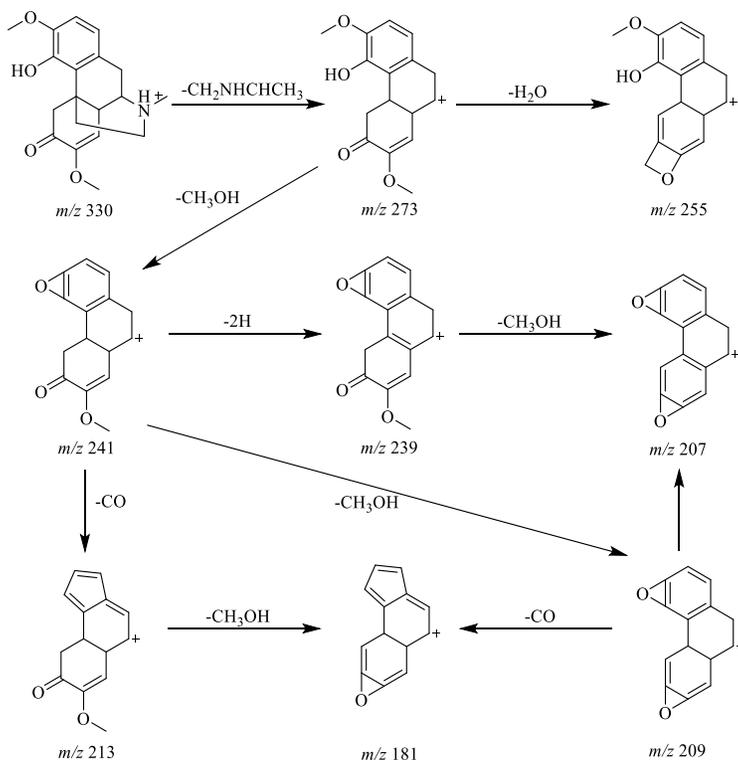


图4 青藤碱可能的裂解途径

Fig. 4 Possible fragmentation pathways of sinomenine

槲碱型生物碱无法发生 RDA 裂解，其产生的碎片离子较稳定且丰度较大，而四氢原小檗碱型生物碱可以发生 RDA 裂解，产生一分为二的互补离子，与原小檗碱型生物碱可以进行区分<sup>[23]</sup>。以四氢原小檗碱型生物碱延胡索乙素<sup>[16,23]</sup>、延胡索甲素<sup>[23]</sup>为例，图 5、6 为延胡索乙素（46）、延胡索甲素（49）的裂解规律。

原阿片碱类生物碱共鉴别出 2 个成分，分别为化合物 31、35。原阿片碱类生物碱是在普鲁托品母核骨架结构上在 C-10、C-11 位上连接了 -OMe 或 -OCH<sub>2</sub>O- 的环状结构<sup>[24]</sup>。该类成分也能发生 RDA 裂解，但与四氢原小檗碱型生物碱不同的是该类成分易脱水后再形成稳定丰度高的碎片离子<sup>[23]</sup>。以原阿片碱类生物碱原阿片碱<sup>[23]</sup>为例，图 7 为原阿片碱（35）的裂解规律。

阿朴啡类生物碱共鉴别出 7 个成分，分别为化合物 2、17、20、24、33、43、45。阿朴啡类生物碱的基本骨架是联苯型的四环结构，该类成分不能发生 RDA 裂解，且在  $m/z$  290~350 高端质谱区的碎片形态与原阿片碱类生物碱也有所不同，会失去甲基产生丰度较高的碎片离子，而没有低  $m/z$  的高

丰度离子<sup>[22-23]</sup>。以阿朴啡类生物碱蝙蝠葛任碱<sup>[20]</sup>为例，图 8 为蝙蝠葛任碱（17）的裂解规律。

苄基四氢异喹啉类生物碱共鉴别出 2 个成分，分别为化合物 13、26。该类成分的基本骨架为异喹啉环 1 位取代有苄基的结构，可发生  $\alpha$  裂解失去 -NH<sub>3</sub> 碎片，进一步可失去 -H<sub>2</sub>O 或 -CH<sub>3</sub>OH；或者可失去苄基得到碎片离子<sup>[22]</sup>。以苄基四氢异喹啉类生物碱 *N*-甲基网叶番荔枝碱<sup>[25]</sup>为例，图 9 为 *N*-甲基网叶番荔枝碱（13）的裂解规律。

**2.1.8 其他类型生物碱** 除以上各类成分外，加味清络颗粒中还鉴别出其他类成分，如延胡索中的元胡菲碱（47）、青风藤中的蝙蝠葛宁（29）、知母中的阿魏酰酪胺（27）等。

**2.2 加味清络颗粒生物碱类成分含量测定**

**2.2.1 色谱条件** 采用 Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5  $\mu$ m）；以乙腈为流动相 A，磷酸盐缓冲溶液（pH 5.8）为流动相 B，梯度洗脱（0~25 min，5% A；25~35 min，5%~7% A；35~50 min，7%~15% A；50~60 min，15%~19% A；60~80 min，19%~20% A；80~90 min，20%~35% A；90~115 min，35% A；115~120 min，35%~44% A；120~145

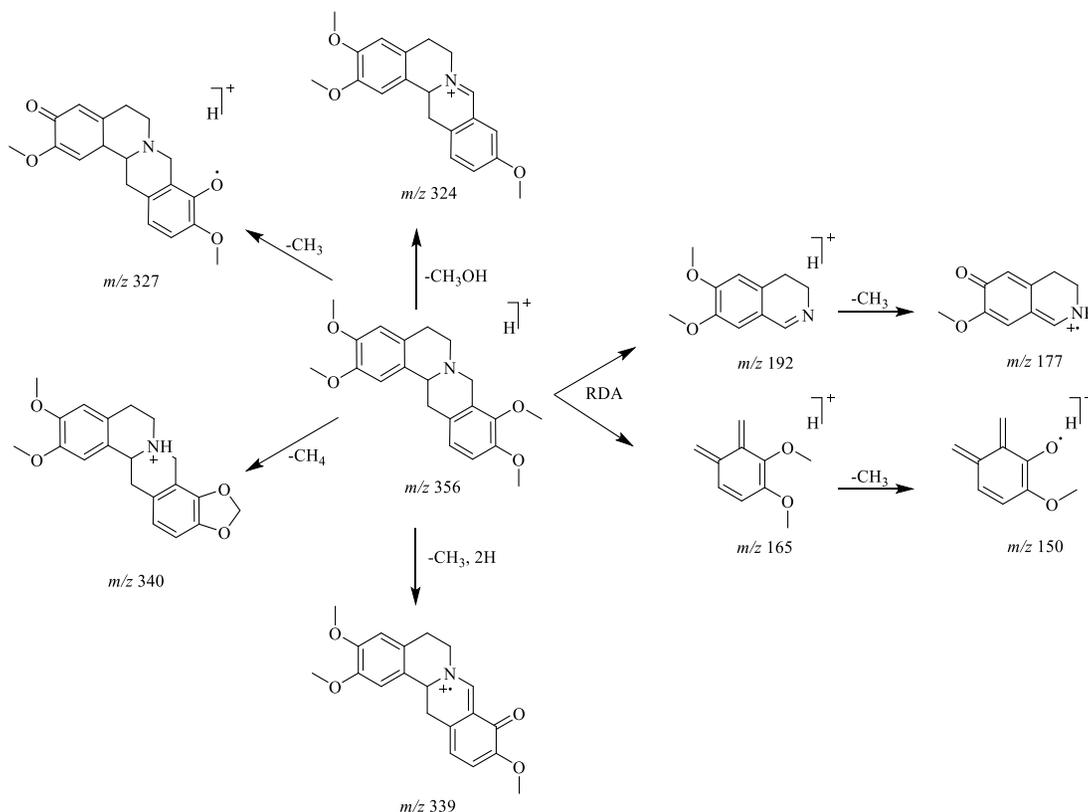


图 5 延胡索乙素可能的裂解途径

Fig. 5 Possible fragmentation pathways of tetrahydropalmatine

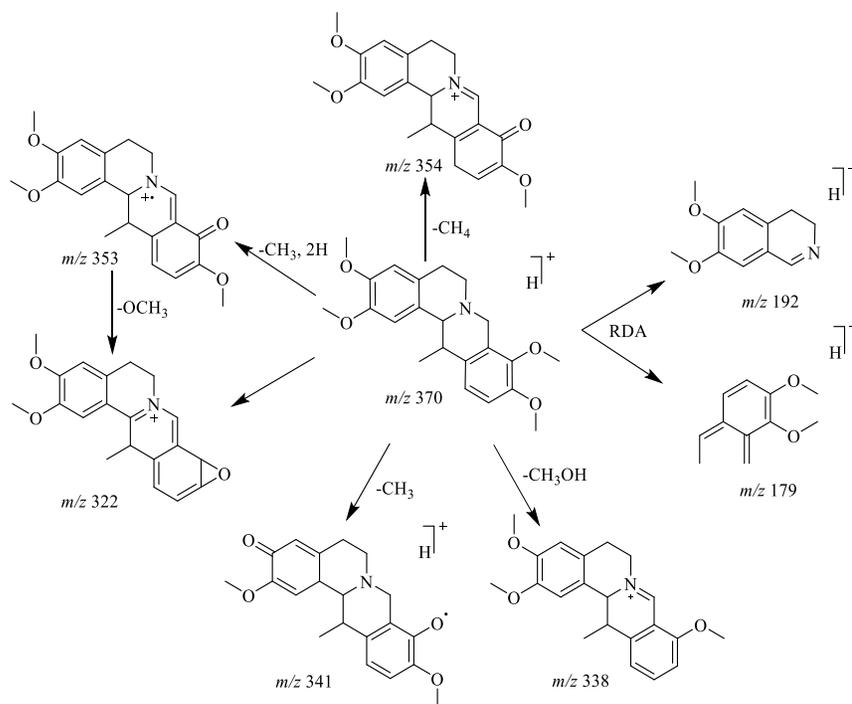


图6 延胡索甲素可能的裂解途径

Fig. 6 Possible fragmentation pathways of corydaline

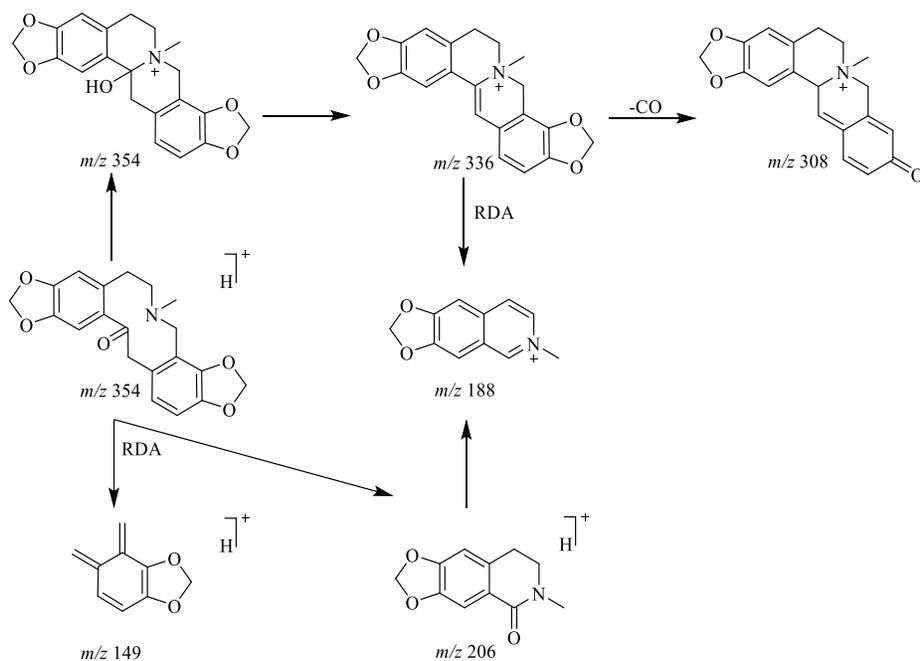


图7 原阿片碱可能的裂解途径

Fig. 7 Possible fragmentation pathways of protopine

min, 44%~48% A), 柱温 30 °C, 体积流量 0.9 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长 210 nm。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素对照品适量, 加甲醇溶解并定容至刻度, 制得

含苦参碱 798.8 μg/mL、槐果碱 345.0 μg/mL、青藤碱 911.3 μg/mL、原阿片碱 26.3 μg/mL、延胡索乙素 45.0 μg/mL、延胡索甲素 41.3 μg/mL 的混合对照品储备液。

**2.2.3 供试品及阴性样品溶液的制备** 取已研细

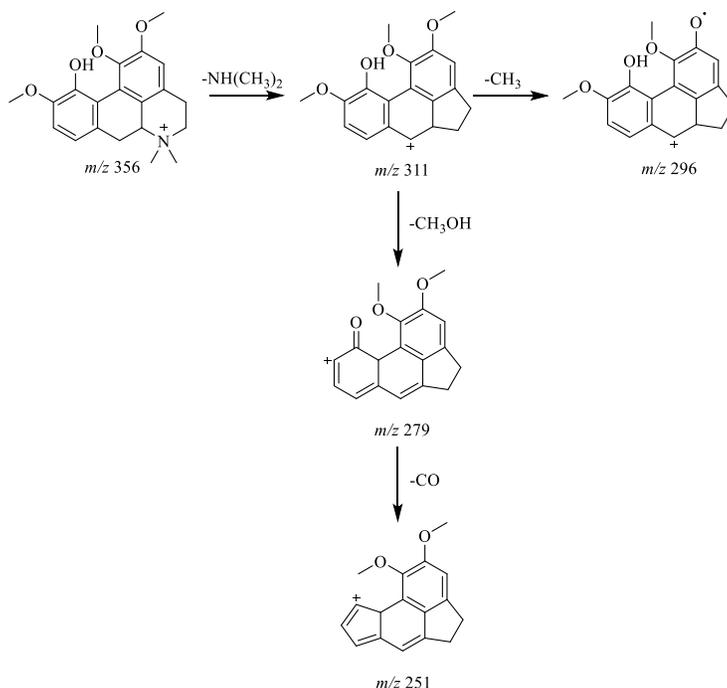


图8 蝙蝠葛任碱可能的裂解途径

Fig. 8 Possible fragmentation pathways of menisperine

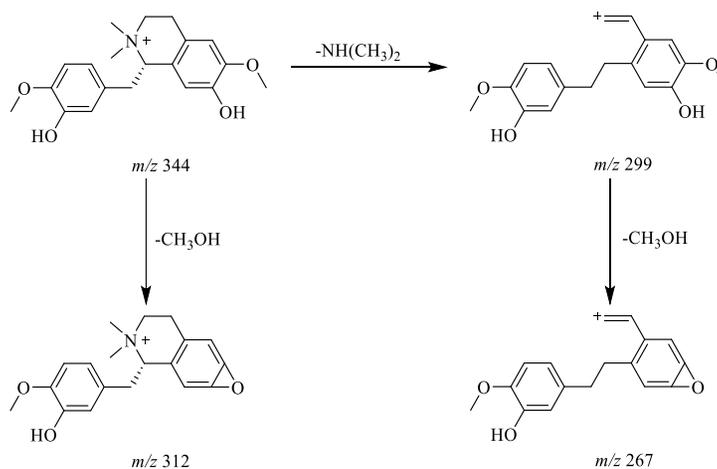


图9 N-甲基网叶番荔枝碱可能的裂解途径

Fig. 9 Possible fragmentation pathways of tembetarine

加味清络颗粒 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入纯净水 30 mL, 超声处理 15 min 使溶解 (功率 500 W、频率 40 kHz), 然后转移至分液漏斗中, 加入三氯甲烷萃取 5 次, 每次 30 mL, 合并三氯甲烷层, 蒸干, 残渣加入甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶中, 作为供试品溶液。同法制备缺青风藤、苦参、延胡索的阴性样品溶液。

**2.2.4 线性范围考察** 精密量取“2.2.2”项下混合对照品储备液 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0、4.0、10.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇制得系列标准曲

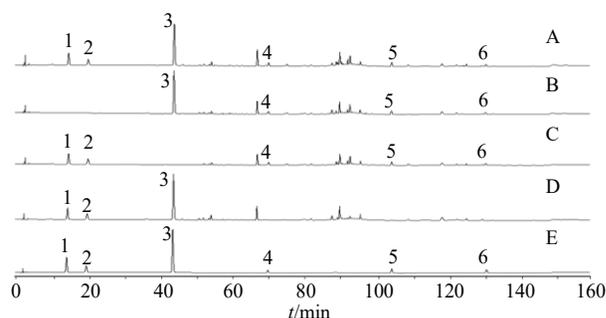
线浓度的混合对照品溶液 1~7, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。以待测成分的质量浓度为横坐标 (X)、峰面积值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线。结果显示, 苦参碱、青藤碱在 1~6 溶液浓度内 (苦参碱 8.0~319.4  $\mu\text{g/mL}$ , 青藤碱 9.2~366.0  $\mu\text{g/mL}$ ) 线性关系良好; 槐果碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素在 1~7 溶液浓度内 (槐果碱 3.2~320.7  $\mu\text{g/mL}$ 、原阿片碱 0.3~27.4  $\mu\text{g/mL}$ 、延胡索乙素 0.5~47.0  $\mu\text{g/mL}$ 、延胡索甲素 0.4~42.0  $\mu\text{g/mL}$ ) 线性关系良好,  $r$  均  $\geq 0.9999$ 。结果见表 2。

表 2 6种成分的回归方程、相关系数、线性范围

Table 2 Regression equation, correlation coefficient, and linear range of six components

成分	回归方程	r	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
苦参碱	$Y=19\ 188.83 X-4\ 777.92$	0.999 9	8.0~319.4
槐果碱	$Y=27\ 119.81 X+5\ 174.56$	0.999 9	3.2~320.7
青藤碱	$Y=44\ 623.79 X-24\ 674.28$	1.000 0	9.2~366.0
原阿片碱	$Y=87\ 252.11 X+886.14$	0.999 9	0.3~27.4
延胡索乙素	$Y=91\ 187.27 X-1\ 172.67$	1.000 0	0.5~47.0
延胡索甲素	$Y=86\ 913.70 X-966.72$	1.000 0	0.4~42.0

2.2.5 专属性考察 取“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液及阴性样品溶液，和“2.2.4”项下混合对照品溶液4，按“2.2.1”项下条件进样检测，记录色谱图，见图10。结果发现在苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的相应位置上，供试品溶液中均呈现相同保留时间的色谱峰，且阴性样品无干扰，表明方法专属性良好。



A-样品, B-缺苦参阴性样品, C-缺青风藤阴性样品, D-缺延胡索阴性样品, E-混合对照品, 1-苦参碱, 2-槐果碱, 3-青藤碱, 4-原阿片碱, 5-延胡索乙素, 6-延胡索甲素。

A-sample, B-negative sample without *Sophorae Flavescentis*, C-negative sample without *Sinomenii Caulis*, D-negative sample without *Corydalis Rhizoma*, E-mixed references, 1-matrine, 2-sophocarpine, 3-sinomenine, 4-protopine, 5-tetrahydropalmatine, 6-corydaline.

图 10 混合对照品、阴性样品及样品溶液的 HPLC 图

Fig. 10 HPLC of mixed references, negative sample and sample solution

2.2.6 精密度考察 精密吸取“2.2.4”项下混合对照品溶液3，连续测定6次，记录各待测成分的峰面积，计算RSD，结果混合对照品溶液中待测成分峰面积RSD均 $\leq 2\%$ ，结果表明仪器精密度良好，符合试验要求。

2.2.7 重复性考察 按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液并进样测定，计算各成分的含量及其RSD，结果苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的平均质量分数分别为1.834、0.779、2.301、0.072、0.097、0.074 mg/g，RSD

值分别为2.82%、2.86%、2.77%、1.57%、2.70%、3.57%，表明本方法重复性良好。

2.2.8 稳定性考察 取“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液分别于0、5、10、15、20、25、30、35、40、45 h进样分析，不同时间点供试品溶液中各待测成分苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素峰面积的RSD值分别为0.64%、0.60%、0.55%、0.79%、0.38%、1.14%，说明供试品溶液中各成分在45 h内稳定性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密称定样品0.15 g，平行操作9份，精密加入适量混合对照品溶液，对照品的加入量分别为样品中各成分质量分数的50%、100%、150%，每个浓度各3份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，测定，计算各待测成分加样回收率及其RSD。结果苦参碱、槐果碱、青藤碱、原阿片碱、延胡索乙素、延胡索甲素的平均加样回收率分别为94.32%、96.89%、97.83%、109.53%、99.32%、87.13%，RSD值分别为3.24%、4.99%、4.95%、4.85%、2.52%、5.95%。

2.2.10 6种成分测定结果 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件对3批加味清络颗粒(231001、231002、231003)样品进行6种成分的含量测定，结果见表3。

### 3 讨论

加味清络颗粒中生物碱类成分为君药青风藤、

表 3 3批加味清络颗粒6种成分含量测定结果

Table 3 Results of determination of six kinds of components from three batches of Jiawei Qingluo Granules

批号	苦参碱/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	槐果碱/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	青藤碱/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	原阿片碱/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	延胡索乙 素( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	延胡索甲 素( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
231001	1.67	0.81	2.19	0.11	0.14	0.11
231002	1.69	0.82	2.20	0.11	0.14	0.11
231003	1.61	0.77	2.14	0.10	0.14	0.11

苦参及臣药延胡索中的主要活性成分,经前期实验考察发现,加味清络颗粒中生物碱类成分难与其他类型成分共同检出,其提取及测定方法具有特殊性,因此本实验首次建立了加味清络颗粒中生物碱类成分的定性及定量测定方法。使用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,在加味清络颗粒中共鉴定和推测出 50 个生物碱成分,分别来自苦参、青风藤、延胡索、知母,包括有喹诺里西啉类生物碱、苜蓿四氢异喹啉类生物碱以及其他类生物碱成分等,同一类型的生物碱具有类似的裂解规律。本研究首次建立了同时测定制剂中青风藤、苦参、延胡索有效成分的 HPLC 含量测定方法,青藤碱是青风藤中含量最为丰富的成分,也是青风藤治疗 RA 的主要药效成分,有研究<sup>[26]</sup>表明青藤碱治疗 RA 可降低患者体内的炎症因子,具有良好的免疫抑制效果,并能够改善 RA 患者的临床症状;苦参中苦参碱对 RA 滑膜成纤维细胞的增殖、侵袭及细胞因子分泌具有抑制作用<sup>[27]</sup>,槐果碱能够减轻因 RA 所导致的炎症反应及关节组织损害<sup>[11]</sup>,二者占苦参总生物碱量的大头,基本可代表制剂中苦参的含量<sup>[28]</sup>;延胡索具有活血化瘀,理气止痛的功效,在本制剂中配合君药起到增强止痛的作用,延胡索生物碱类化合物延胡索乙素、延胡索甲素、原阿片碱等是其发挥药效作用的主要物质基础<sup>[29]</sup>。所选指标成分具有代表性,以上 6 种成分的含量可作为加味清络颗粒生物碱类成分质量控制的评价指标。

本实验前期对提取溶剂和提取方式进行了考察,最终采用加水使制剂充分溶解后,用三氯甲烷萃取的方法提取制剂中的生物碱为佳;实验中比较了各型号色谱柱,发现 Phenomenex Gemini 色谱柱对于目标成分分离效果最好,峰形良好,在缓冲盐流动相体系下耐受度较高,可长期使用作为生物碱含测色谱柱;本实验考察了多种流动相体系,最终采用了较为稳定的乙腈-磷酸缓冲盐流动相体系,并根据目标成分 pKa 值,选定缓冲盐溶液配制 pH 值为 5.8。经方法学考察,以上条件下目标成分峰型、分离度较好,保留时间稳定,流动相溶液配制步骤简单,供试品溶液稳定且目标成分提取率达标,该方法可行。本研究对加味清络颗粒中生物碱类成分进行了定性、定量分析,为加味清络颗粒后续物质基础研究、质量控制、制剂开发奠定了基础。

本研究基于加味清络颗粒各药味有效成分特点,重点关注了制剂中生物碱类化合物,并筛选出

其中代表性成分进行质量控制。因中药复方组成复杂,除生物碱外还有很多其他成分,如黄酮类化合物苦参总黄酮、刺五加总黄酮、筋骨草总黄酮等;二萜类化合物如豨莶草中的奇壬醇等;苯丙素类化合物如救必应中的紫丁香苷等;皂苷类化合物如知母中的知母皂苷等,难以在同一提取方法和色谱条件下与生物碱类化合物检出,后续将针对加味清络颗粒中其他药味有效成分,建立完善的质控体系。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 李梢,李艳.一种治疗风湿类疾病的中药加味清络饮:中国,CN110731997B [P]. 2022-02-01.
- [2] 世界中医药学会联合会骨质疏松专业委员会,上海中医药大学附属龙华医院,中日友好医院,教育部筋骨理论与治法重点实验室.类风湿关节炎中西医结合诊疗专家共识 [J]. 世界中医药, 2023, 18(7): 923-928.
- [3] 廖南西.加味清络饮治疗活动期类风湿关节炎疗效及对生存质量影响的临床观察 [D]. 芜湖:皖南医学院, 2020.
- [4] 王一苇.加味清络饮颗粒剂治疗活动期类风湿性关节炎的疗效观察 [D]. 芜湖:皖南医学院, 2019.
- [5] 王一苇,倪寅,纪超凡,等.基于疗效影响因素对加味清络饮治疗类风湿性关节炎临床预测模型与列线图绘制的初步探索 [J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 82-87.
- [6] 杨哲.加味清络饮治疗胶原诱导性大鼠关节炎的机制研究 [D]. 芜湖:皖南医学院, 2020.
- [7] 张昭,范为民,黄育芳,等.基于数据挖掘的李济仁教授治疗活动期类风湿关节炎用药规律分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(8): 221-225.
- [8] 陈舒茵,梁国成,秦辛.青风藤的化学成分与药理研究现状 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(3): 207-212.
- [9] 葛航,陈民.苦参碱相关制剂对类风湿关节炎影响的研究进展 [J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(6): 19-21.
- [10] 孙孝凤,王潇娅,杨阳,等.槐果碱抗炎镇痛作用及机制的研究进展 [J]. 医学综述, 2022, 28(8): 1515-1519.
- [11] Zhu L H, Zhu L Y. Sophocarpine suppress inflammatory response in human fibroblast-like synoviocytes and in mice with collagen-induced arthritis [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2017, 28(3): 120-126.
- [12] 邵敬宝,王群星,石楠,等.延胡索总生物碱的急性毒性及其镇痛作用研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2019, 43(10): 1156-1161.
- [13] 宿美凤,雒晓梅,王小明,等.基于UHPLC-MS/MS苦参实定性定量及其入血成分分析 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2041-2048.

- [14] Liu G Q, Dong J, Wang H, *et al.* Characterization of alkaloids in *Sophora flavescens* Ait. by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(5): 1065-1072.
- [15] Wang Y F, Gao X, Wang J J, *et al.* Identification and characterization of major alkaloid from *Sinomenium acutum* stem and their metabolites after oral administration in rat plasma, urine, bile and feces based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 220: 115005.
- [16] Zheng X J, Zheng W L, Zhou J J, *et al.* Study on the discrimination between *Corydalis Rhizoma* and its adulterants based on HPLC-DAD-Q-TOF-MS associated with chemometric analysis [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1090: 110-121.
- [17] Ren Q, Li Y F, Wu C S, *et al.* Metabolism of secondary metabolites isolated from Tartary buckwheat and its extract [J]. *Food Chem*, 2014, 154: 134-144.
- [18] 熊乐乐, 张静, 邓维. 苦参的主要成分及质谱裂解规律研究进展 [J]. *药品评价*, 2022, 19(13): 823-829.
- [19] 赵凤春. 苦参不同部位化学成分及含量差异研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2015.
- [20] 赵雪妍. 防己科植物黄藤与金果榄、青风藤与防己中生物碱类成分轮廓谱的建立及其差异性研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [21] 唐明, 高霞, 耿婷, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的七味通痹口服液化学成分分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(8): 2226-2236.
- [22] 尹茂静. 青风藤化学成分及生物活性研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2021.
- [23] 孙明谦. 中药复杂成分样品的电喷雾质谱分析方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [24] 江明达. 蒙药延胡索化学成分的分离鉴定及其抗炎活性分析 [D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2022.
- [25] 张武岗, 郎一帆, 姚云, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对藏药宽筋藤中生物碱类成分的快速辨识 [J]. *中草药*, 2023, 54(24): 7977-7988.
- [26] 钱鑫, 赵智明, 张蓓蓓, 等. 青藤碱对类风湿关节炎患者炎性细胞因子及免疫系统的影响 [J]. *中药材*, 2018, 41(5): 1226-1228.
- [27] 赖永旭. 苦参碱对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞生物学活性的影响 [J]. *四川医学*, 2015, 36(1): 21-24.
- [28] 房蕴歌, 朱厚达, 刘晓谦, 等. 苦参药材和饮片质量标准修订研究 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(8): 1756-1763.
- [29] 张铁军, 许浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(9): 1458-1467.

[责任编辑 王文倩]