

# 基于超高效液相色谱/四级杆-静电场轨道阱质谱的芩百清肺浓缩丸质量控制方法研究

辛 杨<sup>1,2</sup>, 于 洋<sup>2</sup>, 王海军<sup>3</sup>, 杨清竹<sup>4</sup>, 王伟明<sup>1\*</sup>

1. 黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036

2. 齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

3. 齐齐哈尔医学院全科医学与继续教育学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

4. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

**摘要:** 目的 建立芩百清肺浓缩丸(Qinbai Qingfei Concentrated Pills, QQCP)的质量控制方法。方法 正交试验优化 QQCP 中总生物碱、总黄酮、总皂苷的提取工艺; 采用超高效液相色谱/四级杆-静电场轨道阱质谱(UHPLC/Q-Exactive Orbitrap 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 3 类成分的检测条件, 依据色谱保留时间、精确质荷比、串联质谱数据, 实现化学成分定性检测; 对 13 个经对照品验证结构的化学成分进行定量方法学考察, 并测定其在 3 批次 QQCP 中的含量。结果 总生物碱的最优提取工艺为料液比 1:10、40 °C、60%乙醇、超声提取 4 次、每次 40 min, 总黄酮的最优提取工艺为料液比 1:400、70 °C、50%乙醇、超声提取 1 次、50 min, 总皂苷的最优提取工艺为料液比 1:30、60 °C、40%甲醇、超声提取 1 次、50 min; 按最优工艺获得的 QQCP 提取液中, 共定性检测到 72 个化学成分, 其中对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺、白杨素、槲皮素、汉黄芩素、千层纸素 A、黄芩苷、野黄芩苷、葛根素、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 实现了定量检测, 线性关系曲线的  $R^2$  均大于 0.995; 以上成分在 3 批次 QQCP 中的质量分数分别为 10.543~36.891、78.764~124.300、0.110~0.364、3.353~8.052、0.099~0.152、2.062~3.201、0.821~1.981、6.323~12.421、0.832~1.291、3.210~5.461、0.120~0.189、7.551~9.443、0.872~1.423  $\mu\text{g/g}$ 。结论 所建立的 UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS 检测方法可为 QQCP 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:** 超高效液相色谱/四级杆-静电场轨道阱质谱(UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS); 芩百清肺浓缩丸; 质量控制; 正交试验; 对叶百部碱; 芥酸酰胺; 硬脂酰胺; 白杨素; 槲皮素; 汉黄芩素; 千层纸素 A; 黄芩苷; 野黄芩苷; 葛根素; 去芹糖桔梗皂苷 D; 桔梗皂苷 D; 去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub>

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)20-6889-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.006

## Quality control of Qinbai Qingfei Concentrated Pills based on UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS

XIN Yang<sup>1,2</sup>, YU Yang<sup>2</sup>, WANG Haijun<sup>3</sup>, YANG Qingzhu<sup>4</sup>, WANG Weiming<sup>1</sup>

1. Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, Harbin 150036, China

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

3. School of General Medicine and Continuing Education, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China

4. College of Life Science and Agroforestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

**Abstract: Objective** To establish a quality control method for Qinbai Qingfei Concentrated Pills (QQCP). **Methods** Orthogonal test was conducted to optimize the extraction technology of total alkaloids, total flavonoids and total saponins in QQCP. Ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole-exactive orbitrap mass spectrometry (UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS) was used to detect the above three types of components after optimizing the detection conditions including liquid chromatography mobile phase,

收稿日期: 2024-04-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82174060); 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(145209505); 黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z19099)

作者简介: 辛 杨, 女(汉族), 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药复方药效物质基础研究。Tel: (0452)2738217 E-mail: cc.xinyang@163.com

\*通信作者: 王伟明, 女(汉族), 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药新药研发。Tel: (0451)55665478 E-mail: zyyjy@163.com

column temperature, gradient elution conditions, mass spectrometry resolution, spray voltage, etc. Components were qualified according to the retention time, accurate  $m/z$  and  $MS^2$  spectrum. Quantitative methodology was investigated based on 13 components which was confirmed by standards, and applied to quantify the targeted components in three batches of QQCP. **Results** The optimal extraction process for total alkaloids is liquid-to-solid ratio of 1:10, 40 °C, 60% ethanol, ultrasonic extraction for four times, 40 min/time; that for total flavonoids is liquid-to-solid ratio of 1:400, 70 °C, 50% ethanol, ultrasonic extraction for 1 time, 50 min; that for total saponins is liquid-to-solid ratio of 1:30, 60 °C, 40% methanol, ultrasonic extraction for 1 time, 50 min. There were total of 72 components which were qualified. A quantitative method, with satisfactory linearity and  $R^2 > 0.995$ , for 13 components which contained tuberostemonine, erucamide, stearamide, chrysin, quercetin, wogonin, oroxylin A, baicalin, scutellarin, puerarin, deapioplatycodin D, platycodin D and deapioplatycodin D<sub>3</sub>, were established. Their content in three batches of QQCP were 10.543—36.891, 78.764—124.300, 0.110—0.364, 3.353—8.052, 0.099—0.152, 2.062—3.201, 0.821—1.981, 6.323—12.421, 0.832—1.291, 3.210—5.461, 0.120—0.189, 7.551—9.443, 0.872—1.423  $\mu\text{g/g}$ , respectively. **Conclusion** The established UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS method can provide methodological basis for the quality control of QQCP as well as the quantitative analysis of related compounds.

**Key words:** UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS; Qinbai Qingfei Concentrated Pills; quality control; orthogonal test; tuberostemonine; erucamide; stearamide; chrysin; quercetin; wogonin; oroxylin A; baicalin; scutellarin; puerarin; deapioplatycodin D; platycodin D; deapioplatycodin D<sub>3</sub>

芩百清肺浓缩丸 (Qinbai Qingfei Concentrated Pills, QQCP) 是由黑龙江省中医药科学院自主研发, 由黄芩、百部、桔梗、紫菀、地龙、麦冬组成的中药复方制剂<sup>[1]</sup>, 为国家食品药品监督管理局批准的第 1 个用于临床治疗小儿肺炎支原体 (mycoplasma pneumoniae, MP) 肺炎<sup>[2]</sup>的中药新药, 疗效确切。动物实验研究表明, QQCP 能减轻 MP 感染小鼠肺组织损伤, 促进 MP 感染肺上皮细胞的修复<sup>[3]</sup>, 可通过降低肺组织中社区获得性呼吸窘迫综合征毒素 (community-acquired respiratory distress syndrome toxin, CARDS TX)、缓激肽受体 B2 (bradykinin receptor B2, BDKRB2) 的表达, 减缓咳嗽症状, 治疗 MP 肺炎<sup>[4]</sup>。

尽管 QQCP 疗效确切, 但尚缺乏质量控制方法, 鉴于中药复方是多组分协同作用发挥疗效, 制定基于多组分含量的质量控制标准与中药复方治病整体观念更为契合。因此, 开展本实验研究, 以期对 QQCP 的质量控制提供方法学参考。QQCP 中含有多种化学成分, 包括生物碱类、黄酮类、皂苷类等<sup>[5]</sup>, 研究发现, 方中的部分生物碱类成分具有强效止咳作用<sup>[6]</sup>, 黄芩苷、汉黄芩苷等黄酮类成分可显著减轻脂多糖诱导产生的炎症<sup>[7-8]</sup>, 桔梗总皂苷在体外具有抑制 MP 生长繁殖的作用<sup>[9]</sup>。可见, 生物碱类、黄酮类、皂苷类在 QQCP 治疗肺炎及缓解肺炎相关症状时发挥了重要作用。因此, 本实验以生物碱类、黄酮类、皂苷类成分为主要研究对象, 采用高效快速的超高效液相色谱/四级杆-静电场轨道阱质谱 (UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS) 技术<sup>[10]</sup>, 对经最优提取工艺获得的 QQCP 提取液进行 3 类成分的定

性与定量分析, 以制定 QQCP 多指标成分的质量控制方法, 为 QQCP 的质量控制提供方法学参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Ultimate3000/Q-Exactive 型超高效液相色谱静电场轨道阱质谱联用仪, 美国 Thermo Fisher 公司; TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; YM5-120D 型超声波清洗机、YML-100B 型恒温混匀仪, 上海豫明仪器有限公司; BAS124S 型分析天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; RF-02B 型旋转蒸发器, 上海况胜实业发展有限公司; TGL-16aR 型高速冷冻离心机, 上海安亭科技仪器厂; 色谱柱为 CSH C<sub>18</sub> 柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 美国 Waters 公司。

### 1.2 材料

QQCP 药粉, 批号 202201 用于方法学考察; 批号 230101、230102、230103 用于样品测定, 由黑龙江省中医药科学院制剂室提供。

对照品千层纸素 A (批号 231006)、汉黄芩素 (批号 230730)、葛根素 (批号 230903)、白杨素 (批号 230819)、野黄芩苷 (批号 231028)、槲皮素 (批号 231023)、桔梗皂苷 D (批号 231108)、去芹糖桔梗皂苷 D (批号 230831)、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> (批号 230921)、对叶百部碱 (批号 231107)、芥酸酰胺 (批号 231023)、硬脂酰胺 (批号 231205), HPLC 测定质量分数均  $\geq 98\%$ , 上海融禾医药科技发展有限公司; 对照品苯甲酰乌头原碱 (批号 111794-201705)、甘草苷 (批号 111610-201607), HPLC 测定质量分数均  $\geq 98\%$ , 中国食品药品检定研究院; 对照品黄

芩苷, HPLC 测定质量分数 $\geq 98\%$ , 批号 B10123, 北京普西唐生物科技有限公司。

甲醇, 分析纯, 批号 20220621, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 甲醇, 色谱纯, 批号 A-452-4, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 乙腈, 色谱纯, 批号 A-998-4, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 无水乙醇, 批号 20230224, 辽宁泉瑞试剂有限公司; 氨水, 批号 20221102, 天津市光复精细化工研究所。

## 2 方法与结果

### 2.1 QQCP 提取工艺优化

**2.1.1 对照品溶液的制备** 称取 10.0 mg 苯甲酰乌头原碱对照品, 乙醇溶解并配制成质量浓度分别为 10.0、12.5、20.0、25.0、30.0、50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列对照品溶液; 称取 10.0 mg 甘草苷对照品, 乙醇溶解并配制成质量浓度分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列对照品溶液; 称取 10.0 mg 桔梗皂苷 D 对照品, 甲醇溶解并配制成质量浓度分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列对照品溶液。

**2.1.2 样品溶液制备** 称取 QQCP 药粉(批号 202201) 100.0 mg, 加入 200  $\mu\text{L}$  氨水润湿后, 加入 5 mL 乙醇, 于 120 W、40 kHz、20  $^{\circ}\text{C}$  下超声 20 min, 1 次, 于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心(离心半径 10 cm) 10 min, 取上清液, 定容至 10 mL, 获得生物碱类成分提取液; 称取 QQCP 药粉(批号 202201) 100.0 mg, 加入 5 mL 乙醇, 于 120 W、40 kHz、20  $^{\circ}\text{C}$  下超声 20 min, 1 次, 于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心(离心半径 10 cm) 10 min, 取上清液, 定容至 10 mL, 获得黄酮类成分提取液; 称取 QQCP 药粉(批号 202201) 100.0 mg, 加入 5 mL 甲醇, 于 120 W、40 kHz、20  $^{\circ}\text{C}$  下超声 20 min, 1 次, 于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心(离心半径 10 cm) 10 min, 取上清液, 定容至 10 mL, 获得皂苷类成分提取液。

**2.1.3 测定波长选择** 取对照品溶液、样品溶液及空白溶剂, 在双光束紫外-可见分光光度计中, 选择光谱扫描模式, 于 300~900 nm 波长扫描, 结果样品溶液在与对照品溶液最大吸收波长相应处, 显示明显吸收峰, 即生物碱类成分、黄酮类成分、皂苷类成分分别在 231、270、317 nm 处有明显吸收, 与文献报道一致<sup>[11-14]</sup>, 而空白溶剂在相应波长处无吸收, 故确定生物碱类成分、黄酮类成分、皂苷类成分的测定波长分别为 231、270、317 nm。

**2.1.4 单因素实验样品的制备** 称取 QQCP 药粉 100.0 mg, 以料液比、超声时间、提取温度、提取次

数、提取溶剂中乙醇(或甲醇)体积分数为单因素, 分别选取 5 个水平, 对 QQCP 中总生物碱、总黄酮、总皂苷进行提取, 均平行制备 3 份。提取液于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心(离心半径 10 cm) 10 min, 取上清液, 定容至 10 mL, 备用。

总生物碱提取: 料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:30、1:50, 20 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:15, 超声提取时间分别为 20、30、40、50、60 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:15, 40 min, 提取温度分别为 20、30、40、50、60  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:15, 40 min, 30  $^{\circ}\text{C}$ , 提取次数分别为 1、2、3、4、5 次, 无水乙醇; 料液比 1:15, 40 min, 30  $^{\circ}\text{C}$ , 3 次, 乙醇体积分数分别为 20%、40%、60%、80%、100%。

总黄酮提取: 料液比分别为 1:100、1:200、1:300、1:400、1:500, 20 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:300, 超声提取时间分别为 20、30、40、50、60 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:300, 40 min, 提取温度分别为 30、40、50、60、70  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 无水乙醇; 料液比 1:300, 40 min, 60  $^{\circ}\text{C}$ , 提取次数分别为 1、2、3、4、5 次, 无水乙醇; 料液比 1:300, 40 min, 60  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 乙醇体积分数分别为 20%、30%、40%、50%、60%。

总皂苷提取: 料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50, 20 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 甲醇; 料液比 1:20, 超声提取时间分别为 20、30、40、50、60 min, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 甲醇; 料液比 1:20, 50 min, 提取温度分别为 20、30、40、50、60  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 甲醇; 料液比 1:20, 50 min, 50  $^{\circ}\text{C}$ , 提取次数分别为 1、2、3、4、5 次, 甲醇; 料液比 1:20, 50 min, 50  $^{\circ}\text{C}$ , 1 次, 甲醇体积分数分别为 20%、30%、40%、50%、60%。

**2.1.5 正交试验样品制备** 根据 3 类成分的单因素实验结果, 选择对含量影响较大的 4 因素, 以及各因素排序前 3 的水平开展正交试验, 利用正交试验平台设计  $L_9(3^4)$  实验, 分别确定总生物碱、总黄酮、总皂苷的最优提取工艺。

**2.1.6 单因素实验和正交试验结果与分析** 总生物碱、总黄酮、总皂苷提取工艺单因素实验结果见表 1。由表 1 可知, 相较于提取时间、提取温度、提取次数和乙醇体积分数, 料液比对总生物碱含量的影响较小, 后续正交试验方案中固定料液比为 1:10; 相较于料液比、提取温度、提取时间和乙醇体积分

表 1 3 类成分提取工艺单因素实验结果

Table 1 Single factor experiment results on extraction process of three types of components

料液比	总生物碱/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	超声时间/ min	总生物碱/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	总生物碱/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取次数	总生物碱/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	乙醇/%	总生物碱/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1 : 10	31.09±0.95	20	29.70±0.48	20	37.76±0.48	1	38.07±0.03	20	17.19±0.25
1 : 15	30.69±0.02	30	33.00±0.53	30	40.21±0.24	2	41.31±0.73	40	21.73±0.59
1 : 20	30.70±0.02	40	34.54±0.04	40	39.04±0.05	3	42.17±0.02	60	26.61±0.79
1 : 30	30.29±0.99	50	32.27±0.46	50	36.83±0.03	4	40.42±1.04	80	15.36±0.02
1 : 50	29.59±0.30	60	31.59±0.96	60	31.08±0.29	5	39.51±0.34	100	11.76±0.03

料液比	总黄酮/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	超声时间/ min	总黄酮/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	总黄酮/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取次数	总黄酮/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	乙醇/%	总黄酮/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1 : 100	18.86±0.02	20	16.09±0.12	30	22.05±0.17	1	9.34±0.02	20	15.68±0.21
1 : 200	24.30±0.07	30	30.71±0.25	40	22.97±0.13	2	9.14±0.13	30	22.30±0.10
1 : 300	27.78±0.06	40	33.30±0.23	50	22.72±0.03	3	8.68±0.26	40	22.87±0.10
1 : 400	24.55±0.04	50	29.74±0.28	60	26.27±0.63	4	8.16±0.07	50	21.89±0.04
1 : 500	24.52±0.10	60	24.51±1.22	70	23.00±0.74	5	8.65±0.05	60	18.46±0.17

料液比	总皂苷/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	超声时间/ min	总皂苷/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	总皂苷/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	提取次数	总皂苷/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	甲醇/%	总皂苷/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1 : 10	29.09±0.10	20	16.92±0.22	20	16.39±0.25	1	11.97±0.30	20	16.21±0.08
1 : 20	30.10±0.79	30	17.41±0.32	30	20.29±0.10	2	11.78±0.08	30	22.80±0.16
1 : 30	20.76±0.49	40	18.88±0.06	40	24.27±0.70	3	11.97±0.01	40	24.12±0.16
1 : 40	20.82±0.13	50	19.22±0.16	50	24.90±0.14	4	11.82±0.17	50	11.82±0.02
1 : 50	15.90±0.22	60	17.76±0.19	60	24.53±0.78	5	12.06±0.19	60	12.06±0.18

数, 提取次数对总黄酮含量的影响较小, 后续正交试验方案中固定提取次数为 1 次; 相较于料液比、提取温度、提取时间和甲醇体积分数, 提取次数对总皂苷含量的影响较小, 后续正交试验方案中固定提取次数为 1 次; 因此, 后续将选择除固定因素以外的 4 因素 3 水平正交设计开展 3 类成分的正交试验设计。总生物碱、总黄酮、总皂苷提取工艺正交试验的设计与结果分别见表 2~4, 方差分析见表 5~7。

由表 2 的极差 ( $R$ ) 及表 5 可知, 影响超声提取生物碱类成分的因素顺序为乙醇体积分数 > 提取温度 > 提取时间 > 提取次数, 表 5 结果提示以上因素对生物碱类成分的提取均无显著性影响, 因此通过直观分析结果获得最优提取工艺为 60% 乙醇、40  $^{\circ}\text{C}$ 、40 min、4 次、1 : 10。按最优提取工艺对 QQCP 进行提取验证, 设为第 10-1、10-2、10-3 组, 测定质量浓度大于 9 组正交试验结果。

由表 3 的  $R$  及表 6 可知, 影响超声提取黄酮类成分的因素顺序为提取温度 > 料液比 > 提取时间 > 乙醇体积分数, 表 6 结果提示以上因素对生物碱类成分的提取均无显著性影响, 因此通过直观分析结果获得最优提取工艺为 70  $^{\circ}\text{C}$ 、1 : 400、50 min、50%

表 2 超声提取生物碱类成分的  $L_9(3^4)$  正交试验设计与结果

Table 2 Orthogonal experiment  $L_9(3^4)$  of ultrasonic extraction of alkaloid components

试验号	提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	超声时间/ min	乙醇/ %	超声次数/ 次	质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1	20 (1)	30 (1)	40 (1)	2 (1)	13.63
2	20 (1)	40 (2)	60 (2)	3 (2)	23.38
3	20 (1)	50 (3)	20 (3)	4 (3)	19.65
4	30 (2)	30 (1)	60 (2)	4 (3)	23.07
5	30 (2)	40 (2)	20 (3)	2 (1)	20.68
6	30 (2)	50 (3)	40 (1)	3 (2)	19.22
7	40 (3)	30 (1)	20 (3)	3 (2)	20.31
8	40 (3)	40 (2)	40 (1)	4 (3)	22.85
9	40 (3)	50 (3)	60 (2)	2 (1)	25.03
$K_1$	56.66	57.01	55.70	59.34	
$K_2$	62.97	66.91	71.48	62.91	
$K_3$	68.19	63.90	60.64	65.57	
$R$	11.53	9.90	15.78	6.23	
10-1	40 (3)	40 (2)	60 (2)	4 (3)	32.48
10-2	40 (3)	40 (2)	60 (2)	4 (3)	32.35
10-3	40 (3)	40 (2)	60 (2)	4 (3)	32.27

乙醇、1 次。按最优提取工艺对 QQCP 进行提取验证, 设为第 10-1、10-2、10-3 组, 测定质量浓度大

表3 超声提取黄酮类成分的L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计与结果

**Table 3 Orthogonal experiment L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) of ultrasonic extraction of flavonoids**

试验号	提取温度/℃	料液比	提取时间/min	乙醇/%	质量浓度/(μg·mL <sup>-1</sup> )
1	50 (1)	1 : 200 (1)	30 (1)	30 (1)	5.10
2	50 (1)	1 : 300 (2)	40 (2)	40 (2)	5.97
3	50 (1)	1 : 400 (3)	50 (3)	50 (3)	7.53
4	60 (2)	1 : 200 (1)	40 (2)	50 (3)	7.07
5	60 (2)	1 : 300 (2)	50 (3)	30 (1)	7.56
6	60 (2)	1 : 400 (3)	30 (1)	40 (2)	7.25
7	70 (3)	1 : 200 (1)	50 (3)	40 (2)	7.48
8	70 (3)	1 : 300 (2)	30 (1)	50 (3)	7.74
9	70 (3)	1 : 400 (3)	40 (2)	30 (1)	7.79
K <sub>1</sub>	18.59	19.65	20.09	20.44	
K <sub>2</sub>	21.88	21.27	20.83	20.69	
K <sub>3</sub>	23.01	22.56	22.56	22.34	
R	4.42	2.91	2.47	1.90	
10-1	70 (3)	1 : 400 (3)	50 (3)	50 (3)	10.64
10-2	70 (3)	1 : 400 (3)	50 (3)	50 (3)	10.61
10-3	70 (3)	1 : 400 (3)	50 (3)	50 (3)	10.53

表4 超声提取皂苷类成分的L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计与结果

**Table 4 Orthogonal experiment of ultrasonic extraction of saponins L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)**

试验号	提取温度/℃	料液比	提取时间/min	甲醇/%	质量浓度/(μg·mL <sup>-1</sup> )
1	40 (1)	1 : 10 (1)	40 (1)	30 (1)	9.82
2	40 (1)	1 : 20 (2)	50 (2)	40 (2)	10.36
3	40 (1)	1 : 30 (3)	60 (3)	50 (3)	9.85
4	50 (2)	1 : 10 (1)	50 (2)	50 (3)	10.98
5	50 (2)	1 : 20 (2)	60 (3)	30 (1)	10.36
6	50 (2)	1 : 30 (3)	40 (1)	40 (2)	12.14
7	60 (3)	1 : 10 (1)	60 (3)	40 (2)	11.53
8	60 (3)	1 : 20 (2)	40 (1)	50 (3)	11.67
9	60 (3)	1 : 30 (3)	50 (2)	30 (1)	13.17
K <sub>1</sub>	30.03	32.33	33.63	33.35	
K <sub>2</sub>	33.48	32.38	34.51	34.03	
K <sub>3</sub>	36.37	35.16	31.74	32.49	
R	6.34	2.83	2.78	1.54	
10-1	60 (3)	1 : 30 (3)	50 (2)	40 (2)	17.79
10-2	60 (3)	1 : 30 (3)	50 (2)	40 (2)	17.68
10-3	60 (3)	1 : 30 (3)	50 (2)	40 (2)	17.64

于9组正交试验结果。

由表4的R及表7可知,影响超声提取皂苷类成分的因素顺序为提取温度>料液比>提取时间>甲醇体积分数,表7结果提示提取温度对皂苷类成

表5 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)回流提取生物碱正交方差分析

**Table 5 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal variance analysis of alkaloids extraction by reflux**

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
温度	22.223	2	3.411	9.000	
时间	17.171	2	2.636	9.000	
体积分数	43.435	2	6.667	9.000	
次数	6.515	2	1.000	9.000	

表6 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)回流提取黄酮正交方差分析

**Table 6 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal variance analysis of flavonoids extraction by reflux**

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
温度	3.495	2	4.976	9.000	
料液比	1.427	2	2.030	9.000	
时间	1.081	2	1.538	9.000	
体积分数	0.703	2	1.000	9.000	

表7 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)回流提取皂苷正交方差分析

**Table 7 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal variance analysis of saponins extraction by reflux**

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
温度	6.717	2	17.135	9.000	P<0.1
料液比	7.743	2	4.446	9.000	
时间	1.335	2	3.406	9.000	
体积分数	0.392	2	1.000	9.000	

分的提取具有显著性(P<0.1)影响,同时结合直观分析结果确定最优提取工艺为60℃、1:30、50min、40%甲醇、1次。按最优提取工艺对QQCP进行提取验证,设为第10-1、10-2、10-3组,测定质量浓度大于9组正交试验结果。

## 2.2 QQCP化学成分分析

### 2.2.1 色谱条件

(1)生物碱类成分:色谱柱为CSH C<sub>18</sub>柱(50mm×2.1mm, 1.7μm);柱温25℃;流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液;梯度洗脱:0~2min, 10%乙腈;2~14min, 10%~22%乙腈;14~20min, 22%~25%乙腈;20~28min, 25%~40%乙腈;28~40min, 40%~70%乙腈;40~48min, 70%~88%乙腈;48~54min, 88%~100%乙腈;体积流量0.3mL/min,进样量5μL。

(2)黄酮类成分:色谱柱为CSH C<sub>18</sub>(50mm×2.1mm, 1.7μm)柱;柱温30℃;流动相为乙腈-水;梯度洗脱:0~2min, 2%乙腈;2~4min, 2%~3%乙腈;4~9min, 3%~6%乙腈;9~15min, 6%~12%乙腈;15~22min, 12%~22%乙腈;22~30min,

22%~28%乙腈; 30~38 min, 28%~40%乙腈; 38~58 min, 40%~90%乙腈; 58~67 min, 90%~100%乙腈; 68 min, 100%乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 5  $\mu$ L。

(3) 皂苷类成分: 色谱柱为 CSH C<sub>18</sub> (50 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu$ m) 柱; 柱温 35  $^{\circ}$ C; 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液; 梯度洗脱: 0~2 min, 2%乙腈; 2~9 min, 2%~6%乙腈; 9~25 min, 6%~20%乙腈; 25~60 min, 20%~90%乙腈; 30~62 min, 90%~100%乙腈; 62~66 min, 100%乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 5  $\mu$ L。

### 2.2.2 质谱条件

(1) 生物碱类成分: 扫描模式: Full mass/dd-MS<sup>2</sup>, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300  $^{\circ}$ C, 喷雾电压 4.0 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

(2) 黄酮类成分: 扫描模式: Full mass/dd-MS<sup>2</sup>, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300  $^{\circ}$ C, 喷雾电压-3.5 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

(3) 皂苷类成分: 扫描模式: Full mass/dd-MS<sup>2</sup>, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300  $^{\circ}$ C, 喷雾电压 4.0 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

2.2.3 对照品溶液的制备 分别称取芥酸酰胺 1 mg、硬脂酰胺 1 mg、对叶百部碱 1 mg, 精密称定, 甲醇定容至 5 mL, 各吸取 1 mL 对照品溶液加入 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 得生物碱类成分混合对照品溶液; 分别称取汉黄芩素、野黄芩苷、葛根素、槲皮素、白杨素、黄芩苷各 1 mg, 精密称定, 甲醇定容至 10 mL, 配制成单标溶液, 分别吸取 100  $\mu$ L 单标溶液加入至 10 mL 量瓶中, 甲醇定容得黄酮类成分混合对照品溶液, 由于汉黄芩素与千层纸素 A 为同分异构体, 因此为便于鉴定, 另称取 1 mg 千层纸

素 A, 精密称定, 用甲醇溶解配制成 0.001 mg/mL 的单标溶液; 分别称取桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 各 1 mg, 精密称定, 甲醇定容至 10 mL, 配制成单标溶液, 分别吸取 100  $\mu$ L 单标溶液加入至 10 mL 量瓶中, 甲醇定容得皂苷类成分混合对照品溶液。上述各类成分混合对照品溶液经 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜滤过后, 用于液-质检测。

2.2.4 QQCP 提取液的制备 称取 QQCP 0.1 g, 生物碱类提取部位按表 2 中最优工艺提取, 离心, 取上清液; 黄酮类提取部位按表 3 中最优工艺提取, 离心, 取上清液; 皂苷类提取部位按表 4 中最优工艺提取, 离心, 取上清液。以上上清液均于 75  $^{\circ}$ C 水浴蒸干后用 2 mL 甲醇复溶, 用于液-质检测。

2.2.5 成分分析 利用 PubChem 数据库、化学专业数据库、化源网数据库、mzCloud 数据库、Chemspider 数据库, 对 QQCP 中黄芩、百部、桔梗、紫菀、地龙、麦冬 6 味中药中的化学成分信息进行搜集, 包括成分 CAS 号、分子式、结构式和相对分子质量, 以及通过 HMDB 数据库与文献获得化学成分的二级质谱信息, 建立以生物碱类、黄酮类、皂苷类成分为主, 同时含有其他类成分的化学成分数据库。利用 Xcalibur 软件获得各化学成分一级提取色谱图与二级质谱图, 据  $m/z$  值、保留时间、二级质谱数据, 参照文献及标准对照品色谱、质谱数据, 对化学成分数据库中的全部化学成分进行结构鉴定。鉴定过程如下: 以化合物 C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>4</sub> 为生物碱类成分鉴定举例, 其在正离子模式下 [M+H]<sup>+</sup> 为 376.247 7, 保留时间为 4.36 min, MS<sup>2</sup> 碎片离子为 302.211 0、276.196 0, 与参考文献中数据 376.248 2、302.211 5、276.195 8 一致, 推测化合物 C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>4</sub> 为对叶百部碱, 其样品溶液的二级质谱图见图 1-a。以化合物 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> 为黄酮类成分鉴定过程举例, 其在负离子模式下 [M-H]<sup>-</sup> 为 253.050 5, 保留时间为 35.03 min, MS<sup>2</sup> 碎片离子为 209.060 3、143.048 9、

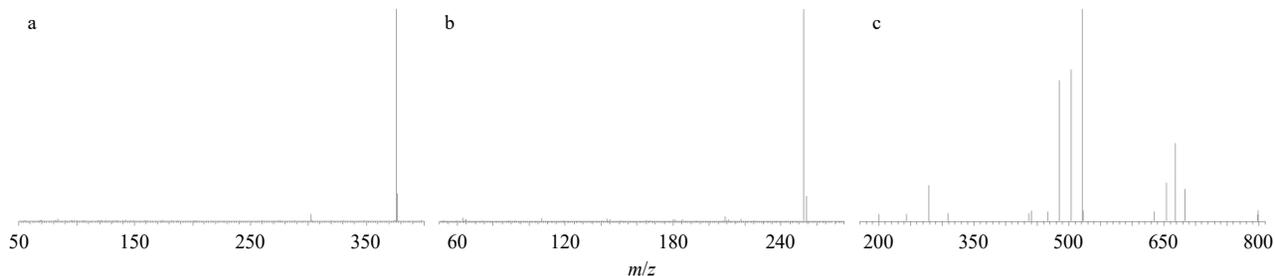


图 1 QQCP 中对叶百部碱 (a)、白杨素 (b)、去芹糖桔梗皂苷 D (c) 的二级质谱图

Fig. 1 MS<sup>2</sup> spectrum of tuberostrongonine (a), chrysin (b), deapioplatycodin D (c) in QQCP

107.012 2, 参考文献中数据 209.060 2、143.049 1、107.012 8, 经对照品验证, 确定化合物 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> 为白杨素, 其样品溶液的二级质谱图见图 1-b。以化合物 C<sub>52</sub>H<sub>84</sub>O<sub>24</sub> 为皂苷类成分鉴定举例, 其在正离子模式下[M+H]<sup>+</sup>为 1 093.540 8, 保留时间为 29.81 min, MS<sup>2</sup> 碎片离子为 683.398 1、503.336 6、485.326 0、279.107 7, 参考文献中数据 683.401 7、503.336 4、

485.336 6、279.108 8, 推测化合物 C<sub>52</sub>H<sub>84</sub>O<sub>24</sub> 为去芹糖桔梗皂苷 D, 其样品溶液的二级质谱图见图 1-c。

按以上方法共鉴定得到 72 个成分, 其中生物碱类 19 个, 黄酮类 40 个、皂苷类 8 个, 其他类 5 个, 成分信息详见表 8。其中, 生物碱类成分中有 16 个来自于百部, 3 个来自于黄芩; 黄酮类成分中有 34 个来自于黄芩, 2 个来自于麦冬, 1 个来自于桔梗,

表 8 化学成分信息

Table 8 Detailed information of identified components

编号	离子模式	t <sub>R</sub> /min	化合物	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	质量偏差 (×10 <sup>-6</sup> )	分子式	碎片离子	成分来源
1	+	0.46	半边莲碱 A <sup>[15]</sup>	256.118 0	256.117 9	0.39	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	256.118 0, 226.090 5	黄芩
2	+	2.17	tuberospironine <sup>[5]</sup>	338.196 0	338.196 2	-0.59	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub>	338.196 0, 320.185 5, 264.159 3, 246.148 4, 236.164 4	百部
3	+	2.47	金刚大碱 <sup>[5]</sup>	322.201 1	322.201 3	-0.62	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub>	322.201 1, 248.164 4, 230.153 5, 174.127 6	百部
4	+	2.83	脱氢金刚大碱 <sup>[5]</sup>	320.185 5	320.185 6	-0.31	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	320.185 5, 246.148 4	百部
5	+	2.95	新斯替宁碱 <sup>[16]</sup>	278.211 4	278.211 5	-0.36	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	278.211 4, 204.175 3, 136.076 3	百部
6	+	3.47	oxygenated berberine <sup>[5]</sup>	408.234 0	408.238 1	-10.04	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>6</sub>	408.234 0, 390.227 1, 372.216 8, 344.235 1, 316.190 6, 298.180 0	百部
7	+	3.58	sessilifoliamide B <sup>[5]</sup>	294.206 2	294.206 4	-0.68	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>3</sub>	294.206 2, 276.195 3, 248.110 8	百部
8	+	4.36	对叶百部碱 <sup>[5,16-17]</sup>	376.247 7	376.248 2	-1.33	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>4</sub>	376.248 1, 302.211 0, 276.196 9	百部
9	+	4.69	百部新碱 <sup>[17]</sup>	390.227 2	390.227 5	-0.77	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>5</sub>	390.227 2, 372.216 6, 316.190 5, 272.163 8	百部
10	+	5.23	sessilistemonamine A <sup>[5]</sup>	392.242 8	392.243 1	-0.76	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>5</sub>	392.242 8, 374.232 2, 300.194 9	百部
11	+	6.32/14.15	cochinchistemoninone <sup>[5]</sup>	410.252 7	410.253 7	-2.44	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>6</sub>	410.252 7, 392.242 3, 374.232 6, 364.247 7, 318.206 4	百部
12	-	7.43	绿原酸 <sup>[18]</sup>	353.087 7	353.087 8	-0.28	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 7, 161.023 4	桔梗
13	+	8.36	对叶百部酮碱 <sup>[5]</sup>	420.238 2	420.238 1	0.24	C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>6</sub>	420.238 2, 388.211 8, 360.179 7, 346.201 9	百部
14	-	9.64	3-O-反式香豆酰基奎宁酸 <sup>[18]</sup>	337.093 2	337.092 9	0.89	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	337.093 2, 191.055 2, 119.048 9	桔梗
15	-	13.77	3,5,7,2',6'-五羟基黄酮 <sup>[19]</sup>	303.050 9	303.051 0	-0.33	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	303.050 9, 177.018 4, 149.023 2, 125.023 1	黄芩
16	-	13.79	葛根素 <sup>[20]</sup>	415.103 1	415.103 5	-0.96	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	415.103 1, 325.070 8, 295.061 6, 267.066 7	黄芩
17	+	14.88	对叶百部新碱 <sup>[5]</sup>	336.180 5	336.180 5	0.00	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	336.180 5, 318.170 0, 308.184 2, 290.175 0, 262.143 8	百部
18	-	15.51	野黄芩苷 <sup>[19,21]</sup>	461.072 5	461.072 5	0.00	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	285.040 1, 267.030 4, 239.033 7	黄芩
19	-	18.00	槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[19]</sup>	477.066 3	477.067 5	-2.52	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	477.066 3, 301.035 6, 151.002 8, 178.997 4, 107.012 4, 163.236 1	紫菀
20	-	18.14	黄芩苷 <sup>[19,21]</sup>	445.078 9	445.077 6	2.92	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	445.078 9, 269.045 4, 241.057 1, 225.054 2, 197.059 5	黄芩
21	-	18.20/19.07/19.58	白杨素 6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	547.145 8	547.145 7	0.18	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	547.145 8, 457.115 0, 427.102 5, 367.082 2, 337.071 7, 281.081 6	黄芩
22	-	18.29	异高山药素-8-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[19]</sup>	461.071 9	461.072 5	-1.30	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	461.071 9, 213.055 0, 241.050 7, 285.040 4	黄芩
23	-	18.45	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[19]</sup>	445.076 5	445.077 6	-2.47	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	445.076 5, 269.045 4, 117.017 8	黄芩
24	-	18.45	去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[19]</sup>	445.076 5	445.077 6	-2.47	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	445.076 5, 269.045 4, 241.049 1, 197.060 1	黄芩
25	-	18.46	去甲汉黄芩素 <sup>[15]</sup>	269.045 6	269.045 5	0.37	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	269.045 6, 225.054 8, 197.059 8, 169.064 9	黄芩
26	-	18.93	白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[15,19]</sup>	429.081 5	429.082 7	-2.80	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	429.081 5, 253.050 4, 209.058 9, 175.023 8	黄芩
27	-	18.96	5,6,7,3',4'-五羟基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[19]</sup>	479.086 3	479.083 1	6.68	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	479.086 3, 303.050 2, 285.040 1	黄芩
28	-	19.65/20.34	5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[19]</sup>	475.088 9	475.088 2	1.47	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	475.088 9, 299.055 9, 284.032 4	黄芩
29	-	19.71	四羟基甲氧基黄酮 <sup>[15]</sup>	315.051 6	315.051 0	1.90	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	315.051 6, 300.027 5	黄芩
30	-	20.02	白杨素 8-C-葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	415.103 7	415.103 5	0.48	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	415.103 7, 295.060 9	黄芩
31	-	20.05	三羟基二甲氧基黄酮葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	493.131 9	493.134 1	-4.46	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	493.131 9, 373.091 4, 331.080 7	黄芩
32	-	20.48	汉黄芩苷 <sup>[19]</sup>	459.093 3	459.093 3	0.00	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	459.093 3, 283.061 2, 268.037 8, 175.023 8, 137.023 3, 113.023 0	黄芩
33	-	20.52	三羟基-甲氧基-O-黄酮 <sup>[19]</sup>	475.085 3	475.088 2	-6.10	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	475.085 3, 299.055 1, 284.032 3	黄芩

表 1 (续)

编号	离子模式	<i>t<sub>R</sub></i> /min	化合物	测定值 ( <i>m/z</i> )	理论值 ( <i>m/z</i> )	质量偏差 ( $\times 10^{-6}$ )	分子式	碎片离子	成分来源
34	+	20.67	对叶百部新醇 B <sup>[5]</sup>	406.222 6	406.222 4	0.49	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>6</sub>	406.222 6, 388.211 1, 306.174 1	百部
35	-	21.28	木犀草素 <sup>[19]</sup>	285.040 6	285.040 5	0.35	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.040 6, 151.002 3	紫菀
36	-	21.28/21.38	5,7,2',6'-四羟基黄酮 <sup>[15]</sup>	285.040 6	285.040 5	0.35	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.040 6, 241.051 1, 151.002 3, 107.012 6	黄芩
37	-	21.57	四羟基黄酮 <sup>[19]</sup>	287.056 1	287.056 1	0.00	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	287.056 1, 125.023 1	黄芩
38	-	22.15/28.72	粘毛黄芩素 III <sup>[15]</sup>	345.061 2	345.061 6	-1.16	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	345.061 2, 345.061 6, 330.038 2, 315.014 6	黄芩
39	-	22.21	芹菜素 <sup>[20]</sup>	431.098 4	431.098 4	0.00	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.099 7, 269.045 5	黄芩
40	-	23.24	acuminoside <sup>[19]</sup>	447.225 0	447.223 6	3.13	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>10</sub>	447.225 0, 113.023 0, 99.007 4, 89.023 1, 73.028 0, 71.012 2, 59.012 4	紫菀
41	-	24.31	千层纸素 A-7-O-葡萄糖苷 <sup>[19]</sup>	445.113 4	445.114 0	-1.35	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	445.113 4, 283.060 5, 268.037 4	黄芩
42	-	25.04	槲皮素 <sup>[20]</sup>	301.035 8	301.035 4	1.33	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	301.035 8, 149.022 8, 125.023 1	黄芩、桔梗、紫菀
43	-	25.34	大波斯菊苷 <sup>[18]</sup>	431.098 1	431.098 4	-0.70	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.098 1, 268.037 7	桔梗
44	-	25.73	黄曲霉毒素 G <sub>2</sub> <sup>[20]</sup>	329.066 5	329.066 7	-0.61	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	329.066 5, 314.043 2, 299.019 5	黄芩
45	+	25.92	dehydrogen baicaline <sup>[5]</sup>	386.196 3	386.196 2	0.26	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub>	386.196 3, 368.185 5, 340.190 8, 312.159 5	百部
46	-	27.77/28.69	三羟基甲氧基黄酮 <sup>[15]</sup>	299.056 1	299.056 1	0.00	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	299.056 2, 284.032 5	黄芩
47	+	28.10	去芹糖桔梗皂苷 D <sub>3</sub> <sup>[18]</sup>	1 255.596 2	1 255.595 4	0.64	C <sub>58</sub> H <sub>94</sub> O <sub>29</sub>	1 255.596 2, 799.439 9, 295.107 1	桔梗
48	-	28.23/28.4	三羟基三甲氧基黄酮 <sup>[15]</sup>	359.076 8	359.077 2	-1.11	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359.076 8, 344.053 4, 329.031 6	黄芩
49	-	28.66	三羟基二甲氧基黄酮 <sup>[15]</sup>	329.066 3	329.066 7	-1.22	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	329.066 3, 314.043 5, 299.019 3	黄芩
50	+	29.7	neotuberostemonol A/B <sup>[5]</sup>	388.211 6	388.211 8	-0.52	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>5</sub>	388.211 6, 370.201 1, 314.174 9, 300.159 2	百部
51	+	29.81	去芹糖桔梗皂苷 D <sup>[18]</sup>	1 093.540 8	1 093.542 5	-1.55	C <sub>52</sub> H <sub>84</sub> O <sub>24</sub>	1 093.540 8, 683.398 1, 503.336 6, 485.326 0, 279.107 7	桔梗
52	+	29.95	桔梗皂苷 F <sup>[18]</sup>	961.501 3	961.500 3	1.04	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>20</sub>	961.501 3, 485.326 3	桔梗
53	+	29.96	3-O-β-葡萄糖苷-桔梗皂苷元 <sup>[18]</sup>	683.398 7	683.400 1	-2.05	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>12</sub>	683.398 7, 405.313 2, 135.080 8	桔梗
54	+	29.98	桔梗皂苷 D <sup>[18]</sup>	1 225.586 5	1 225.584 8	1.39	C <sub>57</sub> H <sub>92</sub> O <sub>28</sub>	1 225.586 5, 799.439 9, 683.397 9, 667.405 5, 521.346 9, 503.337 9, 485.326 8	桔梗
55	+	30.15	桔梗皂苷 A <sup>[18]</sup>	1 265.599 0	1 265.595 4	2.84	C <sub>59</sub> H <sub>94</sub> O <sub>29</sub>	1 265.599 0, 171.065 5	桔梗
56	+	30.17	桔梗炔苷 A <sup>[22]</sup>	1 265.583 9	1 265.580 8	2.45	C <sub>59</sub> H <sub>94</sub> O <sub>29</sub>	1 265.583 9, 681.385 2	桔梗
57	-	30.24	5,8,2'-trihydroxy-6,7-dimethoxyflavonoid <sup>[20]</sup>	330.071 7	330.073 4	-5.15	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> O <sub>7</sub>	330.071 7, 316.057 1, 301.033 9	黄芩
58	+	30.61	bisdehydroneotuberostemonine <sup>[5]</sup>	372.216 6	372.216 9	-0.81	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>4</sub>	372.216 6, 328.226 6, 298.179 8, 280.169 6, 272.163 8, 254.189 7	百部
59	-	31.48	三棱酸 <sup>[18]</sup>	329.233 4	329.233 3	0.30	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	329.233 4, 293.213 4, 211.133 4	桔梗
60	-	33.73/37.18	黄芩黄酮 I <sup>[19]</sup>	343.082 4	343.082 3	0.29	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	343.082 4, 328.059 8, 313.035 4, 285.039 3	黄芩
61	-	34.18	汉黄芩素 <sup>[5]</sup>	283.061 0	283.061 2	-0.71	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1, 268.037 8, 239.035 0, 163.002 5	黄芩
62	-	34.24/35.70	藜黄素 <sup>[20]</sup>	314.074 2	314.078 5	-13.69	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub>	314.074 2, 300.062 0, 285.038 6, 213.057 6	黄芩
63	-	35.03	白杨素 <sup>[19,21]</sup>	253.050 5	253.050 6	-0.40	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	253.050 3, 209.060 0, 143.049 0, 107.012 4	黄芩
64	-	35.25	黄芩黄酮 II <sup>[19]</sup>	373.092 8	373.092 9	-0.27	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	373.092 8, 343.045 5, 328.022 5, 300.026 4	黄芩
65	-	35.31	三羟基四甲氧基黄酮 <sup>[15]</sup>	389.088 3	389.087 8	1.29	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	389.088 3, 374.064 1, 359.040 5	黄芩
66	-	35.39	千层纸素 A <sup>[19]</sup>	283.061 1	283.061 2	-0.35	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 4, 268.038 0, 239.034 9, 165.989 6	黄芩
67	-	35.39/34.14	5,7,4'-三羟基高异黄酮 <sup>[23]</sup>	283.061 1	283.061 2	-0.35	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1, 268.037 7, 239.034 4, 184.052 2	麦冬
68	-	37.79	麦冬黄酮 E <sup>[24]</sup>	359.114 1	359.113 6	1.39	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	359.114 1, 344.091 2, 208.037 6, 154.025 7	麦冬
69	+	39.59	升麻酸 D <sup>[18]</sup>	419.098 0	419.097 3	1.67	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	419.098 0, 358.201 3, 151.738 3	桔梗
70	+	44.73	硬脂酰胺 <sup>[20]</sup>	284.294 5	284.294 2	1.06	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO	-	黄芩
71	+	48.65	芥酸酰胺 <sup>[20]</sup>	338.341 7	338.341 7	0.26	C <sub>22</sub> H <sub>43</sub> NO	-	黄芩
72	+	49.78/50.33	单棕榈酸甘油酯 <sup>[18]</sup>	331.284 7	331.284 3	1.21	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	331.284 7, 313.273 6, 239.236 9	桔梗

\*表示经对照品验证成分。

\* represents the components verified by standards.

2 个来自于紫菀, 1 个为黄芩、桔梗、紫菀的共有成分; 皂苷类成分中有 7 个来自于桔梗, 1 个来自于紫菀; 5 个其他类成分均来自于桔梗。

### 2.3 QQCP 中化学成分含量测定

#### 2.3.1 色谱条件 同“2.2.1”项下。

#### 2.3.2 质谱条件

(1) 生物碱类成分: 扫描模式: Target-SIM scan, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300 °C, 喷雾电压 4.0 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

(2) 黄酮类成分: 扫描模式: Target-SIM scan, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300 °C, 喷雾电压-3.5 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

(3) 皂苷类成分: 扫描模式: Target-SIM scan, 扫描范围  $m/z$  100~1 500, 分辨率 17 500, 毛细管温度 300 °C, 喷雾电压 4.0 kV, 鞘气体积流量 35 L/h, 透镜电压 50 V。

**2.3.3 方法学考察** 选择经对照品验证结构的 13 个化学成分进行定量方法学考察。

(1) 选择性: 按“2.2.3”项下方法配制对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺质量浓度分别为 0.01 mg/mL 的生物碱类成分混合对照品溶液, 配制白杨素、葛根素、槲皮素、汉黄芩素、黄芩苷、千层纸素 A、野黄芩苷质量浓度分别为 0.01 mg/mL 的黄酮类成分混合对照品溶液, 配制去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 质量浓度分别为

0.01 mg/mL 的皂苷类成分混合对照品溶液, 经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后用于液-质检测; 按“2.2.4”项下方法制备 QQCP 提取液, 经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后用于液-质检测; 另取甲醇作为阴性样品, 经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后用于液-质检测。对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺在空白甲醇试剂、对照品溶液、QQCP 提取液中的提取离子色谱图(extraction ion peak chromatogram, EIPC) 见图 2-a~c; 白杨素、葛根素、槲皮素、汉黄芩素、黄芩苷、千层纸素 A、野黄芩苷在空白甲醇试剂、对照品溶液、QQCP 提取液中的 EIPC 见图 3-a~c; 去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 在空白甲醇试剂、对照品溶液、QQCP 提取液中的 EIPC 见图 4-a~c。结果表明, 在色谱图中, 上述对照品的相应位置上, QQCP 提取液中均呈现与对照品溶液相同保留时间的色谱峰, 且阴性样品无干扰, 表明方法选择性良好, 甲醇试剂对以上 3 类成分的检测无干扰。

(2) 线性关系考察: 将“2.2.3”项中生物碱类成分混合对照品溶液逐级稀释, 得到原液 1、2、5、10、20、50、100、200、500 倍稀释溶液; 将“2.2.3”中黄酮类混合对照品溶液逐级稀释, 得到原液 1、2、5、8、10、20、25、50、100 倍稀释溶液; 将“2.2.3”中皂苷类混合对照品溶液逐级稀释, 得到原液 1、2、5、8、10、20、25、50、100 倍稀释溶液, 用于液-质检测, 以各对照品峰面积值为纵坐标 ( $Y$ ), 质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 得到线性回归方程, 结果见表 9, 以  $R^2 > 0.995$  作为线性关系良好的考察依据。据表 9

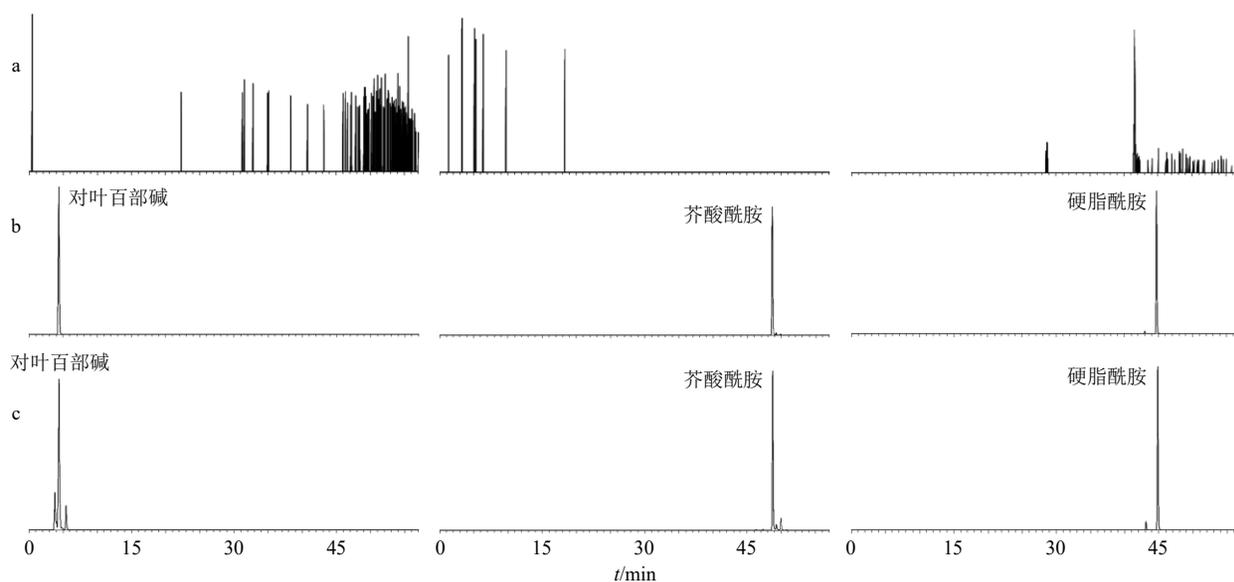


图 2 甲醇 (a)、生物碱类成分对照品 (b)、QQCP 样品 (c) 的 EIPC

Fig. 2 EIPC of methanol (a), alkaloid components reference substances (b), and QQCP sample (c)

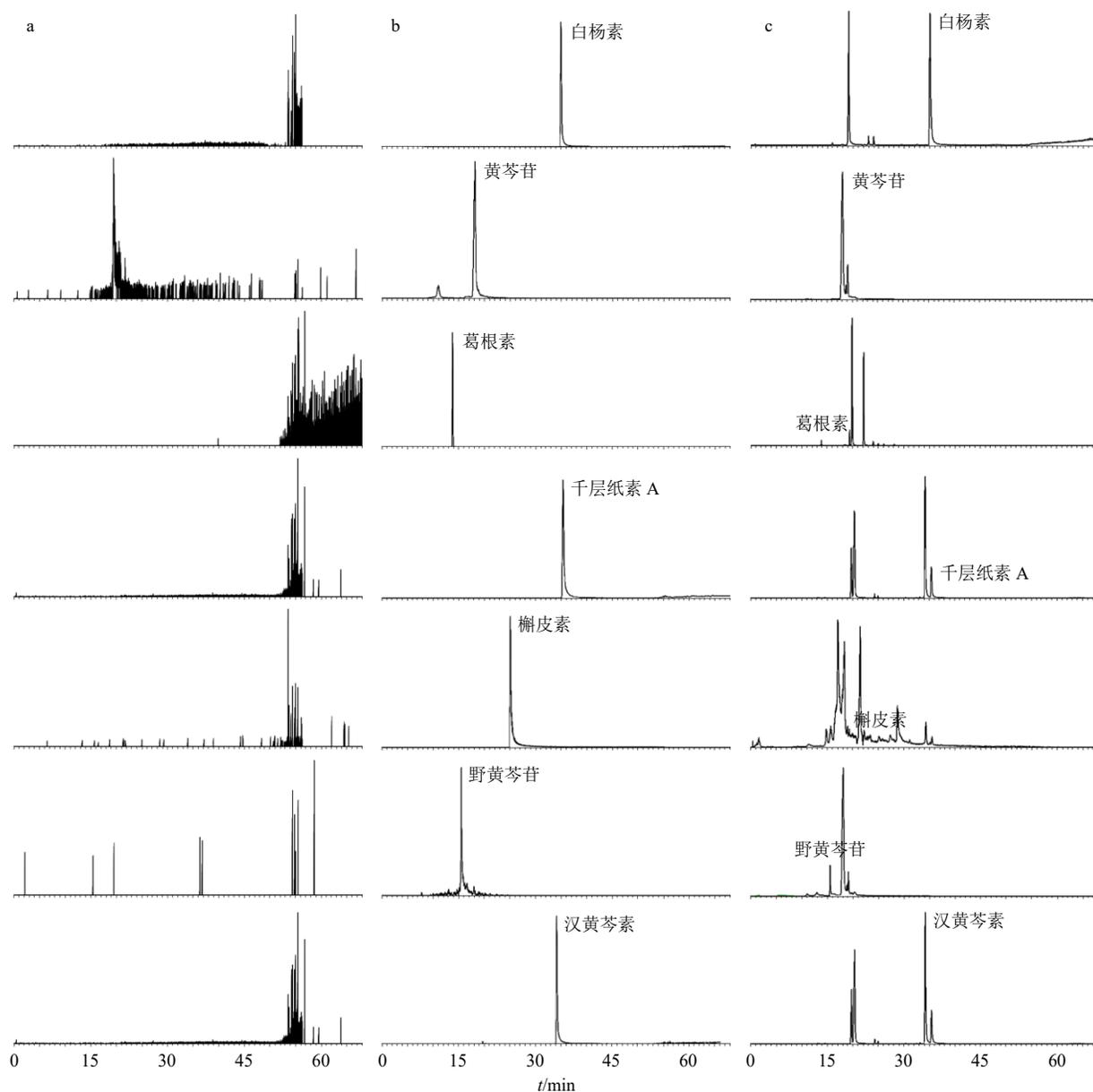


图 3 甲醇 (a)、黄酮类成分对照品 (b)、QQCP 样品 (c) 的 EIPC

Fig. 3 EIPC of methanol (a), and flavonoids components reference substances (b), and QQCP samples (c)

可知, 13 种成分的  $R^2$  值均大于 0.995, 表明各成分的线性关系均良好。

(3) 精密度试验: 取质量浓度为 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的生物碱类成分混合对照品溶液、质量浓度为 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的黄酮类混合对照品溶液、质量浓度为 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的皂苷类混合对照品溶液 (以上质量浓度均指混合对照品溶液中各成分的质量浓度), 连续进样 6 次, 每次进样 2  $\mu\text{L}$ , 计算 6 次进样各成分峰面积的 RSD 值, 以  $\text{RSD} \leq 3\%$  作为精密度考察良好的依据。结果对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺、白杨素、槲皮素、汉黄芩素、千层纸素 A、黄芩苷、野黄芩苷、葛根素、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、

去芹糖桔梗皂苷  $\text{D}_3$  峰面积的 RSD 分别为 2.45%、2.62%、2.32%、2.82%、2.65%、1.17%、2.66%、2.41%、2.12%、1.67%、1.40%、2.27%、2.07%, 结果表明仪器精密度良好。

(4) 稳定性试验: 按照“2.2.4”项下方法制备 QQCP 提取液, 分别于制备后 0、8、16、24、36、48 h 进样检测, 每次进样 2  $\mu\text{L}$ , 计算 6 次进样中各成分峰面积的 RSD 值, 以  $\text{RSD} \leq 3\%$  作为稳定性考察良好的依据。结果对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺、白杨素、槲皮素、汉黄芩素、千层纸素 A、黄芩苷、野黄芩苷、葛根素、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷  $\text{D}_3$  峰面积的 RSD 分别为 2.52%、

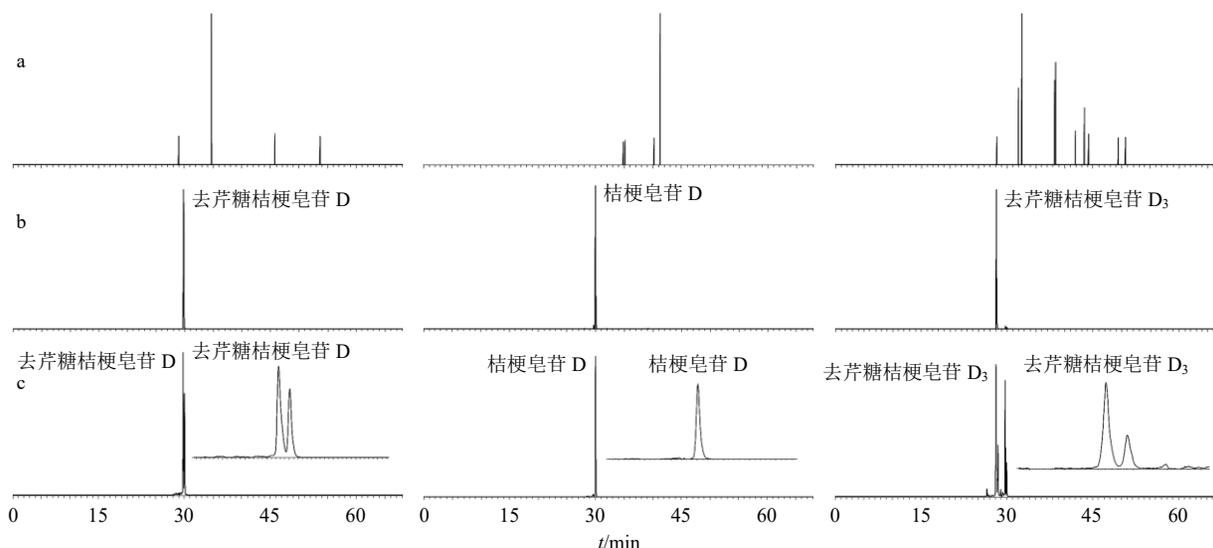


图 4 甲醇 (a) 与皂苷类成分对照品 (b)、QQCP 样品 (c) 的 EIPC

Fig. 4 EIPC of methanol (a), and saponins components reference substances (b), and QQCP samples (c)

表 9 线性关系数据

Table 9 Linear relationship

化合物名称	<i>m/z</i>	线性方程	<i>R</i> <sup>2</sup>	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	化合物名称	<i>m/z</i>	线性方程	<i>R</i> <sup>2</sup>	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
对叶百部碱	376.248 1	$Y=4\times 10^9 X+6\times 10^6$	0.999 8	0.04~20.00	黄芩苷	445.078 9	$Y=3\times 10^{10} X+1\times 10^7$	0.995 7	0.01~1.00
芥酸酰胺	338.341 3	$Y=9\times 10^9 X+9\times 10^7$	0.995 9	0.04~20.00	野黄芩苷	461.072 5	$Y=2\times 10^9 X+333\ 730$	0.996 0	0.01~1.00
硬脂酰胺	284.294 5	$Y=8\times 10^9 X+1\times 10^8$	0.996 8	0.04~20.00	葛根素	415.103 1	$Y=4\times 10^8 X+3\ 017$	0.997 9	0.01~1.00
白杨素	253.050 3	$Y=1\times 10^{11} X+5\times 10^6$	0.995 2	0.01~1.00	去芹糖桔梗皂苷 D	1 093.540 8	$Y=2\times 10^6 X-48\ 642$	0.998 8	0.01~1.00
槲皮素	301.035 8	$Y=2\times 10^{10} X-2\times 10^6$	0.996 4	0.01~1.00	桔梗皂苷 D	1 225.586 5	$Y=7\times 10^6 X-57\ 311$	0.997 9	0.01~1.00
汉黄芩素	283.061 0	$Y=1\times 10^{10} X-2\times 10^6$	0.999 0	0.01~1.00	去芹糖桔梗皂苷 D <sub>3</sub>	1 255.596 2	$Y=2\times 10^6 X-58\ 988$	0.996 8	0.01~1.00
千层纸素 A	283.061 1	$Y=4\times 10^7 X+80\ 419$	0.995 3	0.01~1.00					

1.89%、1.63%、1.23%、2.70%、2.61%、1.39%、2.38%、2.59%、2.38%、2.35%、1.64%、2.71%，结果表明 QQCP 提取液的上清液在 48 h 内稳定性良好。

(5) 重复性试验：按“2.2.4”项下方法制备 QQCP 提取液，平行制备 6 份，取上清液分别进样 2  $\mu\text{L}$ ，计算 6 份样品中各成分质量分数的 RSD 值，以  $\text{RSD}\leq 3\%$  作为重复性考察良好的依据。结果对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺、白杨素、槲皮素、汉黄芩素、千层纸素 A、黄芩苷、野黄芩苷、葛根素、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 质量分数的 RSD 分别为 2.34%、2.08%、2.26%、2.64%、2.83%、2.39%、2.57%、2.84%、2.61%、2.69%、2.40%、1.55%、1.74%，结果表明该方法重复性良好。

(6) 加样回收率试验：取 6 份等量的已测知各成分含量的 QQCP，分别加入一定量的对照品溶液，按“2.2.4”项下方法制备供试液，按“2.2.1”“2.3.2”项下色谱、质谱条件测定 13 种目标成分的含量，计

算回收率及其 RSD 值，回收率在 98%~102% 认为合格。结果对叶百部碱、芥酸酰胺、硬脂酰胺、白杨素、槲皮素、汉黄芩素、千层纸素 A、黄芩苷、野黄芩苷、葛根素、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 的平均加样回收率分别为 101.45%、100.68%、100.23%、100.51%、100.61%、101.62%、101.07%、101.34%、101.27%、99.93%、100.89%、98.60%、101.13%，RSD 分别为 1.45%、1.89%、2.67%、2.92%、1.62%、2.63%、1.79%、1.53%、2.86%、1.59%、2.25%、1.41%、2.96%，表明该方法回收率符合要求。

2.3.4 样品测定 按最优工艺提取 3 批次 QQCP (批号 230101、230102、230103) 各 0.1 g，提取液经 75  $^{\circ}\text{C}$  水浴蒸干，5 mL 甲醇复溶后，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，进行液-质检测，并计算 13 种成分的含量，结果见表 10。可以看出，同一成分在不同批次中的含量差异以及同一批次中不同成分的含量差异均较大，3 批次中含量最高的成分均为芥酸酰胺。

表 10 3 批次样品含量测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 10 Content determination of three batches of samples ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

批号	质量分数/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )						
	对叶百部碱	芥酸酰胺	硬脂酰胺	白杨素	槲皮素	汉黄芩素	千层纸素 A
230101	10.543±0.371	78.764±6.368	0.221±0.002	3.353±0.045	0.099±0.001	2.062±0.027	0.821±0.009
230102	36.891±0.341	124.300±4.756	0.110±0.002	8.052±0.016	0.152±0.002	3.201±0.026	1.981±0.030
230103	22.672±0.768	95.531±0.691	0.364±0.006	5.878±0.092	0.121±0.002	2.934±0.018	1.224±0.006

批号	质量分数/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )					
	黄芩苷	野黄芩苷	葛根素	去芹糖桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 D	去芹糖桔梗皂苷 D <sub>3</sub>
230101	6.323±0.122	0.832±0.042	3.210±0.034	0.120±0.002	7.551±0.052	0.872±0.027
230102	12.421±0.120	1.291±0.038	5.461±0.035	0.189±0.003	9.443±0.218	1.423±0.028
230103	7.064±0.145	0.984±0.041	3.753±0.035	0.144±0.001	8.025±0.305	1.071±0.020

### 3 讨论

本实验在课题组前期对 QQCP 化学成分、药理学活性研究的基础上,开展了基于潜在活性成分的提取工艺研究,分别以总生物碱、总黄酮、总皂苷含量为考察指标,优化了 QQCP 的提取工艺,在此基础上,采用 UHPLC/Q-Exactive Orbitrap MS 对其成分进行定性检测与定量分析。

在提取工艺优化时,各类成分的料液比范围是通过预试验评估确定的,因为料液比过小或过大,会使样品溶液浓度过低或过高,都会导致含量测定不准确。因此,本研究中总黄酮的提取料液比与总生物碱和总皂苷相比,差异较大。在色谱条件优化时,根据化合物种类设置了不同的洗脱条件,具体考察了流动相种类(甲醇、乙腈)、柱温(25、30、35℃)对其分离度和洗脱时间的影响。结果提示采用乙腈为流动相可以同时获得较好的分离度和峰型,同时节省洗脱时间,但不同类成分获得较好分离效果的梯度洗脱条件不同、柱温不同,其中生物碱类成分在 25℃,黄酮类成分在 30℃,皂苷类成分在 35℃柱温下获得较好的分离效果,说明根据化合物种类设置色谱条件是非常必要的。质谱条件优化考察了扫描的离子模式、喷雾电压、分辨率,发现生物碱类与皂苷类成分在正离子模式下可以获得更好的信号强度和更多的化合物信息,分辨率 17 500 时可以获得更高的质量精度。另外,根据检测目的不同,定性的扫描模式设定为 Full mass/dd-MS<sup>2</sup>,定量的扫描模式设定为 Target-SIM scan。

本研究定性鉴定中共得到 72 个成分,其中生物碱类 19 个,黄酮类 40 个,皂苷类 8 个,其中 13 个成分被准确定量,定量的指标成分具有不同的生物活性,对叶百部碱作为百部类生物碱,具有显著的镇咳活性<sup>[25]</sup>;芥酸酰胺具有调节中枢神经系统的作

用<sup>[26]</sup>;白杨素可以改善矽肺大鼠肺功能,有效缓解大鼠矽肺纤维化进程<sup>[27]</sup>;槲皮素可通过调节 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路发挥改善病毒性呼吸道感染小鼠免疫功能,减轻肺损伤的作用<sup>[28]</sup>;汉黄芩素可通过下调转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 和波形蛋白的表达,上调内皮生长因子 (endothelial growth factor, EGF) 和 E-钙黏蛋白的表达,起到治疗 MP 肺炎及肺组织纤维化的作用<sup>[29]</sup>;千层纸素 A 可逆转肺癌细胞与人外周血单核细胞共培养诱导的 Tregs 的产生<sup>[30]</sup>;黄芩苷可通过调节 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路,发挥抗炎与保护肺功能的作用<sup>[31]</sup>;野黄芩苷能够通过抑制 TGF- $\beta$ 1/果蝇母源抗皮肤生长因子蛋白 2/3 (sophila mothers against decapentaplegic 2/3, Smad2/3) 信号通路,来缓解肺组织中的上皮间质转化<sup>[32]</sup>;葛根素注射液可降低小儿重症肺炎肺表面炎性介质水平,改善此类患儿的疾病状态<sup>[33]</sup>;去芹糖桔梗皂苷 D 能显著延长模型小鼠咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数<sup>[34]</sup>,桔梗总皂苷对 MP 感染引起的肺组织损伤具有修复作用<sup>[35]</sup>。

以上成分的不同生物活性,可能通过协同作用发挥治疗肺炎的功效,以其共同作为 QQCP 的质量控制指标具有一定的代表性。本研究所建立的检测方法灵敏、快速,稳定性好,可为 QQCP 更多化学成分的含量测定提供方法学参考,为制定 QQCP 的质量控制方法提供实验依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 张洪娟,王伟明,邱燕博. 芩百清肺浓缩丸质量标准研究 [J]. 黑龙江中医药, 2003, 32(6): 46-47.
- [2] 李晓岚,李晓军,鲁金玲. 阿奇霉素联合芩百清肺浓缩

- 丸治疗儿童肺炎支原体感染的疗效分析 [J]. 疑难病杂志, 2015, 14(11): 1169-1172.
- [3] 杨志敏, 蒙艳丽, 王慧慧, 等. 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体感染的影响 [J]. 中成药, 2020, 42(5): 1150-1155.
- [4] 蒙艳丽, 孙一, 雷敏瑞, 等. 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体 CARDs TX 的抑制作用及机制研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(12): 2909-2915.
- [5] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.
- [6] Lin L G, Li K M, Tang C P, et al. Antitussive stemoninine alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(6): 1107-1110.
- [7] Han Y K, Kim H, Shin H, et al. Characterization of anti-inflammatory and antioxidant constituents from *Scutellaria baicalensis* using LC-MS coupled with a bioassay method [J]. *Molecules*, 2020, 25(16): 3617.
- [8] Wu S J, Sun A L, Liu R M. Separation and purification of baicalin and wogonoside from the Chinese medicinal plant *Scutellaria baicalensis* Georgi by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1066(1/2): 243-247.
- [9] 张俊威, 姚琳, 蒙艳丽, 等. 桔梗总皂苷体外抗肺炎支原体作用实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(4): 868-870.
- [10] 刘焯, 魏文峰, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的芩百清肺浓缩丸血清药物化学初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 572-579.
- [11] 阿不力米提·玉麦尔, 库尔班江·巴拉提. 紫外可见分光光度法测定白喉乌头中总生物碱的含量 [J]. 北方园艺, 2022(12): 94-98.
- [12] 梁欣格, 吕卓红, 王盼盼, 等. 紫外分光光度法测定黄芪总黄酮含量 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(5): 35-36.
- [13] 李彦军, 郑楠, 王加启, 等. 红三叶草提取物中四种异黄酮的 HPLC 检测方法 [J]. 中国饲料, 2022(24): 45-51.
- [14] 熊双丽, 李安林, 黄妮. 绵麦冬皂苷的提取分离及免疫活性研究 [J]. 林产化学与工业, 2015, 35(1): 121-125.
- [15] 高文雅, 李涛, 周严严, 等. 黄芩水煎液中化学成分的定性及定量研究 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7339-7352.
- [16] 张宁, 高霞, 周宇, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析杏仁止咳颗粒化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4439-4449.
- [17] 吴思宇, 罗点, 王孝勋, 等. 对叶百部总生物碱的血清药物化学研究 [J]. 中药材, 2020, 43(5): 1138-1142.
- [18] 王翠竹. 桔梗不同部位化学成分及抗抑郁作用的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- [19] 沈杰. 舌叶紫菀化学成分的研究 [D]. 成都: 西南民族大学, 2022.
- [20] 陈馨, 张欣然, 牟立婷, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap-MS 鉴定黄芩的化学成分及血中移行成分 [J]. 中草药, 2023, 54(9): 2722-2732.
- [21] 杨琳琳, 柴建新, 陈强, 等. 基于 LC-MS 代谢组学技术的不同采收期黄芩叶化学成分比较研究 [J]. 山西医科大学学报, 2020, 51(11): 1244-1254.
- [22] 吴美琪, 刘建庭, 许浚, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 的小儿消积止咳口服液化学物质组快速辨识研究 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7117-7127.
- [23] 范倩, 吴晓纯, 蔡盛康, 等. 经典名方麦门冬汤化学成分 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(1): 66-78.
- [24] 郑单单, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芪风固表颗粒化学成分 [J]. 中成药, 2020, 42(6): 1649-1657.
- [25] Yang X Z, Tang C P, Ye Y. Stilbenoids from *Stemona japonica* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(1/2): 47-53.
- [26] Li M M, Jiang Z E, Song L Y, et al. Antidepressant and anxiolytic-like behavioral effects of erucamide, a bioactive fatty acid amide, involving the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 640: 6-12.
- [27] 郭一铭, 赵晓坤, 张静, 等. 白杨素对大鼠矽肺纤维化的干预作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(7): 921-926.
- [28] 许玲芬, 李英兰, 王佳斌, 等. 基于 TLR4-NF- $\kappa$ B 通路的槲皮素对病毒性呼吸道感染小鼠免疫功能的影响及抑炎作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(6): 53-57.
- [29] 王斯楚, 孙一, 王晓溪, 等. 汉黄芩素对肺炎支原体肺炎小鼠肺组织中肺上皮间质形成因子表达的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 172-180.
- [30] Shen L, Zhang L L, Li H, et al. Oroxylin A inhibits the generation of Tregs in non-small cell lung cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 49395-49408.
- [31] 吴文娟, 曾妮, 王硕莹, 等. 黄芩苷对支原体肺炎小鼠 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的抗炎及肺功能保护作用 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(23): 3521-3526.
- [32] 聂娟. 野黄芩苷对博来霉素引起的肺纤维化的治疗作用及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [33] 张律维. 葛根素注射液对小儿重症肺炎肺表面活性蛋白及炎性介质的影响 [J]. 海南医学院学报, 2015, 21(9): 1259-1261.
- [34] 钟渊涵, 王玲珑, 邱自超, 等. 基于代谢组学的去芹糖桔梗皂苷 D 镇咳祛痰机制研究 [J]. 药学学报, 2022, 57(10): 3186-3194.
- [35] 隋美娇, 姚琳, 隋文霞, 等. 桔梗总皂苷对肺炎支原体感染大鼠肺组织 SP-A 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(9): 156-159.

[责任编辑 郑礼胜]