

UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法同时测定参芪健胃颗粒中8个成分的含量^Δ

吴丹^{1,2*}, 刘斌³, 邹瑜^{1#} (1. 武汉科技大学医学院职业危害识别与控制湖北省重点实验室, 武汉 430065; 2. 广州医科大学药学院, 广州 511436; 3. 天津佰肽特医药科技有限公司, 天津 300354)

中图分类号 R285.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)05-0600-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.05.19

摘要 目的: 建立同时测定参芪健胃颗粒中绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷含量的方法。方法: 采用超高效液相色谱(UPLC)-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法。色谱柱为 Hypersil Gold C₁₈, 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 0.4 mL/min, 柱温为 35 °C, 进样量为 1 μL; 采用加热型电喷雾离子源, 以正离子检测模式, 在质荷比 100~1 000 范围内进行高分辨率全扫描。通过提取目标化合物的精确质量数进行定量, 测定 2 个厂家共 3 批样品中 8 个成分的含量。结果: 绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷 8 个成分的检测质量浓度线性范围分别为 0.12~1.46、3.51~42.15、2.71~32.55、1.76~21.10、0.04~0.46、0.04~0.24、0.02~0.21、0.01~0.25 μg/mL ($r \geq 0.999 0$); 定量限分别为 6.06、0.04、0.03、0.02、7.60、0.05、0.02、6.25 ng/mL; 检测限分别为 3.03、0.01、0.01、0.01、3.80、0.01、0.01、2.50 ng/mL; 精密密度、重复性及稳定性(24 h) 试验的 RSD 均小于 5% ($n=6$); 平均加样回收率为 93.16%~97.78% ($RSD \leq 5\%$, $n=6$); 3 批样品中 8 个成分的含量分别为 12.62~13.20、265.01~472.26、234.20~278.90、173.10~255.74、2.32~2.83、2.37~3.58、0.79~1.22、0.91~1.78 μg/g。结论: 本方法简便、快速、准确且重复性好、灵敏度高, 可为参芪健胃颗粒的质量控制提供依据。

关键词 超高效液相色谱-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法; 参芪健胃颗粒; 含量测定

Simultaneous Determination of 8 Components Contents in Shenqi Jianwei Granules by UPLC-Q-Exactive Quadrupole Electrostatic Field Orbital Hydrazine High Resolution Mass Spectrometry

WU Dan^{1,2}, LIU Bin³, ZOU Yu¹ (1. Hubei Province Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control, School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2. School of Pharmacy, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China; 3. Tianjin Best Peptide Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Tianjin 300354, China)

有效性提供理论依据。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局. WS-10201(ZD-0201)-2002-2012Z 中成药地方标准上升国家标准部分: 内科肺系分册[S]. 2012.
- [2] 庞晓星, 麻风华, 王清华, 等. UPLC法测定强力枇杷露中吗啡、可待因和罂粟碱的含量[J]. 中医药信息, 2011, 28(1): 35-38.
- [3] 刘敏敏, 刘利颜, 刘丛丛. 液质联用法测定止咳类中成药中 5 种罂粟壳生物碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(23): 3353-3356.
- [4] 刘文伟, 高玉琼, 刘建华, 等. RP-HPLC法同时测定哮喘片中吗啡、盐酸麻黄碱、磷酸可待因的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 731-734.
- [5] 张媛媛, 邱琳, 刘莹. HPLC法测定京制咳嗽痰喘丸中吗啡的含量[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(4): 248-249.
- [6] 王金钱, 周建波, 王焱, 等. HPLC同步测定克咳胶囊中麻黄碱、吗啡[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 62-64.
- [7] 席晓岚, 李明炬, 李宇飞. 用高效液相色谱法测定咳清胶囊中磷酸可待因的含量[J]. 贵阳医学院学报, 2004, 29(1): 42-43, 47.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57-59.
- [9] 罗奕, 姚文丽, 茅向军, 等. HPLC法同时测定咳速停胶囊中 4 种成分[J]. 中成药, 2017, 39(1): 102-106.
- [10] 赵超, 白晓丹, 李锐莉, 等. 川参胶囊的质量标准提高研究[J]. 中国药房, 2018, 29(21): 2902-2907.
- [11] 黄红梅, 苏菊, 王芳, 等. HPLC法同时测定咳速停糖浆中 5 个生物碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4): 688-695.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 369-370.

(收稿日期: 2019-11-29 修回日期: 2020-01-06)

(编辑: 林静)

^Δ 基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(No. 2019CFB104)

* 实验员, 硕士。研究方向: 中药分析。E-mail: 1124868999@qq.com

通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 新药研发。E-mail: zouyu@wust.edu.cn

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for simultaneous determination of chlorogenic acid, paeoniflorin, hesperidin, ammonium glycyrrhizate, limonin, nobiletin, tangeretin and lobetyolin in Shenqi jianwei granules. METHODS: UPLC-Q-Exactive quadrupole electrostatic field orbital hydrazine high resolution mass spectrometry method was adopted. The determination was performed on Hypersil Gold C₁₈ column with a mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution) at the flow rate of 0.4 mL/min. The column temperature was set at 35 °C, the sample size was 1 μL. High resolution full scan experiments was performed over the range of *m/z* 100-1 000 in heating electro-spray ionization and positive mode to extract the accurate mass of analytes. The contents of 8 components were determined in 3 batches of samples from 2 manufacturers. RESULTS: The linear range of chlorogenic acid, paeoniflorin, hesperidin, ammonium glycyrrhizate, limonin, nobiletin, tangeretin and lobetyolin were 0.12-1.46, 3.51-42.15, 2.71-32.55, 1.76-21.10, 0.04-0.46, 0.04-0.24, 0.02-0.21 and 0.01-0.25 μg/mL, respectively (all *r* ≥ 0.999 0). The limits of quantitation were 6.06, 0.04, 0.03, 0.02, 7.60, 0.05, 0.02, 6.25 ng/mL, respectively. The limits of detection were 3.03, 0.01, 0.01, 0.01, 3.80, 0.01, 0.01, 2.50 ng/mL, respectively. RSDs of precision, reproducibility and stability (24 h) tests were all lower than 5% (*n* = 6). Average recoveries were 93.16%-97.78% (RSD ≤ 5%, *n* = 6). The contents of 8 components in 3 batches of samples were 12.62-13.20, 265.01-472.26, 234.20-278.90, 173.10-255.74, 2.32-2.83, 2.37-3.58, 0.79-1.22, 0.91-1.78 μg/g, respectively. CONCLUSIONS: The established method is simple, convenient, rapid, accurate, highly reproducible and sensitive, which can be used for quality control of Shenqi jianwei granules.

KEYWORDS UPLC-Q-Exactive quadrupole electrostatic field orbital hydrazine high resolution mass spectrometry; Shenqi jianwei granules; Content determination

参芪健胃颗粒由党参、当归、山楂、黄芪、茯苓、甘草、白术、桂枝、陈皮、紫苏梗、白芍、海螵蛸、青木香、蒲公英等14味药材提取制成,具有温中健脾、理气和胃之功效,其为非处方药,使用广泛,临床上主要用于治疗胃痛、慢性萎缩性胃炎及消化性溃疡^[1-3]。方中,甘草具有吸附胃酸、保护胃黏膜的作用,甘草酸铵为其有效成分^[4];白芍具有镇静、镇痛、抗炎等作用,芍药苷为其主要有效成分^[5];陈皮有助消化作用,橙皮苷、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素为其有效成分^[6];蒲公英具有清热解毒、消肿止痛的作用,绿原酸为其有效成分之一^[7];党参具有补益脾胃、养血生津的作用,党参炔苷是其主要活性成分之一^[8]。

参芪健胃颗粒收载于卫生部药品标准中药成方制剂第十册,原标准中只有性状、鉴别和检查项,无含量检查方法^[9]。目前,文献中报道的参芪健胃颗粒中成分的含量检测多采用高效液相色谱(HPLC)法,且仅局限于其中的1~3个成分(多为芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵)^[10-13],多组分的含量测定未见报道。为此,本研究拟建立同时测定参芪健胃颗粒中多组分含量的方法。

超高效液相色谱(UPLC)-Q-Exactive四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪将四极杆的高选择性与Orbitrap高分辨准确质量数相结合^[14-16],用于化合物的检测分析时可提高定量及定性的准确性,目前已广泛应用于蛋白质组学、代谢组学、中药质量控制及食品安全领域,尤其在中药质量控制的定性分析中应用较多,但用于定量分析中尚未见文献报道^[17-25]。本研究采用UPLC-Q-Exactive四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法同时测定参芪健胃颗粒中绿原酸、芍药苷、橙皮苷、党参炔苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素等8个成分的含量,为其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

UPLC-Q-Exactive型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪,液相系统为Dionex 3000型高压液相色谱系统,并配备加热型电喷雾离子源(美国Thermo Fisher Scientific公司);ME155DU型电子分析天平、TLE104型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);KQ-118型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);GenPure Pro型超纯水器(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 药品与试剂

参芪健胃颗粒(河南辅仁堂制药有限公司,批号:20180434,规格:16 g/袋;江苏中兴药业有限公司,批号:180923、181010,规格:16 g/袋);绿原酸对照品(上海如吉生物科技发展有限公司,批号:140815,纯度:>98%);芍药苷(批号:110736-200732)、甘草酸铵(批号:110731-200614)各对照品均来源于中国食品药品检定研究院(纯度:>98%);橙皮苷(批号:15070211)、柠檬苦素(批号:17030220)、川陈皮素(批号:15110911)、橘皮素(批号:15110912)各对照品均来源于成都曼斯特生物科技有限公司(纯度:>98%);党参炔苷对照品(珠海安哲科技有限公司,批号:19041,纯度:>98%);甲醇、乙腈均为色谱级,甲酸为质谱级,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Hypersil Gold C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm);流动相:A相为0.1%甲酸水溶液,B相为乙腈,梯度洗脱(0~3 min, 10% B; 3~10 min, 10% B→70% B; 10~13 min, 70% B),进样前按初始流动相比比例平衡5 min;流速:0.4 mL/min;柱温:35 °C;进样量:1 μL。

2.2 质谱条件

离子源:加热型电喷雾离子源;正离子检测模式;鞘气流速:45 arb,辅助气流速:15 arb;喷雾电压:3 500 V;离子传输管温度:320 ℃;辅助气加热温度:350 ℃;分辨率:70 000;扫描范围质荷比(m/z)100~1 000。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷各对照品适量,分别置于不同量瓶中,用甲醇溶解并定容,得对照品单标贮备液。精密移取各对照品单标贮备液适量至同一5 mL量瓶中,用甲醇定容制得混合对照品溶液,上述8种成分的质量浓度分别为2.91、84.30、65.10、42.20、0.91、0.97、0.43、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密称取参芪健胃颗粒粉末约2.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇溶液

10 mL,密塞,称质量,室温条件下超声(功率:400 W,频率:40 kHz)处理30 min,放冷至室温,称定质量,用70%甲醇溶液补足所失质量。取上清液,用0.22 μm 微孔滤膜过滤,再取滤液100 μL ,加入70%甲醇900 μL ,混匀即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 取混合对照品溶液及供试品溶液(批号:20180434),按“2.1”“2.2”项下条件进样分析。用于定量的各待测成分提取离子流图见图1,对照品的质谱图见图2,特征母离子及其他质谱数据见表1。

2.4.2 线性关系及定量限、检测限考察 取“2.3.1”项下混合对照品溶液,用甲醇逐级稀释,得系列混合对照品溶液,其中各待测成分质量浓度分别为绿原酸1.46、0.73、0.36、0.29、0.24、0.18、0.12 $\mu\text{g/mL}$,芍药苷42.15、21.08、10.54、8.43、7.02、5.27、3.51 $\mu\text{g/mL}$,橙皮苷32.55、

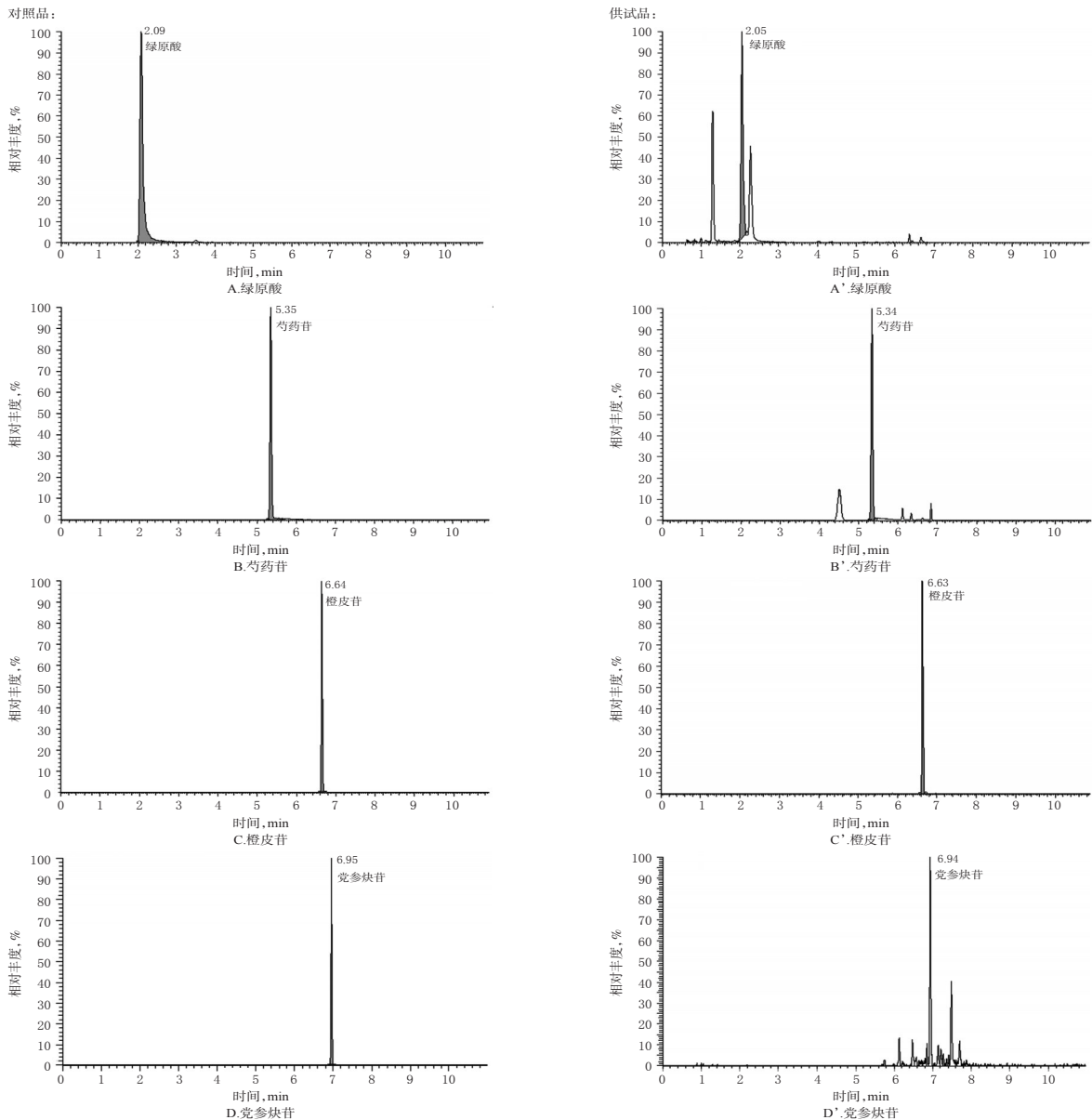
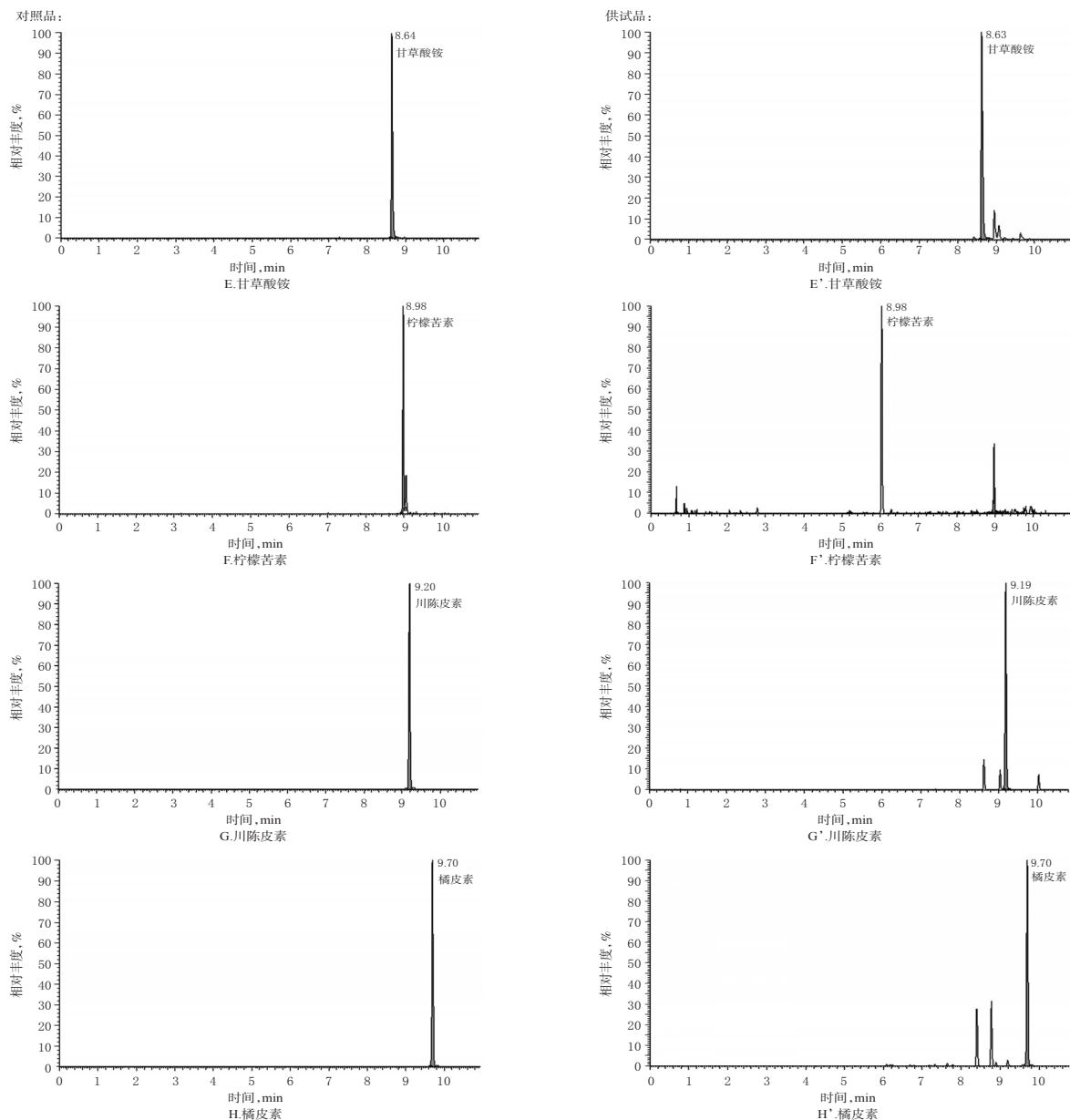


图1 8种待测成分的提取离子流图

Fig 1 Extraction ion current diagram of 8 components to be tested



续图1

Continued fig 1

16.28、6.51、5.43、4.01、3.62、2.71 $\mu\text{g/mL}$ ，甘草酸铵 21.10、10.55、5.28、4.22、3.52、2.64、1.76 $\mu\text{g/mL}$ ，柠檬苦素 0.46、0.23、0.11、0.09、0.08、0.06、0.04 $\mu\text{g/mL}$ ，川陈皮素 0.24、0.12、0.10、0.08、0.06、0.05、0.04 $\mu\text{g/mL}$ ，橘皮素 0.214、0.071、0.043、0.036、0.026、0.024、0.018 $\mu\text{g/mL}$ ，党参炔苷 0.250、0.200、0.100、0.063、0.050、0.025、0.013 $\mu\text{g/mL}$ 。分别取各对照品溶液，按“2.1”“2.2”项下条件进样测定，记录峰面积。以待测成分的质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线，并计算成分的回归方程。结果，8个待测成分在检测质量浓度范围内线性关系良好， r 均大于0.999 0。选取信噪比为10时各待测成分质量浓度作为定量限，信噪比为3时各待测成分质量浓度作为检测限。8个待测成分的线性关系及定量限、检测限结果见表2。

2.4.3 加样回收率考察 取同一批次样品(批号:20180434)1 g,精密称定,平行称取6份,分别精密加入与样品中绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷质量相当的对照品溶液,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件进样检测,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表3。

2.4.4 精密度考察 取“2.3.1”项下同一混合对照品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件连续进样6次,记录各待测成分的峰面积。结果,绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷峰面积的RSD分别为2.26%、1.94%、2.08%、1.92%、2.95%、2.00%、1.40%、1.34%($n=6$),均符合精密度试验的要求。

2.4.5 重复性考察 取同一批次样品(批号:20180434),

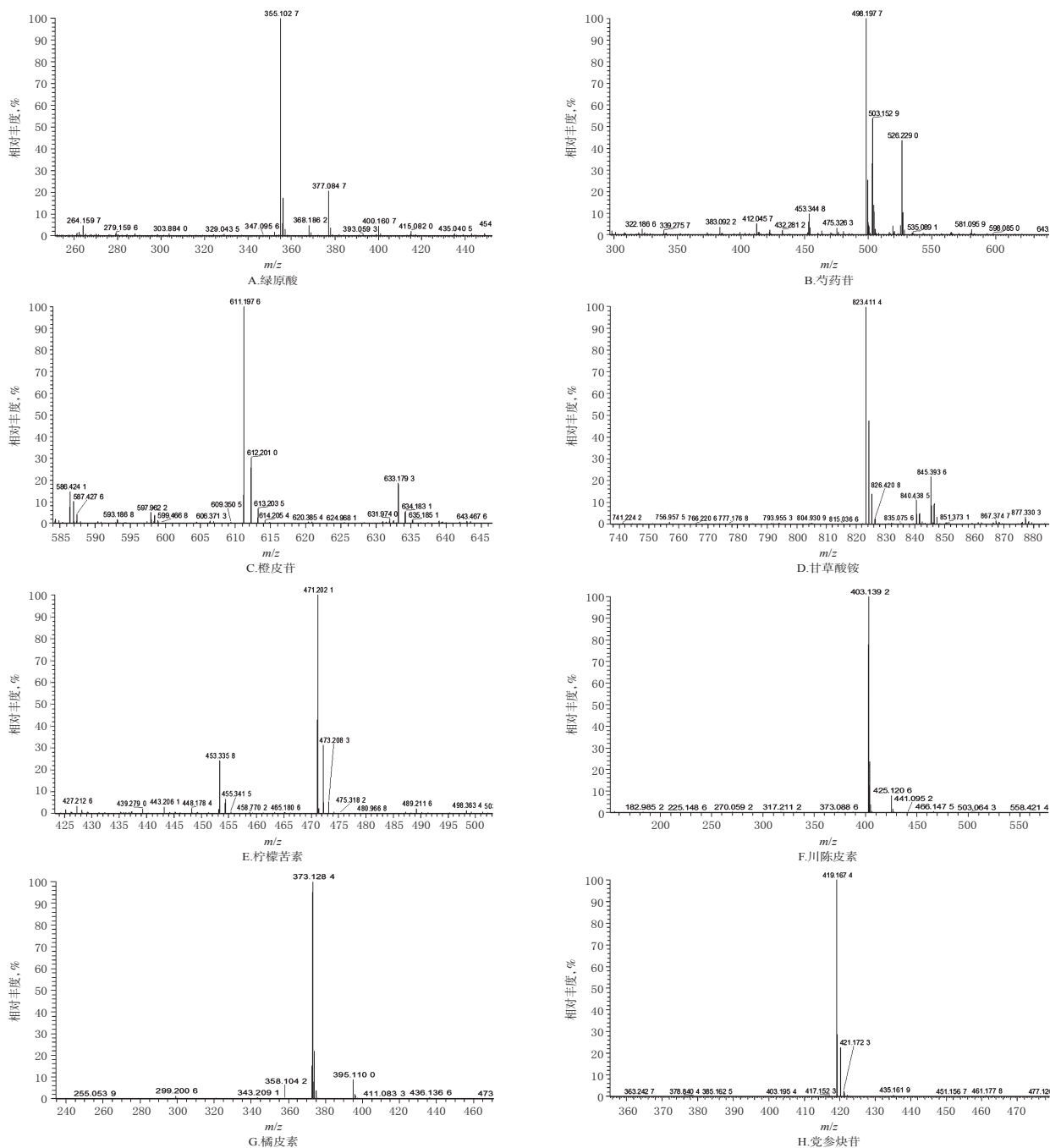


图2 混合对照品质谱图

Fig 2 Mass spectrum of mixed substance control

表1 参芪健胃颗粒中8个待测成分的质谱数据

Tab 1 MS data of 8 components to be tested in Shen-qi jianwei granules

| 待测成分 | 分子式 | 保留时间, min | 理论质量数 | 实际定量质量数 | 质量偏差, ppm |
|------|--|-----------|--|-----------|-----------|
| 绿原酸 | C ₁₆ H ₁₈ O ₈ | 2.09 | 355.102 4[M+H] ⁺ | 355.102 7 | 0.8 |
| 芍药苷 | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ | 5.35 | 498.197 0[M+NH ₄] ⁺ | 498.197 7 | 1.4 |
| 橙皮苷 | C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅ | 6.64 | 611.197 0[M+H] ⁺ | 611.197 6 | 1.0 |
| 甘草酸铵 | C ₄₂ H ₆₈ N ₂ O ₁₆ | 8.64 | 823.411 1[M-NH ₃ +H] ⁺ | 823.411 4 | 0.4 |
| 柠檬苦素 | C ₂₈ H ₃₀ O ₈ | 8.98 | 471.201 3[M+H] ⁺ | 471.202 1 | 0.2 |
| 川陈皮素 | C ₂₁ H ₂₂ O ₈ | 9.20 | 403.138 7[M+H] ⁺ | 403.139 2 | 1.2 |
| 橘皮素 | C ₂₀ H ₂₀ O ₇ | 9.70 | 373.128 2[M+H] ⁺ | 373.128 4 | 0.5 |
| 党参炔苷 | C ₂₀ H ₂₈ O ₈ | 6.94 | 419.167 6[M+Na] ⁺ | 419.167 4 | 0.4 |

共6份,按“2.3.2”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录各待测成分峰面积,并按标准曲线计算其含量。结果,绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷含量的RSD分别为1.51%、3.36%、2.63%、2.56%、4.01%、3.44%、3.91%、4.01%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.4.6 稳定性考察 取同一供试品(批号:20180434)溶液,分别于室温下放置0、2、4、6、8、12、24 h时按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录各待测成分峰面积。结

表2 8个待测成分的线性关系及定量限、检测限结果

Tab 2 Linear relationship, quantitation limits and detection limits of 8 components

| 待测成分 | 回归方程 | r | 线性范围, μg/mL | 定量限, ng/mL | 检测限, ng/mL |
|------|---------------------------------|---------|----------------|---------------|---------------|
| 绿原酸 | y=12 858 152.07x-445 225.66 | 0.999 6 | 0.12~1.46 | 6.06 | 3.03 |
| 芍药苷 | y=3 548 296.10x+1 486 608.82 | 0.999 5 | 3.51~42.15 | 0.04 | 0.01 |
| 橙皮苷 | y=12 155 566.90x+17 807 395.16 | 0.999 5 | 2.71~32.55 | 0.03 | 0.01 |
| 甘草酸铵 | y=5 364 286.29x+2 623 534.86 | 0.999 6 | 1.76~21.10 | 0.02 | 0.01 |
| 柠檬苦素 | y=3 545 243.40x-51 291.28 | 0.999 0 | 0.04~0.46 | 7.60 | 3.80 |
| 川陈皮素 | y=616 148 811.40x+10 775 916.10 | 0.999 7 | 0.04~0.24 | 0.05 | 0.01 |
| 橘皮素 | y=703 355 534.00x+8 783 838.18 | 0.999 5 | 0.02~0.21 | 0.02 | 0.01 |
| 党参炔苷 | y=8 753 055.85x-62 628.73 | 0.999 7 | 0.01~0.25 | 6.25 | 2.50 |

表3 8个待测成分的加样回收率结果(n=6)

Tab 3 Recovery rates of 8 components(n=6)

| 待测成分 | 称样量, g | 样品中含量, μg | 加入量, μg | 测得量, μg | 加样回收 率,% | 平均加样回收 率,% | RSD, % |
|------|-----------|--------------|------------|------------|-------------|---------------|-----------|
| 绿原酸 | 0.999 4 | 12.61 | 12.50 | 24.67 | 96.48 | 96.27 | 3.71 |
| | 1.002 3 | 12.65 | 12.50 | 25.47 | 102.56 | | |
| | 1.102 9 | 13.92 | 12.50 | 25.81 | 95.12 | | |
| | 1.112 0 | 14.03 | 12.50 | 25.73 | 93.60 | | |
| | 1.078 1 | 13.61 | 12.50 | 25.17 | 92.48 | | |
| | 0.998 7 | 12.60 | 12.50 | 24.77 | 97.36 | | |
| 芍药苷 | 0.999 4 | 264.85 | 270.40 | 529.47 | 97.86 | 96.32 | 4.67 |
| | 1.002 3 | 265.62 | 270.40 | 518.60 | 93.56 | | |
| | 1.102 9 | 292.28 | 270.40 | 575.85 | 104.87 | | |
| | 1.112 0 | 294.69 | 270.40 | 547.52 | 93.50 | | |
| | 1.078 1 | 285.71 | 270.40 | 540.70 | 94.30 | | |
| | 0.998 7 | 264.67 | 270.40 | 518.42 | 93.84 | | |
| 橙皮苷 | 0.999 4 | 278.73 | 300.50 | 561.22 | 94.01 | 96.01 | 3.90 |
| | 1.002 3 | 279.54 | 300.50 | 565.71 | 95.23 | | |
| | 1.102 9 | 307.60 | 300.50 | 610.59 | 100.83 | | |
| | 1.112 0 | 310.14 | 300.50 | 586.09 | 91.83 | | |
| | 1.078 1 | 300.68 | 300.50 | 620.48 | 100.43 | | |
| | 0.998 7 | 278.54 | 300.50 | 560.16 | 93.72 | | |
| 甘草酸铵 | 0.999 4 | 255.59 | 260.80 | 494.65 | 91.66 | 96.71 | 4.52 |
| | 1.002 3 | 256.33 | 260.80 | 507.10 | 96.15 | | |
| | 1.102 9 | 282.06 | 260.80 | 528.85 | 94.63 | | |
| | 1.112 0 | 284.38 | 260.80 | 551.89 | 102.57 | | |
| | 1.078 1 | 275.71 | 260.80 | 540.32 | 101.46 | | |
| | 0.998 7 | 255.41 | 260.80 | 500.05 | 93.80 | | |
| 柠檬苦素 | 0.999 4 | 2.32 | 2.50 | 4.61 | 91.60 | 93.16 | 3.71 |
| | 1.002 3 | 2.33 | 2.50 | 4.93 | 93.64 | | |
| | 1.102 9 | 2.56 | 2.50 | 4.73 | 90.03 | | |
| | 1.112 0 | 2.58 | 2.50 | 4.91 | 93.25 | | |
| | 1.078 1 | 2.50 | 2.50 | 4.77 | 90.81 | | |
| | 0.998 7 | 2.32 | 2.50 | 4.92 | 99.63 | | |
| 川陈皮素 | 0.999 4 | 2.37 | 2.50 | 4.81 | 97.24 | 94.39 | 4.38 |
| | 1.002 3 | 2.38 | 2.50 | 4.66 | 91.27 | | |
| | 1.102 9 | 2.61 | 2.50 | 4.83 | 89.31 | | |
| | 1.112 0 | 2.64 | 2.50 | 4.97 | 93.40 | | |
| | 1.078 1 | 2.56 | 2.50 | 5.24 | 100.78 | | |
| | 0.998 7 | 2.37 | 2.50 | 4.72 | 94.36 | | |
| 橘皮素 | 0.999 4 | 0.82 | 0.90 | 1.65 | 92.22 | 97.78 | 4.37 |
| | 1.002 3 | 0.82 | 0.90 | 1.64 | 95.56 | | |
| | 1.102 9 | 0.90 | 0.90 | 1.70 | 94.44 | | |
| | 1.112 0 | 0.91 | 0.90 | 1.83 | 102.22 | | |
| | 1.078 1 | 0.88 | 0.90 | 1.84 | 100.00 | | |
| | 0.998 7 | 0.82 | 0.90 | 1.79 | 102.22 | | |

续表3

Continued tab 3

| 待测成分 | 称样量, g | 样品中含量, μg | 加入量, μg | 测得量, μg | 加样回收 率,% | 平均加样回收 率,% | RSD, % |
|------|-----------|--------------|------------|------------|-------------|---------------|-----------|
| 党参炔苷 | 0.999 4 | 1.78 | 1.80 | 3.36 | 94.44 | 94.63 | 5.00 |
| | 1.002 3 | 1.78 | 1.80 | 3.33 | 90.56 | | |
| | 1.102 9 | 1.96 | 1.80 | 3.88 | 93.89 | | |
| | 1.112 0 | 1.98 | 1.80 | 3.87 | 103.89 | | |
| | 1.078 1 | 1.92 | 1.80 | 3.50 | 92.78 | | |
| | 0.998 7 | 1.78 | 1.80 | 3.43 | 92.22 | | |

果,绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷峰面积的RSD分别为1.22%、0.91%、2.11%、3.77%、4.09%、2.44%、3.43%、2.26%(n=6),表明供试品溶液在室温条件下放置24 h内稳定性良好。

2.5 样品含量测定

目前,临床上使用的参芪健胃颗粒主要来自2个厂家(即河南辅仁堂制药有限公司和江苏中兴药业有限公司),本文选取2个厂家共3批次的样品进行检测。精密称取3批参芪健胃颗粒样品适量,按“2.3.2”项下制备供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积,按标准曲线计算各成分含量,平行3份,取平均值,结果见表4。

表4 参芪健胃颗粒中8个成分的含量结果(n=3,μg/g)

Tab 4 Content of 8 components in Shenqi jianwei granules(n=3,μg/g)

| 批号 | 绿原酸 | 芍药苷 | 橙皮苷 | 甘草酸铵 | 柠檬苦素 | 川陈皮素 | 橘皮素 | 党参炔苷 |
|----------|-------|--------|--------|--------|------|------|------|------|
| 20180434 | 12.62 | 265.01 | 278.90 | 255.74 | 2.32 | 2.37 | 0.79 | 1.78 |
| 180923 | 12.62 | 444.93 | 234.20 | 173.10 | 2.44 | 3.43 | 1.19 | 0.79 |
| 181010 | 13.20 | 472.26 | 242.81 | 179.83 | 2.83 | 3.58 | 1.22 | 0.91 |

3 讨论

3.1 分析方法的选择

由于本文中检测的部分成分(如川陈皮素、橘皮素)的含量较低,采用一般的HPLC法测定时因灵敏度有限,不能同时检出;此外,含量较低的成分虽然可通过浓缩后再采用HPLC方法检测,但增加了浓缩的步骤,使操作变得更繁琐。本研究选用的UPLC-Q-Exactive四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法具有检测限低、灵敏度高、优势,样品提取后无需经过浓缩等处理,样品处理过程更简便。

3.2 色谱条件的优化

为提高电离效率,同时避免出现峰拖尾现象,本研究采用0.1%甲酸水溶液作为流动相。为提高8个成分的分度,缩短分析时间,本研究尝试采用不同的流动相组合来实现8个成分的完全分离。结果表明,采用乙腈-0.1%甲酸水溶液体系进行梯度洗脱,分析时间短(8个成分的保留时间均在10 min之内),分离效果好,方法专属性强。

3.3 扫描方式及定量离子的选择

本文采用的质谱仪可进行全扫描,除可提供定性信

息外,还可选取特征母离子作为定量离子,简化了质谱参数的优化,提高了工作效率。故本研究在正离子检测模式下,采用全扫描方式,在 m/z 100~1 000 范围内检测对照品后,选择响应信号强的特征母离子作为定量离子,并与理论质量数进行比较,结果定量母离子与理论质量数偏差均在 1.5 ppm 之内。

3.4 提取方法的选择

本研究采用 70% 甲醇作为提取溶剂,同时考察了超声提取和加热回流提取对提取率的影响。结果 2 种提取方式所得各成分的提取率相差不大。为简化试验操作,最终采用超声提取的方式。

4 结语

本研究建立了 UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法对参芪健胃颗粒中 8 个成分进行含量测定。结果显示,不同厂家的样品之间,8 个成分的含量有一定的差异,可能与原药材的来源或者生产过程有关。因该制剂现有标准中仅有性状、鉴别和检查项,无含量检测项,故本文研究结果可补充完善已有质量标准。综上,本文建立的方法分析时间短、灵敏度高,可为参芪健胃颗粒的质量控制提供技术支持。

参考文献

[1] 张森,杨沈秋,孙兴华,等.参芪健胃颗粒治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究[J].中国临床药理杂志,2016,32(16):1460-1463.

[2] 王燕.参芪健胃颗粒治疗胃痛的疗效观察[J].中国煤炭工业医学杂志,2012,15(7):1081.

[3] 吴春霞,贾曦.参芪健胃颗粒治疗消化性溃疡 39 例临床观察[J].医学信息,2010,23(11):4376-4377.

[4] 牛晓静,鲁静,端晓颖,等. HPLC 同时测定健脾舒胃凝胶中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵 5 种成分含量[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(2):77-79.

[5] 张桂平,王东旭.HPLC-PDA 法同时测定大黄蛰虫丸中 6 种成分含量[J].中国药房,2019,30(1):54-58.

[6] 魏莹,李文东,杨武亮. HPLC 法测定不同贮存年限广陈皮药材中主要活性成分的含量[J].中国药房,2016,27(15):2131-2134.

[7] 安欣欣,李媛媛,战妍妃,等.基于 UPLC-Q-Exactive 和 HPLC 对蒲公英总黄酮部位成分分析及主成分的含量测定[J].中国新药与临床药理,2019,30(1):99-105.

[8] 张宪,李岳.高效液相色谱法测定肝精补血素口服液中药参炆苷含量[J].中国药业,2019,28(12):32-34.

[9] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂:第十册[S].北京:人民卫生出版社,1995:103-104.

[10] 勾晓丹,姜丽华,张莹莹,等. HPLC 法测定参芪健胃颗粒中阿魏酸含量[J].中国民族民间医药,2015,24(15):17-18.

[11] 马晓静,崔业波,陈美逸.参芪健胃颗粒中芍药苷、橙皮苷和甘草酸铵的含量测定[J].中国药物评价,2016,33(5):412-416.

[12] 余树珍,张红梅,陆春燕.高效液相色谱法测定参芪健胃

颗粒中芍药苷的含量[J].时珍国医国药,2007,18(3):601-602.

[13] 勾晓丹,郑琰,刘淑华.双波长 HPLC 法同时测定参芪健胃颗粒中芍药苷和阿魏酸的含量[J].中医药导报,2016,22(10):53-54.

[14] SCHELTEMA RA, HAUSCHILD JP, LANGE O, et al. The Q exactive HF, a benchtop mass spectrometer with a pre-filter, high-performance quadrupole and an ultra-high-field orbitrap analyzer[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13(12):3698-3708.

[15] 刘芸,丁涛,费晓庆,等.高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱检测蜂蜜中的 4-甲基咪唑和 2-甲基咪唑[J].食品安全质量检测学报,2014,5(10):2979-2986.

[16] MICHALSKI A, DAMOC E, HAUSCHILD JP, et al. Mass spectrometry-based proteomics using Q exactive, a high-performance benchtop quadrupole orbitrap mass spectrometer[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10(9):M111.

[17] WANG SP, LIU L, WANG LL, et al. Simultaneous determination of six hydrophilic components in rat plasma after oral administration of Jitai tablet by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study[J]. *J Chromatogr B*, 2013.DOI:10.1016/j.jchromb.2012.11.019.

[18] 陈达炜,高洁,吕冰,等.超高效液相色谱-高分辨质谱法快速筛查土豆中的多种农药残留[J].分析化学,2014,42(4):579-584.

[19] HELFER AG, MICHELY JA, WEBER AA, et al. Orbitrap technology for comprehensive metabolite-based liquid chromatographic high resolution-tandem mass spectrometric urine drug screening: exemplified for cardiovascular drugs[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015.DOI:10.1016/j.aca.2015.08.018

[20] 董红娇,陈晓虎,曾锐,等. UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分[J].中草药,2016,47(14):2428-2435.

[21] FORNELLI L, DURBIN KR, FELLERS RT, et al. Advancing top-down analysis of the human proteome using a benchtop quadrupole-orbitrap mass spectrometer[J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(2):609-618.

[22] 张璐,张亚莉,何强,等.超高效液相色谱/线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查土壤中氨基甲酸酯类农药残留量[J].分析实验室,2017,36(1):60-65.

[23] 胡英还,许文倩,秦雪梅,等. UHPLC-Q-Exactive 轨道阱高分辨质谱在线快速识别黄芪建中汤的化学成分[J].药学学报,2017,52(6):964-970.

[24] 李云飞,殷红,杨凌春,等.超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速测定食品中 6 种甜味剂[J].环境化学,2016,35(8):1737-1740.

[25] 王长生,董红娇,包雅婷,等. UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析粗茎秦艽化学成分[J].中草药,2016,47(18):3715-3180.

(收稿日期:2019-09-03 修回日期:2019-10-21)

(编辑:刘 萍)