

# 宣肺败毒颗粒中 14 种成分的 UHPLC-Q-MS 含量测定方法研究

胡晨秀<sup>1,2</sup>, 王芝艳<sup>1,2</sup>, 王书芳<sup>1,2\*</sup>, 邵 青<sup>1</sup>

1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学金华研究院 转化药学创制中心, 浙江 金华 321016

**摘要:** 目的 采用超高效液相色谱-单四极杆质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-mass spectrometry, UHPLC-Q-MS) 法, 建立宣肺败毒颗粒 (Xuanfei Baidu Granules, XBG) 中 14 种成分的含量测定方法。方法 采用 Waters HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 以 0.05% 甲酸水溶液-乙腈为流动相梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 2 μL; 采用电喷雾电离源 (electrospray ionization, ESI) 质谱, 扫描方式为选择离子监测 (selected ion monitoring, SIM) 模式。结果 在 48 min 内实现了 XBG 中 14 种成分 (麻黄碱、*L*-苦杏仁苷、苦杏仁苷、槲皮素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-β-*D*-龙胆双糖苷、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷和甘草酸) 的分离和含量测定, 14 种成分在各自的质量浓度范围内均有良好的线性关系 ( $r \geq 0.9931$ ), 定量限为 1.779~52.010 ng/mL, 平均加样回收率为 92.9%~106.3%, RSD 为 0.7%~5.5%。10 个批次 XBG 中 14 种成分的含量测定结果表明, XBG 的批次间一致性较好。结论 所建立的 UHPLC-Q-MS 分析方法专属性强, 准确度高, 可为 XBG 的质量控制以及临床应用提供参考。

**关键词:** 宣肺败毒颗粒; 麻黄碱; *L*-苦杏仁苷; 苦杏仁苷; 槲皮素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-β-*D*-龙胆双糖苷; 戟叶马鞭草苷; 马鞭草苷; 虎杖苷; 甘草苷; 类叶升麻苷; 异类叶升麻苷; 异绿原酸 A; 柚皮苷; 野漆树苷; 甘草酸; 超高效液相色谱-单四极杆质谱; 质量评价

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)20-6902-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.007

## Content determination method of 14 constituents in Xuanfei Baidu Granules by UHPLC-Q-MS

HU Chenxiu<sup>1,2</sup>, WANG Zhiyan<sup>1,2</sup>, WANG Shufang<sup>1,2</sup>, SHAO Qing<sup>1</sup>

1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Innovation Center of Translational Pharmacy, Jinhua Institute of Zhejiang University, Jinhua 321016, China

**Abstract: Objective** To establish an ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-mass spectrometry (UHPLC-Q-MS) method for the simultaneous determination of 14 constituents in Xuanfei Baidu Granules (XBG). **Methods** The separation was performed on a Waters HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) by using a gradient elution with a mobile phase consisting of water containing 0.05% formic acid-acetonitrile at a flow rate of 0.4 mL/min. The column temperature was 40 °C, and the injection volume was 2 μL. The mass spectrometry was equipped with electrospray ionization (ESI) source and performed in selected ion monitoring (SIM) mode. **Results** The separation and determination of 14 constituents (ephedrine, *L*-amygdalin, amygdalin, quercetin-3-*O*-β-*D*-glucose-7-*O*-β-*D*-gentiobioside, hastatoside, verbenalin, polydatin, liquiritin, acteoside, isoacteoside, isochlorogenic acid A, naringin, rhoifolin, and glycyrrhizic acid) in XBG were achieved within 48 min. Good linear relationships ( $r \geq 0.9931$ ) were obtained for all 14 constituents within their mass concentration ranges. The average recovery rates were 92.9%—106.3%, RSDs were 0.7%—5.5%. The limits of quantification were 1.779—52.010 ng/mL. The determination results of 14 constituents in 10 batches of XBG demonstrated good consistency among different batches of XBG. **Conclusion** The established method shows good specificity and accuracy. The results provide references for the quality control and clinical application of XBG.

收稿日期: 2024-03-25

基金项目: 国家重点研发计划——战略性科技创新合作专项 (2021YFE0200300)

作者简介: 胡晨秀, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: 22219163@zju.edu.cn

\*通信作者: 王书芳, 副教授, 博士生导师, 从事中药药效物质发现和中药质量评价研究。E-mail: wangsf@zju.edu.cn

**Key words:** Xuanfei Baidu Granule; ephedrine; *L*-amygdalin; amygdalin; quercetin-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucose-7-*O*- $\beta$ -*D*-gentiobioside; hastatoside; verbenalin; polydatin; liquiritin; acteoside; isoacteoside; isochlorogenic acid A; naringin; rhoifolin; glycyrrhizic acid; UHPLC-Q-MS; quality evaluation

宣肺败毒方是抗击新冠疫情中发挥重要作用的“三药三方”之一<sup>[1-3]</sup>, 宣肺败毒颗粒(Xuanfei Baidu Granule, XBG)是在宣肺败毒方组方基础上制成的颗粒剂, 由麻黄、石膏、苍术、广藿香、青蒿、虎杖、马鞭草、薏苡仁、芦根、葶苈子、苦杏仁、化橘红和甘草 13 味中药组成, 具有宣肺化湿、清热透邪、泻肺解毒之效, 可用于治疗湿毒郁肺所致的疫病<sup>[4-6]</sup>。XBG 具有抗炎与抗肺纤维化<sup>[7]</sup>、抗病毒感染与病毒蛋白转录、抗氧化、调节机体免疫、恢复机体肝胆代谢和能量代谢平衡<sup>[8-9]</sup>等多种药理作用。

目前, 关于 XBG 或宣肺败毒方的研究, 大多是其临床应用或其药理作用及作用机制方面, 而其化学成分相关研究较少。Zhao 等<sup>[10]</sup>采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS)鉴定了宣肺败毒方中 104 个成分, 包括黄酮类、萜类、羧酸类、生物碱类、蒽醌类等类型成分。Wang 等<sup>[11]</sup>采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱(ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, UPLC-MS/MS)研究了 XBG 中麻黄碱、苦杏仁苷、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、柚皮苷、野漆树苷和甘草酸等 24 个成分在大鼠体内的药动学行为。另据报道, XBG 中麻黄碱、苦杏仁苷、马鞭草苷、虎杖苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷和甘草酸等化合物具有抗炎、抗病毒作用<sup>[10,12-19]</sup>, 但尚无对 XBG 中相关活性成分进行定量分析的研究报道。XBG 的现行标准(国药准字 C20210003)仅对柚皮苷(来自于化橘红)、甘草酸(来自于甘草)、麻黄碱和伪麻黄碱(来自于麻黄)进行定量控制。考虑到 XBG 由 13 味中药组成, 有必要对多种中药中活性成分进行检测。本研究采用 Agilent 1290 UHPLC-单四极杆液质联用(ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-mass spectrometry, UHPLC-Q-MS)技术建立了 XBG 中 14 种成分的含量测定方法, 并应用于 10 批次 XBG 的含量测定, 以期更全面地对 XBG 进行质量评价。

## 1 材料

Agilent 1290 Infinity II 型超高效液相色谱、

Agilent Infinity Lab LC/MSD iQ 型单四极杆质谱, 美国 Agilent 公司; XS105DU 型分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; MiniSpin 型离心机, 德国 Eppendorf 公司; Milli-Q 型纯水器, 美国 Millipore 公司; SK1200H 型超声仪, 上海科导超声仪器有限公司; MX-S 型可调式混匀仪, 北京大龙兴创实验仪器股份公司。

对照品柚皮苷(批号 DSTDY009902)、槲皮素-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-7-*O*- $\beta$ -*D*-龙胆双糖苷(QGG, 批号 DSTDH008301)、甘草苷(批号 DSTDG000902)、异绿原酸 A(批号 DSTDY054703)、马鞭草苷(批号 DSTDM007201)、异类叶升麻苷(批号 DST230218-060)、野漆树苷(批号 DSTDY005301)、*L*-苦杏仁苷(批号 DST220802-057)、类叶升麻苷(批号 DSTDL006101)、戟叶马鞭草苷(批号 DSTDJ006301)、虎杖苷(批号 DSTDH003802)、甘草酸(批号 DSTDG000602)和苦杏仁苷(批号 DSTDK000401)均购于成都德斯特公司, 且 HPLC 测定的质量分数均 $\geq 98\%$ ; 对照品盐酸麻黄碱, 批号 171241-201809, 质量分数 100%, 购于中国食品药品检定研究院。乙腈和甲醇均为色谱纯, 美国 Merck 公司; 甲酸为色谱纯, 美国 ROE Scientific 公司; 超纯水, 美国 Millipore 公司。10 批 XBG, 批号 2301214、2301266、2301257、2301236、2302015、2301276、221155、2302044、2302041、2301192, 由山东步长制药股份有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 混合对照品溶液的制备

分别取各对照品适量, 精密称定, 分别加甲醇配制成各单独的对照品储备液, 质量浓度分别为盐酸麻黄碱 408.000  $\mu\text{g/mL}$ 、*L*-苦杏仁苷 593.200  $\mu\text{g/mL}$ 、苦杏仁苷 201.000  $\mu\text{g/mL}$ 、QGG 5.246  $\mu\text{g/mL}$ 、戟叶马鞭草苷 431.600  $\mu\text{g/mL}$ 、马鞭草苷 222.400  $\mu\text{g/mL}$ 、虎杖苷 416.800  $\mu\text{g/mL}$ 、甘草苷 405.600  $\mu\text{g/mL}$ 、类叶升麻苷 472.400  $\mu\text{g/mL}$ 、异类叶升麻苷 457.200  $\mu\text{g/mL}$ 、异绿原酸 A 10.480  $\mu\text{g/mL}$ 、柚皮苷 1 202.000  $\mu\text{g/mL}$ 、野漆树苷 212.200  $\mu\text{g/mL}$  和甘草酸 433.600  $\mu\text{g/mL}$ ; 再精密吸取各对照品储备液适量于同一量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成分别含盐酸麻黄碱 1.828  $\mu\text{g/mL}$ 、*L*-苦杏仁苷 7.118

μg/mL、苦杏仁苷 9.648 μg/mL、QGG 0.146 9 μg/mL、戟叶马鞭草苷 8.632 μg/mL、马鞭草苷 6.227 μg/mL、虎杖苷 6.669 μg/mL、甘草苷 1.460 μg/mL、类叶升麻苷 5.669 μg/mL、异类叶升麻苷 3.658 μg/mL、异绿原酸 A 0.209 6 μg/mL、柚皮苷 43.270 μg/mL、野漆树苷 1.630 μg/mL 和甘草酸 5.203 μg/mL 的混合对照品储备液。精密吸取混合对照品储备液适量，用 50%甲醇稀释，制成质量浓度分别为混合对照品储备液 1.0、0.8、0.5、0.3、0.2、0.1 倍的系列质量浓度混合对照品溶液。

## 2.2 XBG 供试品溶液的制备

取 XBG 适量，研细，取粉末约 40 mg，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加入 50%甲醇 40 mL，超声处理（功率 50 W、频率 53 kHz）10 min，放冷，补加 50%甲醇至刻度，摇匀，13 000 r/min 离心（离心半径 6.4 cm）10 min，取上清液作为供试品溶液。

## 2.3 UHPLC-Q-MS 分析条件

**2.3.1 色谱条件** Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）；流动相为 0.05% 甲酸水溶液-乙腈；线性洗脱梯度：0~25 min，2%~4%乙腈；25~39 min，4%~22%乙腈；39~45 min，22%~50%乙腈；45~47 min，50%乙腈；47~48 min，50%~100%乙腈；48~52 min，100%乙腈；体积流量 0.4 mL/min；柱温 40 ℃；进样量 2 μL。

**2.3.2 质谱条件** 电喷雾离子源（electrospray ionization，ESI）；选择离子监测（selected ion monitoring，SIM）模式；干燥气体积流量 9 L/min；雾化气压力 275.790 kPa（40 psi）；干燥气温度 300 ℃；毛细管电压为±3 500 V；质谱采样时间为 4~47 min；各化学成分质谱采集参数见表 1。

## 2.4 专属性试验

取空白溶剂、混合对照品溶液和供试品溶液，按“2.3”项下条件进行分析，结果如图 1 所示。供试品溶液中共存色谱峰对 14 种成分的含量测定无干扰，方法专属性良好。

## 2.5 线性关系考察

取“2.1”项下 6 组混合对照品溶液适量，按“2.3”项下色谱-质谱条件进样测定，以色谱峰峰面积为纵坐标（Y），对照品质量浓度为横坐标（X）绘制标准曲线，进行线性回归，所得各线性回归方程见表 2。结果表明各成分均呈现良好的线性关系， $r \geq 0.993 1$ 。以信噪比约为 3，计算检测限；信噪比约为 10，计算定量限；结果见表 2。

表 1 质谱采集参数

Table 1 MS detection parameters

| 成分     | 采样时间/min | $m/z$ | 离子模式             | 碎裂电压/V |
|--------|----------|-------|------------------|--------|
| 麻黄碱    | 4~34     | 166   | ESI <sup>+</sup> | 50     |
| 马鞭草苷   | 4~34     | 389   | ESI <sup>+</sup> | 50     |
| 虎杖苷    | 34~42    | 389   | ESI <sup>-</sup> | 150    |
| 戟叶马鞭草苷 | 4~34     | 405   | ESI <sup>+</sup> | 100    |
| 甘草苷    | 34~42    | 417   | ESI <sup>-</sup> | 150    |
| L-苦杏仁苷 | 4~34     | 456   | ESI <sup>-</sup> | 150    |
| 苦杏仁苷   | 4~34     | 456   | ESI <sup>-</sup> | 150    |
| 异绿原酸A  | 34~42    | 515   | ESI <sup>-</sup> | 100    |
| 野漆树苷   | 34~42    | 577   | ESI <sup>-</sup> | 200    |
| 柚皮苷    | 34~42    | 579   | ESI <sup>-</sup> | 200    |
| 类叶升麻苷  | 34~42    | 623   | ESI <sup>-</sup> | 200    |
| 异类叶升麻苷 | 34~42    | 623   | ESI <sup>-</sup> | 200    |
| QGG    | 4~34     | 787   | ESI <sup>-</sup> | 250    |
| 甘草酸    | 42~47    | 821   | ESI <sup>-</sup> | 200    |

## 2.6 进样精密度试验

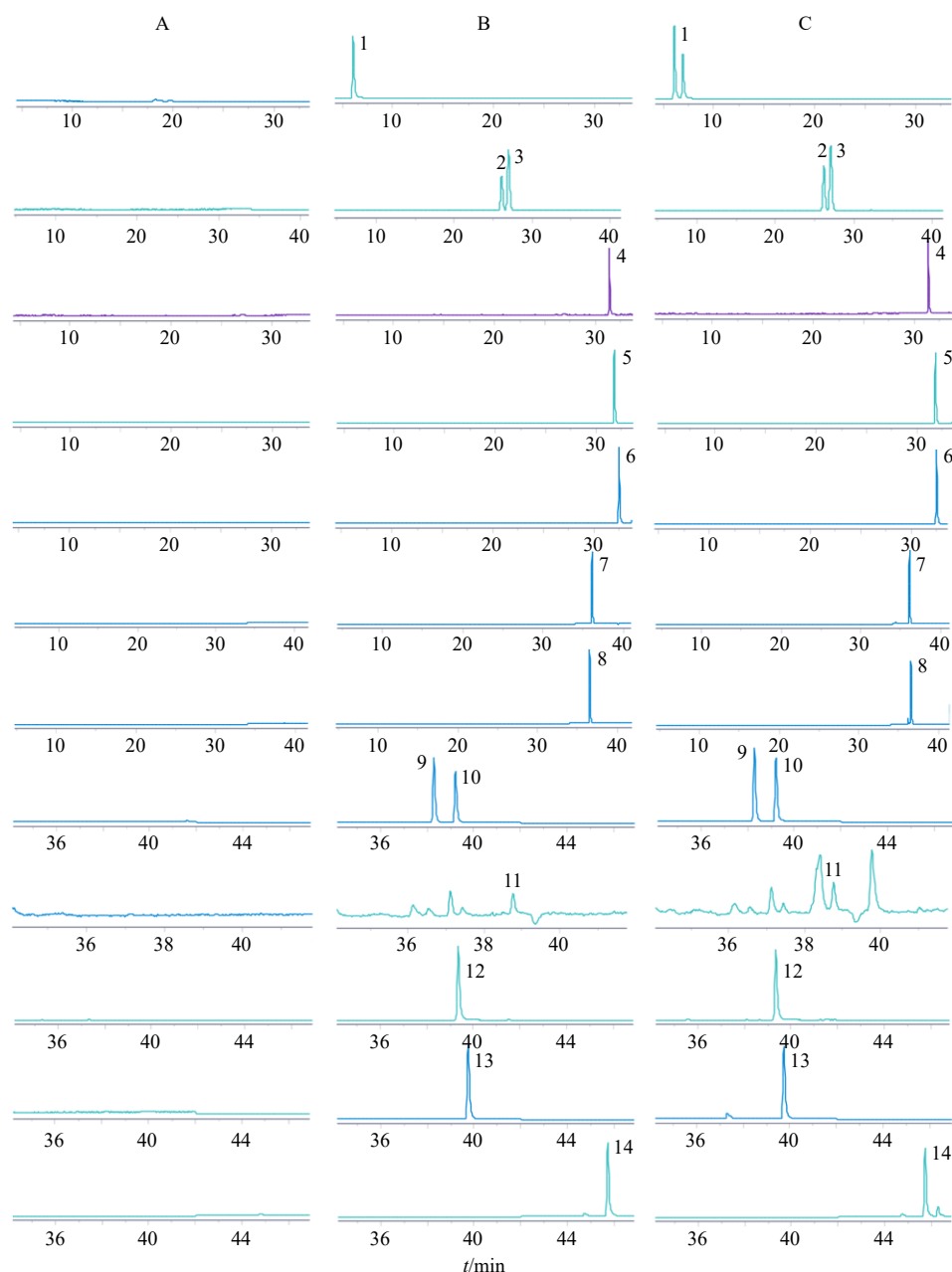
取 XBG（批号 221155）供试品溶液，按“2.3”项下色谱-质谱条件连续进样 6 次，测定 14 种成分盐酸麻黄碱、L-苦杏仁苷、苦杏仁苷、QGG、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷、甘草酸的峰面积，各成分峰面积的 RSD 分别为 1.1%、1.4%、1.3%、1.1%、0.7%、0.7%、1.4%、0.9%、0.8%、1.0%、0.7%、0.8%、1.2%、0.8%，表明该仪器的进样精密度良好。

## 2.7 重复性试验

取 XBG（批号 221155），按“2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱-质谱条件进样分析，计算 14 种成分盐酸麻黄碱、L-苦杏仁苷、苦杏仁苷、QGG、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷、甘草酸的质量分数，各成分质量分数的 RSD 分别为 1.2%、0.6%、0.7%、1.4%、1.8%、1.6%、0.8%、1.3%、1.5%、3.0%、1.3%、0.6%、1.2%、1.3%，表明该方法重复性良好。

## 2.8 日间精密度试验

取 XBG（批号 221155），每天按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱-质谱条件进样分析，计录 3 d 内测得的 14 种成分盐酸麻黄碱、L-苦杏仁苷、苦杏仁苷、QGG、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升



1-麻黄碱; 2-*L*-苦杏仁苷; 3-苦杏仁苷; 4-QGG; 5-戟叶马鞭草苷; 6-马鞭草苷; 7-虎杖苷; 8-甘草苷; 9-类叶升麻苷; 10-异类叶升麻苷; 11-异绿原酸 A; 12-柚皮苷; 13-野漆树苷; 14-甘草酸。

1-ephedrine; 2-*L*-amygdalin; 3-amygdalin; 4-QGG; 5-hastatoside; 6-verbenalin; 7-polydatin; 8-liquiritin; 9-acteoside; 10-isoacteoside; 11-isochlorogenic acid A; 12-naringin; 13-rhoifolin; 14-glycyrrhizic acid.

图 1 空白溶剂 (A)、混合对照品 (B) 和 XBG 样品 (C) 的 UHPLC-MS 图

Fig. 1 UHPLC-MS chromatograms of blank (A), mixed standards (B), and XBG samples (C)

麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷、甘草酸的峰面积, 各成分峰面积的 RSD 分别为 1.4%、1.2%、0.8%、3.3%、1.3%、1.3%、1.8%、2.4%、3.0%、3.6%、3.8%、2.3%、2.4%、3.4%, 表明该方法日间精密度良好。

## 2.9 加样回收率试验

取已测知 14 种成分含量的 XBG(批号 221155)

适量, 研细, 取约 20 mg, 精密称定 6 份, 置 50 mL 量瓶中, 分别加入 3 mL 含有 13.710  $\mu\text{g}$  盐酸麻黄碱、39.860  $\mu\text{g}$  *L*-苦杏仁苷、77.180  $\mu\text{g}$  苦杏仁苷、2.802  $\mu\text{g}$  QGG、61.760  $\mu\text{g}$  戟叶马鞭草苷、49.710  $\mu\text{g}$  马鞭草苷、51.270  $\mu\text{g}$  虎杖苷、13.380  $\mu\text{g}$  甘草苷、27.350  $\mu\text{g}$  类叶升麻苷、21.120  $\mu\text{g}$  异类叶升麻苷、1.063  $\mu\text{g}$  异绿原酸 A、538.000  $\mu\text{g}$  柚皮苷、12.220  $\mu\text{g}$

表 2 14 种成分的线性回归方程  
Table 2 Linear equations of 14 constituents

| 成分             | 线性回归方程                    | <i>r</i> | 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> ) |
|----------------|---------------------------|----------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 麻黄碱            | $Y=642\,851.0X+4\,938.5$  | 0.998 3  | 182.80~1 828.00             | 0.533 7                    | 1.779                      |
| <i>L</i> -苦杏仁苷 | $Y=15\,315.7X+524.3$      | 0.998 8  | 711.80~7 118.00             | 14.360                     | 47.860                     |
| 苦杏仁苷           | $Y=14\,139.6X+958.6$      | 0.998 8  | 964.80~9 648.00             | 15.600                     | 52.010                     |
| QGG            | $Y=24\,537.4X-27.6$       | 0.997 8  | 14.69~146.90                | 0.944 7                    | 3.149                      |
| 戟叶马鞭草苷         | $Y=23\,667.8X+6\,115.2$   | 0.999 1  | 863.20~8 632.00             | 4.070                      | 13.560                     |
| 马鞭草苷           | $Y=74\,122.6X+27\,948.4$  | 0.998 7  | 622.70~6 227.00             | 1.260                      | 4.200                      |
| 虎杖苷            | $Y=28\,571.3X+8\,211.4$   | 0.998 7  | 666.90~6 669.00             | 2.050                      | 6.834                      |
| 甘草苷            | $Y=55\,146.1X+1\,087.8$   | 0.998 9  | 146.00~1 460.00             | 1.312                      | 4.374                      |
| 类叶升麻苷          | $Y=36\,539.2X+4\,789.4$   | 0.998 0  | 566.90~5 669.00             | 0.842 5                    | 2.808                      |
| 异类叶升麻苷         | $Y=43\,886.6X+810.1$      | 0.997 8  | 365.80~3 658.00             | 0.784 2                    | 2.614                      |
| 异绿原酸 A         | $Y=32\,006.1X-9.8$        | 0.997 1  | 20.96~209.60                | 2.459                      | 8.200                      |
| 柚皮苷            | $Y=18\,080.9X+135\,545.7$ | 0.993 1  | 4 327.00~43 270.00          | 1.702                      | 5.673                      |
| 野漆树苷           | $Y=64\,305.1X+1\,343.8$   | 0.998 9  | 163.00~1 630.00             | 0.633 5                    | 2.112                      |
| 甘草酸            | $Y=20279.4X+4\,788.7$     | 0.999 2  | 520.30~5 203.00             | 0.994 6                    | 3.315                      |

麻黄碱的质量浓度以盐酸麻黄碱计。  
The mass concentration of ephedrine was measured by ephedrine hydrochloride.

野漆树苷和 40.060 μg 甘草酸的混合对照品溶液，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱-质谱条件进行测定，计算 14 种成分的加样回收率，各成分盐酸麻黄碱、*L*-苦杏仁苷、苦杏仁苷、QGG、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷、甘草酸的平均加样回收率分别为 92.9%、98.9%、100.2%、99.3%、92.9%、97.7%、100.3%、104.4%、103.0%、106.3%、103.9%、105.1%、103.9%、94.8%，RSD 分别为 1.1%、1.1%、1.2%、2.5%、1.6%、2.3%、0.7%、1.7%、1.9%、2.2%、5.5%、1.2%、3.0%、1.6%，表明该方法的加样回收率良好。

2.10 室温稳定性试验

取 XBG（批号 221155），按“2.2”项下方法制备供试品溶液，分别在室温下放置 0、3、6、12、18、24 h，按“2.3”项下色谱-质谱条件进样分析，测定 14 种成分盐酸麻黄碱、*L*-苦杏仁苷、苦杏仁苷、QGG、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷、异绿原酸 A、柚皮苷、野漆树苷、甘草酸的峰面积，各成分峰面积的 RSD 值分别为 2.4%、2.6%、2.7%、1.2%、1.4%、1.5%、2.1%、1.1%、1.2%、1.2%、1.3%、1.0%、1.5%、2.5%，表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定。

2.11 样品含量测定

取 10 批 XBG，按“2.2”项下方法分别平行制

备 3 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱-质谱条件进样测定，计算 XBG 中 14 种成分的含量，结果如表 3 所示。10 批 XBG 的含量测定结果表明，柚皮苷、*L*-苦杏仁苷、苦杏仁苷、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、类叶升麻苷、异类叶升麻苷和甘草酸在宣肺败毒颗粒中含量较高，质量分数均大于 650 μg/g；异绿原酸 A 和 QGG 的质量分数分别为 26.03~83.73 μg/g 和 49.9~145.4 μg/g，在宣肺败毒颗粒中的含量较低。

3 讨论

3.1 含量测定指标成分的选择

目前，对 XBG 中成分含量测定的相关报道较少，在查阅相关文献并结合课题组前期化学成分研究的基础上，综合考虑选取了 XBG 中 10 味药材（除石膏、薏苡仁和苍术外）中的 14 种成分作为含量测定指标成分。其中麻黄碱、苦杏仁苷、QGG、虎杖苷、柚皮苷、甘草苷和甘草酸分别是麻黄、苦杏仁、葶苈子、虎杖、化橘红和甘草在《中国药典》2020 年版中的含量测定指标成分。此外，*L*-苦杏仁苷是苦杏仁苷的异构体，来自苦杏仁；戟叶马鞭草苷和马鞭草苷来自马鞭草；类叶升麻苷和异类叶升麻苷来自广藿香、马鞭草和麻黄；野漆树苷来自化橘红；甘草酸来自甘草和化橘红；异绿原酸 A 来自青蒿；而柚皮苷是化橘红和芦根等药材的共有成分。这些成分在相关药材中的含量较高，且这些成分具有抗炎、

表 3 10 批次 XBG 样品中 14 个成分含量测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 3 Contents of 14 compounds in 10 batches of XBG ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 样品      | 质量分数/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |              |              |           |              |               |              |
|---------|------------------------------------------|--------------|--------------|-----------|--------------|---------------|--------------|
|         | 麻黄碱                                      | L-苦杏仁苷       | 苦杏仁苷         | QGG       | 戟叶马鞭草苷       | 马鞭草苷          | 虎杖苷          |
| 2301214 | 433.5±3.5                                | 4 174.4±48.4 | 5 446.9±72.5 | 118.4±1.4 | 3 103.8±56.8 | 3 198.8±19.2  | 2 558.5±14.1 |
| 2301266 | 581.1±1.2                                | 3 387.2±24.3 | 4 653.5±44.1 | 107.8±1.6 | 2 881.0±27.6 | 3 327.8±35.9  | 2 542.0±21.5 |
| 2301257 | 382.2±8.2                                | 3 378.4±8.2  | 5 082.6±54.0 | 83.9±1.8  | 3 242.0±47.1 | 3 502.7±19.9  | 2 523.7±17.3 |
| 2301236 | 539.4±6.2                                | 4 004.9±63.0 | 4 208.3±42.6 | 108.2±0.8 | 2 716.8±27.7 | 2 951.1±29.6  | 3 080.8±46.3 |
| 2302015 | 648.0±11.4                               | 2 801.4±64.6 | 4 180.4±92.7 | 128.4±1.4 | 2 722.9±23.5 | 3 318.2±74.2  | 2 803.4±59.9 |
| 2301276 | 704.2±5.1                                | 2 940.3±53.3 | 4 043.9±68.6 | 115.3±0.7 | 3 040.8±35.1 | 3 703.4±26.8  | 3 054.5±36.0 |
| 221155* | 716.9±8.4                                | 3 146.6±20.7 | 3 920.0±22.6 | 145.4±2.0 | 2 997.4±55.4 | 2 578.8±41.5  | 2 438.6±19.5 |
| 2302044 | 666.2±13.1                               | 2 510.7±61.1 | 3 290.5±96.9 | 129.0±3.1 | 3 102.1±87.6 | 3 546.8±105.7 | 2 348.4±45.9 |
| 2302041 | 635.5±4.9                                | 769.4±25.0   | 1 119.0±41.1 | 70.9±1.5  | 2 444.2±24.2 | 2 255.6±22.6  | 682.8±11.0   |
| 2301192 | 503.2±1.7                                | 1 281.9±12.0 | 1 447.1±12.0 | 49.9±0.6  | 2 913.4±15.5 | 3 200.9±17.0  | 846.1±2.4    |

| 样品      | 质量分数/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |              |              |            |                |           |              |
|---------|------------------------------------------|--------------|--------------|------------|----------------|-----------|--------------|
|         | 甘草苷                                      | 类叶升麻苷        | 异类叶升麻苷       | 异绿原酸 A     | 柚皮苷            | 野漆树苷      | 甘草酸          |
| 2301214 | 706.2±5.7                                | 1 581.3±22.0 | 1 590.1±16.2 | 56.05±0.46 | 26 239.6±250.6 | 325.1±2.1 | 2 405.5±16.7 |
| 2301266 | 681.3±5.5                                | 1 573.6±18.4 | 1 385.5±14.9 | 71.57±1.13 | 26 720.3±117.5 | 344.0±2.6 | 2 046.5±32.3 |
| 2301257 | 659.4±10.6                               | 1 809.1±29.6 | 1 316.3±14.0 | 83.73±0.83 | 32 241.2±192.9 | 456.0±7.0 | 2 181.0±10.1 |
| 2301236 | 754.3±7.0                                | 1 045.6±5.6  | 1 841.1±27.2 | 68.77±0.32 | 27 104.8±449.4 | 300.9±3.0 | 2 439.3±27.8 |
| 2302015 | 755.0±8.0                                | 1 646.3±15.0 | 1 216.9±17.0 | 76.28±1.06 | 28 099.9±452.5 | 370.8±5.1 | 1 893.7±31.7 |
| 2301276 | 751.8±4.9                                | 1 703.7±7.0  | 1 639.3±9.1  | 76.57±2.18 | 32 155.8±103.8 | 423.1±1.4 | 2 422.0±28.8 |
| 221155* | 425.0±5.5                                | 1 437.9±21.8 | 1 121.0±14.9 | 57.48±1.70 | 23 057.3±149.5 | 582.7±6.8 | 1 927.6±25.4 |
| 2302044 | 768.8±34.7                               | 1 541.7±32.8 | 1 600.2±25.9 | 79.52±0.56 | 29 639.4±217.5 | 422.8±8.8 | 2 514.0±35.9 |
| 2302041 | 273.6±7.6                                | 1 142.1±13.6 | 976.4±14.5   | 42.86±0.10 | 7 813.6±105.9  | 160.9±3.0 | 1 308.5±9.5  |
| 2301192 | 280.1±11.0                               | 1 065.0±9.9  | 1 202.1±2.1  | 26.03±1.12 | 7 853.1±26.6   | 146.0±0.6 | 1 434.5±33.7 |

麻黄碱的质量浓度以盐酸麻黄碱计；\*平行样本数  $n=6$ ；其他批次平行样本数  $n=3$ 。  
The mass concentration of ephedrine was measured by ephedrine hydrochloride; \* number of parallel samples:  $n = 6$ ; others:  $n = 3$ .

抗病毒活性<sup>[10,12-17]</sup>,与XBG的药效具有一定关联性。

石膏的主要成分为无机物含水硫酸钙,《中国药典》2020年版规定其中含水硫酸钙( $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )不低于95%,且药典中采用滴定法进行测定,不适合采用本实验方法进行定量。《中国药典》2020年版中规定苍术和薏苡仁的质控指标分别是苍术素和甘油三油酸酯,但这2个化合物在质谱中响应较差,且其他来自这2味药材的成分暂时未获得相应对照品,故未考虑选取薏苡仁和苍术的特征成分进行含量测定分析。

3.2 色谱及质谱条件的优化

本实验中L-苦杏仁苷和苦杏仁苷互为差向异构体<sup>[20]</sup>,极性相近,分离困难,故采用2%乙腈作为起始比例,在25 min时上升至4%乙腈,能够使L-苦杏仁苷和苦杏仁苷较好地分离。

离子源参数和毛细管碎裂电压对各化合物的质谱检测灵敏度有直接影响,因此对这些质谱参数进

行了优化。比较不同干燥气体积流量(8、9、10、11、12、13 L/min)、干燥气温度(275、300、325、350 ℃)、雾化气压力[275.790、310.264、344.738、379.212、413.685 kPa(40、45、50、55、60 psi)]、毛细管电压(±2 500、±3 000、±3 500、±4 000 V)和碎裂电压(50、100、150、200、250、300、350 V)等参数下的提取离子色谱图,发现当干燥气体积流量为9 L/min,干燥气温度为300 ℃,雾化气压力为275.790 kPa(40 psi),毛细管电压为±3 500 V,各碎裂电压参数如表1所示时,各化合物的质谱响应最好。麻黄碱是生物碱,只在正离子模式下有质谱响应,其他成分在正、负离子模式下均有质谱响应,但大部分成分在负离子模式下响应更高,而马鞭草苷和戟叶马鞭草苷这2个环烯醚萜苷,在正离子模式下响应更好。因此,麻黄碱、马鞭草苷和戟叶马鞭草苷这3种成分采用质谱正离子模式进行检测,其余成分采用质谱负离子模式进行检测。

### 3.3 供试品溶液制备方法考察

本实验分别比较了不同体积分数(20%、50%、70%)甲醇提取、不同超声提取时间(10、20、30、40 min)对样品提取效果的影响,以 14 种成分峰面积大小作为考察指标,最终确定了供试品溶液的最佳制备方法:采用 50%甲醇为提取溶剂,超声提取 10 min。

### 3.4 XBG 中 14 种成分含量测定

通过上述色谱条件、质谱条件及供试品溶液制备方法的优化,建立了 XBG 中 14 种成分含量测定的 UHPLC-Q-MS 方法。10 批 XBG 的含量测定结果表明,批次间一致性较好。该分析方法具有操作简单、专属性好、准确度高的优点,可对 XBG 进行较全面的质量评价。研究结果可为 XBG 的质量控制及其临床用药提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 高洁,肖光旭,樊官伟,等. “三药三方”治疗 COVID-19 的临床和药理研究进展 [J]. 科学通报, 2022, 67(27): 3296-3310.
- [2] Xiong W Z, Wang G, Du J, *et al.* Efficacy of herbal medicine (Xuanfei Baidu Decoction) combined with conventional drug in treating COVID-19: A pilot randomized clinical trial [J]. *Integr Med Res*, 2020, 9(3): 100489.
- [3] Xing D M, Liu Z B. Effectiveness and safety of traditional Chinese medicine in treating COVID-19: Clinical evidence from China [J]. *Aging Dis*, 2021, 12(8): 1850-1856.
- [4] Li H R, Zhao L, Liang Z Q, *et al.* Identification of Xuanfei Baidu Granule constituents by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry and its anti-inflammatory active constituents using a lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cell model [J]. *Biomed Chromatogr: BMC*, 2024, 38(8): e5898.
- [5] Lyu M, Fan G W, Xiao G X, *et al.* Traditional Chinese medicine in COVID-19 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(11): 3337-3363.
- [6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 中华人民共和国国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版) [J]. 中国医药, 2022, 17(4): 481-487.
- [7] Wang Y Y, Sang X Q, Shao R, *et al.* Xuanfei Baidu Decoction protects against macrophages induced inflammation and pulmonary fibrosis via inhibiting IL-6/STAT3 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114701.
- [8] 王毅,李翔,张俊华,等. 基于网络药理学的宣肺败毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2249-2256.
- [9] 王汉,宋红新,王敦方,等. 基于网络药理学和分子对接探讨宣肺败毒方治疗新型冠状病毒肺炎的潜在作用机制 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(18): 1361-1372.
- [10] Zhao L, Liu H, Wang Y C, *et al.* Multimodal identification by transcriptomics and multiscale bioassays of active components in Xuanfeibaidu formula to suppress macrophage-mediated immune response [J]. *Engineering*, 2023, 20: 63-76.
- [11] Wang X R, Zhang J Z, Luo L F, *et al.* Comparative pharmacokinetics of 24 major bioactive components in normal and ARDS rats after oral administration of Xuanfei Baidu Granules [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115472.
- [12] 梁春晓,王珊珊,陈淑静,等. 虎杖化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1264-1276.
- [13] 杨新荣,窦霞,李国峰,等. 柚皮苷药理作用及机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3226-3240.
- [14] Yang L, Liu T Y, Zhuo Y Z, *et al.* Verbenalin alleviates acute lung injury induced by sepsis and IgG immune complex through GPR18 receptor [J]. *Cell Signal*, 2023, 109: 110768.
- [15] Zhang M, Liu L T, Zhao Y, *et al.* Discovery and evaluation of active compounds from Xuanfei Baidu formula against COVID-19 via SARS-CoV-2 M<sup>pro</sup> [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 94.
- [16] Wang H L, Li Y X, Niu Y T, *et al.* Observing anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of glycyrrhizin through regulating COX-2 and pro-inflammatory cytokines expressions in mice [J]. *Inflammation*, 2015, 38(6): 2269-2278.
- [17] Zhang A, Pan W Y, Lv J, *et al.* Protective effect of amygdalin on LPS-induced acute lung injury by inhibiting NF- $\kappa$ B and NLRP3 signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(3): 745-751.
- [18] Liu Y, Wu H, Nie Y C, *et al.* Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(10): 1606-1612.
- [19] 杨新荣,窦霞,李国峰,等. 柚皮苷药理作用及机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3226-3240.
- [20] 吴军,屠鹏飞,赵玉英. 补阳还五汤中苦杏仁苷的存在形式及其产生机制 [J]. 中草药, 2002, 33(2): 101-104.

[责任编辑 郑礼胜]