

一测多评法同时测定瑶药月里瑶秘喷雾剂中7种有效成分的含量^Δ

张競之^{1*}, 赵丹青², 王正蓉^{1,2}, 贾金艳³, 杨林³, 张升盛⁴, 刘歆蕾¹, 伍庆⁴, 潘卫^{1,2#}(1.贵州医科大学医学检验学院, 贵阳 550004; 2.贵州医科大学附属医院贵州省产前诊断中心, 贵阳 550004; 3.贵州宏宇药业有限公司, 贵阳 550001; 4.贵州师范大学贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室/分析测试中心, 贵阳 550001)

中图分类号 R917;R29 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)09-1044-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.09.05

摘要 目的:建立一测多评(QAMS)法同时测定瑶药月里瑶秘喷雾剂中 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯等7种有效成分的含量,为该制剂质量控制提供方法参考。方法:采用气相色谱法进行测定。色谱柱为DB-1701P毛细管柱,载气为氮气,氢火焰离子检测器的温度为240℃,程序升温,进样口温度为240℃,进样量为1 μ L,分流比为20:1。以柠檬烯为内参物,计算其余6种成分的相对校正因子,再根据相对校正因子计算出6种成分的含量,并与内标法(以萘为内标物)测定结果进行比较。结果: α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯检测质量浓度的线性范围分别为0.008 9~1.110 0、0.028 3~3.540 0、0.020 5~2.560 0、0.023 0~2.880 0、0.016 3~2.035 0、0.013 1~1.640 0、0.008 3~1.040 0 mg/mL(r 均大于0.999 0);定量限分别为0.005 6、0.013 1、0.011 4、0.018 6、0.010 8、0.008 9、0.004 5 mg/mL;检测限分别为0.001 9、0.004 1、0.003 7、0.006 2、0.003 5、0.002 9、0.001 5 mg/mL;精密密度、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于2%($n=5$ 或 $n=6$);平均回收率分别为98.48%、101.37%、97.96%、99.80%、102.79%、97.77%、102.14%,RSD均小于2%($n=9$)。 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯的平均相对校正因子分别为1.045 8、0.621 0、0.488 5、0.382 9、0.708 9、0.956 9,RSD均小于2%($n=6$)。QAMS法和内标法测得的7种成分的含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:建立的QAMS法简便、准确、稳定且重现性良好,可用于月里瑶秘喷雾剂中7种成分的同时测定。

关键词 一测多评法;瑶药;月里瑶秘喷雾剂;气相色谱法;质量控制

Simultaneous Determination of 7 Effective Components in Yao Medicine Yueli Yaomi Spray by QAMS

ZHANG Jingzhi¹, ZHAO Danqing², WANG Zhengrong^{1,2}, JIA Jinyan³, YANG Lin³, ZHANG Shengsheng⁴, LIU Xinlei¹, WU Qing⁴, PAN Wei^{1,2}(1.School of Clinical Laboratory Science, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2.Guizhou Provincial Prenatal Diagnosis Center, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3.Guizhou Hongyu Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550001, China; 4. Guizhou Key Laboratory of Mountainous Environment Information System and Environment Protection/Analysis and Measurement Center, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish QAMS method for simultaneous determination of 7 effective components in Yao medicine Yueli yaomi spray, such as α -cyperone, α -pinene, β -pinene, limonene, β -elemene, caryophyllene oxide and ligustilide, so as to provide method reference for the quality control of the preparation. METHODS: GC method was adopted. The determination was performed on DB-1701P capillary column, using nitrogen as carrier gas. The temperature of the hydrogen flame ion detector was 240 °C. The temperature was programmed, the inlet temperature was 240 °C, the injection volume was 1 μ L and the split ratio was 20 : 1. Using limonene as internal reference, the relative correction factors of other 6 components were calculated, the contents of them were calculated with relative correction factors, and then compared with the results of internal standard method (using naphthalene as internal standard). RESULTS: The mass concentration linear range of α -cyperone, α -pinene, β -pinene, limonene, β -elemene, caryophyllene oxide and ligustilide were 0.008 9-1.110 0, 0.028 3-3.540 0, 0.020 5-2.560 0, 0.023 0-2.880 0, 0.016 3-2.035 0, 0.013 1-1.640 0, 0.008 3-1.040 0 mg/mL (all $r>0.999 0$); the limits of quantification were 0.005 6, 0.013 1, 0.011 4, 0.018 6, 0.010 8, 0.008 9, 0.004 5 mg/mL; the detection limits were 0.001 9, 0.004 1, 0.003 7, 0.006 2, 0.003 5, 0.002 9, 0.001 5 mg/mL; RSDs for precision, stability (24 h), and repeatability tests were all less than 2% ($n=5$ or $n=6$); the average recoveries were 98.48%, 101.37%, 97.96%, 99.80%, 102.79%, 97.77%, 102.14%, and RSDs were all lower than 2% ($n=9$), respectively. The average relative correction factors of α -cyperone, α -pinene, β -pinene, β -elemene, caryophyllene oxide and ligustilide were 1.045 8, 0.621 0, 0.488 5, 0.382 9, 0.708 9, 0.956 9

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81960284);贵州省教育厅创新群体重大项目(No.黔教合KY字[2018]014)

* 硕士研究生。研究方向:临床检验诊断学、产前诊断。电话:0851-86772684。E-mail:895264190@qq.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:临床检验诊断学、产前诊断。电话:0851-86772684。E-mail:pw_6602@sina.com

respectively, and the RSDs were all lower than 2% ($n=6$). There was no statistical significance in contents of 7 components between QAMS method and internal standard method ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The established QAMS method is simple, accurate, stable and reproducible, and can be used for simultaneous determination for 7 components in Yueli yaomi spray.

KEYWORDS QAMS; Yao medicine; Yueli yaomi spray; GC; Quality control

妊娠期糖尿病是一种妊娠期常见的并发症,其极易增加妊娠相关母儿并发症的风险,并且患有该病的孕妇常伴随较严重的忧郁多虑、焦躁易怒等不良情绪^[1-2]。同时,产后妇女多有元气大损、气血亏虚、瘀血的表现,临床需要安全、温和、毒副作用少的药物来辅助孕产妇的机体恢复。依据瑶医学核心“盈亏平衡理论”,产后妇女的身体虚弱、气血不畅均为亏虚引起。瑶医用药原则是“亏则补之”,治疗亏症以和缓、平调脏腑的“风药”为主^[3-4]。月里瑶秘喷雾剂是由香附和当归两味药经山茶油调配而成的瑶药,其中以香附为主要药材,当归辅之,且两者皆属“风类药”。该制剂具有较好的镇静安抚、补血理气、解痉镇痛、抗炎抑菌功效,对患有妊娠糖尿病并伴有焦虑不安情绪的孕产妇具有较好的镇定舒缓作用,可辅助产后机体恢复。方中香附气平,味辛,理气解郁;当归性温,味甘,补血活血;两者皆有调经止痛之功效^[5]。香附的主要成分多集中在挥发油中,主要有 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯等,其中 α -香附酮可调解解痛^[6],氧化石竹烯能促进细胞修复和再生, α -蒎烯、 β -蒎烯和 β -榄香烯有抑菌作用,并且香附中总黄酮、 β -香附酮等还具有降血糖、调血脂之功效^[7]。当归的主要有效成分藁本内酯、 α -蒎烯等,也存在于挥发油中^[8-9],其中藁本内酯有很强的镇定解痉功效,对平滑肌有明显的松弛作用^[10]。

月里瑶秘喷雾剂作为以孕产妇为适用人群的瑶药,对其进行有效质量控制必不可少。香附与当归含有多种有效化学成分,但在缺乏某些对照品或需严格控制成本时,逐一对照多种成分进行质量控制费时费力。有文献报道,可采用气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)等方法测定香附、当归中有效成分含量^[11-14],却未有研究能全面有效地对月里瑶秘喷雾剂中香附与当归进行质量控制。2010年版《中国药典》(一部)首次收录了一测多评(QAMS)法,该法通过测定样品中某一成分含量,建立其余各成分的相对校正因子,从而计算出各成分的含量,具有显著降低药物质量控制成本、高效同步测定多个成分的特点^[15-16]。因此,本研究采用QAMS法,以柠檬烯为内参物,建立同时测定月里瑶秘喷雾剂中 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯等7种有效成分含量的GC法,以期对月里瑶秘喷雾剂的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

7890B型GC仪、7683型自动进样装置、氢火焰离子化检测器、DB-1701P型毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m)均购自美国Agilent公司;XS-105型电子天平(瑞士

Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

月里瑶秘喷雾剂(批号:20190313、20190521、20190807、20191029,规格:20 mL/瓶)和缺香附的阴性样品、缺当归的阴性样品、缺山茶油的阴性样品以及缺香附、当归、山茶油的阴性样品(批号均为20190917,规格:20 mL/瓶)均由贵州宏宇药业有限公司提供; α -蒎烯对照品(批号:D8-11-4,纯度: $\geq 98\%$)、 β -蒎烯对照品(批号:127-97-3,纯度: $\geq 98\%$)均购于上海麦克林生化有限公司;柠檬烯对照品(北京北纳创联生物技术研究院,批号:180109,纯度: $\geq 98\%$); β -榄香烯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100268-200401);氧化石竹烯对照品(批号:A20N10L103699)、 α -香附酮对照品(批号:Z08A10L94945)、藁本内酯对照品(批号:R06S10F97-106)均购于上海源叶生物科技有限公司,纯度均不低于98%;内标萘(天津市鼎盛鑫化工有限公司,批号:20161103,纯度: $\geq 99.7\%$);二氯甲烷等试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 内标溶液 精密称取适量内标萘,用二氯甲烷溶解并制备成质量浓度为1.68 mg/mL的内标溶液。

2.1.2 混合对照品溶液 分别精密称取 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯等7种对照品适量,用二氯甲烷溶解并制成上述各成分质量浓度分别为2.22、7.08、5.12、5.76、4.07、3.28、2.08 mg/mL的单一对照品贮备液。分别精密吸取上述各贮备液83、32、425、795、205、114、215 μ L以及内标溶液500 μ L,置于同一5 mL量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度,混匀,即得上述7种成分质量浓度分别为0.037、0.045、0.435、0.916、0.167、0.075、0.089 mg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液 分别精密量取月里瑶秘喷雾剂和内标溶液各1 mL,置于同一10 mL量瓶中,加二氯甲烷定容至刻度,混匀,即得。

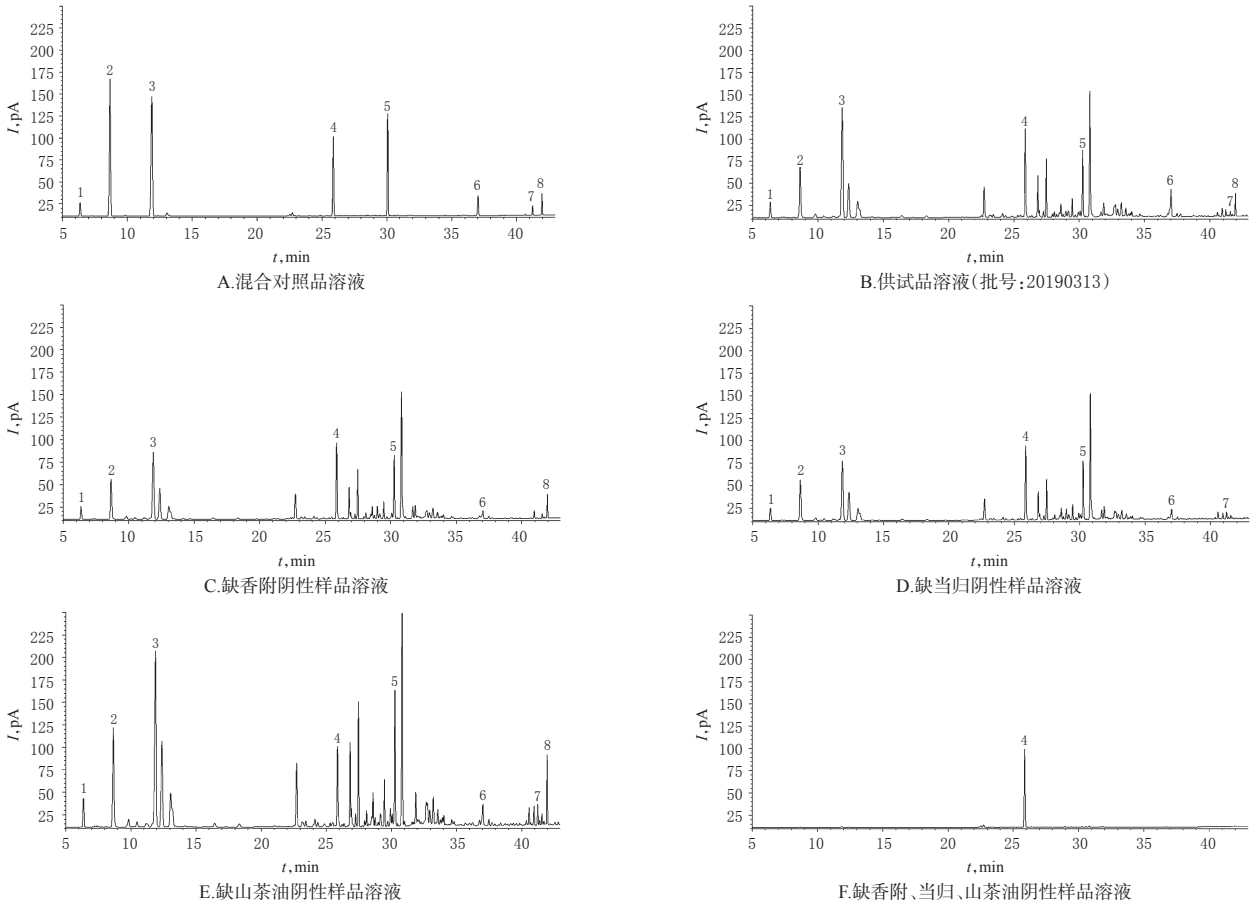
2.1.4 阴性样品溶液 取缺香附的阴性样品、缺当归的阴性样品、缺山茶油的阴性样品以及缺香附、当归、山茶油的阴性样品,分别按“2.1.3”项下方法制备成相应的阴性样品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:DB-1701P毛细管柱(30 m \times 0.32 mm, 0.25 μ m);载气:氮气(纯度: $>99.999\%$);氢火焰离子检测器温度:240 $^{\circ}$ C;程序升温(初始温度50 $^{\circ}$ C,保持1 min;以1 $^{\circ}$ C/min升到65 $^{\circ}$ C,保持2 min;再以5 $^{\circ}$ C/min升到105 $^{\circ}$ C,并立即以10 $^{\circ}$ C/min升到120 $^{\circ}$ C,再立即以4 $^{\circ}$ C/min升

到152℃,保持1min;再以8℃/min升到190℃,最后以5℃/min升到250℃);进样口温度:240℃;进样量:1μL;分流比:20:1。分别精密吸取“2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各1μL,分别注入

GC仪进行测定,记录色谱图。结果显示,各成分峰均能达到基线分离,分离度均大于3,理论板数以各待测成分计均大于3000,且阴性样品无干扰。色谱图详见图1。



注:1.α-蒎烯;2.β-蒎烯;3.柠檬烯;4.萘(内标);5.β-榄香烯;6.氧化石竹烯;7.α-香附酮;8.藁本内酯

Note: 1. α-pinene; 2. β-pinene; 3. limonene; 4. naphthalene(internal standard); 5. β-elemene; 6. caryophyllene oxide; 7. α-cyperone; 8. ligustilide

图1 气相色谱图

Fig 1 GC chromatograms

2.3 线性关系考察

取“2.1.2”项下α-香附酮、α-蒎烯、β-蒎烯、柠檬烯、β-榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯单一对照品贮备液(各成分贮备液均按0.02、0.50、1.00、1.50、2.50 mL精密吸取),分别置于5 mL量瓶中,精密加入“2.1.1”项下内标溶液1 mL,用二氯甲烷定容至刻度,混匀,制成单一对照品的系列线性溶液。取上述线性溶液按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以各成分与内标质量浓度的比值为横坐标(x)、峰面积的比值为纵坐标(y)进行回归分析。结果显示,α-香附酮、α-蒎烯、β-蒎烯、柠檬烯、β-榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯在各自相应的质量浓度范围内线性关系均良好($r > 0.9990$),结果详见表1。

2.4 定量限与检测限考察

取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,以二氯甲烷进行倍比稀释后,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,当信噪比为10:1、3:1时分别测得定量限和检测限。结果,α-香附酮、α-蒎烯、β-蒎烯、柠檬烯、β-榄香烯、

表1 7种成分的回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equation and linear range of 7 components

成分	回归方程	r	线性范围,mg/mL
α-香附酮	$y=0.4250x-0.0036$	0.9992	0.0089~1.1100
α-蒎烯	$y=0.6390x+0.0237$	0.9995	0.0283~3.5400
β-蒎烯	$y=0.8518x+0.0873$	0.9997	0.0205~2.5600
柠檬烯	$y=0.4161x+0.2019$	0.9994	0.0230~2.8800
β-榄香烯	$y=1.1494x+0.0387$	0.9993	0.0163~2.0350
氧化石竹烯	$y=0.6218x+0.0082$	0.9994	0.0131~1.6400
藁本内酯	$y=0.4611x-0.0062$	0.9995	0.0083~1.0400

氧化石竹烯、藁本内酯的定量限分别为0.0056、0.0131、0.0114、0.0186、0.0108、0.0089、0.0045 mg/mL,检测限分别为0.0019、0.0041、0.0037、0.0062、0.0035、0.0029、0.0015 mg/mL。

2.5 精密度试验

取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.2”色谱条件下连续进样6次,记录峰面积。结果,α-香附酮、α-蒎

烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯峰面积与内标峰面积比值的RSD分别为0.24%、0.17%、0.31%、0.12%、0.27%、0.08%、0.14% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.1.3”项下供试品溶液(批号:20190313),分别于室温下放置0、3、6、12、24 h时按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果, α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯的峰面积与内标峰面积比值的RSD分别为0.75%、0.85%、0.71%、0.79%、0.64%、0.59%、0.68% ($n=5$),表明该供试品溶液在室温下放置24 h稳定。

2.7 重复性试验

取月里瑶秘喷雾剂样品(批号:20190313),按“2.1.3”项方法平行制备6份供试品溶液,然后按“2.2”项色谱条件进样测定,记录峰面积,并按内标法计算各成分含量。结果, α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯的平均含量分别为0.023 2、0.055 0、0.169 5、0.841 4、0.133 8、0.113 8、0.077 8 mg/mL, RSD分别为0.94%、0.76%、0.87%、0.72%、0.79%、0.83%、0.69% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的同一批月里瑶秘喷雾剂样品(批号:20190313) 0.5 mL,共9份,分别按已知成分含量的80%、100%、120%加入相应的单一成分对照品贮备液,然后按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算各成分的回收率。结果, α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯的平均加样回收率分别为98.48%、101.37%、97.96%、99.80%、102.79%、97.77%、102.14%,RSD分别为0.80%、1.37%、1.32%、0.67%、0.80%、0.97%、0.86% ($n=9$),表明该方法准确度较好,详见表2。

2.9 相对校正因子的计算

精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,共6份,分别按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以柠檬烯为内参物,计算各化合物的校正因子: $f = \frac{A_i/c_i}{A_s/c_s}$ 。式中, A_i 为内标物峰面积, c_i 为内标物质量浓度, A_s 为其他组分 s 的峰面积, c_s 为其他组分 s 的质量浓度。然后再计算 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯相对于柠檬烯的相对校正因子: $R_j = f_j/f_{柠檬烯}$ 。式中, f_s 为其他组分 s 的校正因子。结果显示, α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯的平均相对校正因子分别为1.045 8、0.621 0、0.488 5、0.382 9、0.708 9、0.956 9,RSD分别为1.10%、1.23%、1.15%、1.51%、1.02%、0.75% ($n=6$),表明各成分相对校正因子的准确性较好。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery tests ($n=9$)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%			
α -香附酮	0.115 9	0.092 7	0.207 6	99.51	98.48	0.80			
	0.115 9	0.092 7	0.203 8	97.69					
	0.115 9	0.092 7	0.205 7	98.60					
	0.115 9	0.115 9	0.228 6	98.62					
	0.115 9	0.115 9	0.225 3	97.19					
	0.115 9	0.115 9	0.229 8	99.13					
	0.115 9	0.139 1	0.249 6	97.89					
	0.115 9	0.139 1	0.250 7	98.32					
	0.115 9	0.139 1	0.253 4	99.38					
	α -蒎烯	0.275 0	0.220 0	0.510 3			103.08	101.37	1.37
		0.275 0	0.220 0	0.502 7			101.55		
		0.275 0	0.220 0	0.506 7			102.35		
		0.275 0	0.275 0	0.559 8			101.77		
		0.275 0	0.275 0	0.547 5			99.54		
		0.275 0	0.275 0	0.543 8			98.86		
0.275 0		0.330 0	0.615 3	101.69					
0.275 0		0.330 0	0.620 7	102.58					
0.275 0		0.330 0	0.610 4	100.88					
β -蒎烯		0.847 6	0.678 1	1.503 4	98.54	97.96	1.32		
		0.084 6	0.678 1	1.487 4	97.49				
		0.084 6	0.678 1	1.466 1	96.09				
		0.084 6	0.084 6	1.665 1	98.22				
		0.084 6	0.084 6	1.697 6	100.14				
		0.084 6	0.084 6	1.686 5	99.48				
	0.084 6	1.017 2	1.822 1	97.71					
	0.084 6	1.017 2	1.814 8	97.32					
	0.084 6	1.017 2	1.802 6	96.67					
	柠檬烯	4.207 0	3.365 6	7.556 7	99.79			99.80	0.67
		4.207 0	3.365 6	7.585 4	100.17				
		4.207 0	3.365 6	7.523 7	99.35				
		4.207 0	4.207 0	8.475 3	100.73				
		4.207 0	4.207 0	8.483 9	100.83				
		4.207 0	4.207 0	8.396 4	99.79				
4.207 0		5.048 4	9.146 5	98.82					
4.207 0		5.048 4	9.207 1	99.48					
4.207 0		5.048 4	9.188 1	99.27					
β -榄香烯		0.669 0	0.535 2	1.236 8	102.71	102.79	0.80		
		0.669 0	0.535 2	1.240 7	103.03				
		0.669 0	0.535 2	1.227 9	101.97				
		0.669 0	0.669 0	1.352 7	101.10				
		0.669 0	0.669 0	1.375 4	102.79				
		0.669 0	0.669 0	1.389 3	103.83				
	0.669 0	0.802 8	1.522 3	103.43					
	0.669 0	0.802 8	1.520 7	103.32					
	0.669 0	0.802 8	1.514 3	102.89					
	氧化石竹烯	0.569 0	0.455 2	1.002 1	97.84			97.77	0.97
		0.569 0	0.455 2	1.011 7	98.78				
		0.569 0	0.455 2	1.010 5	98.66				
		0.569 0	0.569 0	1.123 4	98.72				
		0.569 0	0.569 0	1.110 3	97.57				
		0.569 0	0.569 0	1.113 9	97.88				
0.569 0		0.682 8	1.217 6	97.27					
0.569 0		0.682 8	1.198 4	95.74					
0.569 0		0.682 8	1.219 7	97.44					
藁本内酯		0.389 1	0.311 3	0.716 3	102.27	102.14	0.86		
		0.389 1	0.311 3	0.723 4	103.28				
		0.389 1	0.311 3	0.720 9	102.93				
		0.389 1	0.389 1	0.782 6	100.56				

续表2

Continued tab 2

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
	0.389 1	0.389 1	0.787 5	101.19		
	0.389 1	0.389 1	0.795 7	102.24		
	0.389 1	0.466 9	0.881 2	102.94		
	0.389 1	0.466 9	0.874 3	102.13		
	0.389 1	0.466 9	0.870 8	101.72		

2.10 待测组分色谱峰的定位

采用相对保留时间法进行色谱峰的定位。精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,共4份,分别按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰的保留时间并计算 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯相对于柠檬烯的保留时间差: $\Delta t_{R_s/R_{柠檬烯}} = t_{R_s} - t_{R_{柠檬烯}}$ 。式中, t_{R_s} 为其他成分 s 的保留时间, $t_{R_{柠檬烯}}$ 为内标物柠檬烯的保留时间。结果显示,以上6个成分相对于

表3 3批样品含量测定结果(mg/mL)

Tab 3 Results of content determination of 3 batches of samples(mg/mL)

样品批号	柠檬烯	α -香附酮		α -蒎烯		β -蒎烯		β -榄香烯		氧化石竹烯		藁本内酯	
		内标法	QAMS法	内标法	QAMS法	内标法	QAMS法	内标法	QAMS法	内标法	QAMS法	内标法	QAMS法
20190521	8.414 0	0.231 9	0.231 8	0.550 0	0.550 1	1.695 5	1.695 3	1.338 3	1.338 0	1.137 8	1.138 0	0.778 2	0.778 2
20190807	8.435 6	0.241 6	0.241 8	0.551 4	0.551 0	1.703 4	1.702 9	1.346 7	1.347 1	1.147 5	1.147 9	0.784 3	0.784 9
20191029	8.397 5	0.226 8	0.227 1	0.547 3	0.547 2	1.682 1	1.682 7	1.327 6	1.327 9	1.128 1	1.127 6	0.764 3	0.764 8

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

在前期研究中,笔者通过程序升温考察了初始温度、升温速率以及分流比对色谱峰分离度的影响,确定了最终色谱条件为初始温度50℃、分流比20:1。此外,笔者分别考察了DB-1701P(30 m×0.32 mm,0.25 μm)、DB-1701(30 m×0.32 mm,0.25 μm)、HP-5(30 m×0.32 mm,0.25 μm)、DB-WAX(30 m×0.25 mm,0.25 μm)等4种石英毛细管柱的分离效果。结果显示,型号为DB-1701、HP-5、DB-WAX的3种色谱柱无法将目标峰与杂质峰分离,而型号为DB-1701P的色谱柱在分离度、峰形、响应值方面均较其他色谱柱效果更好,更适用于月里瑶秘喷雾剂的成分分析。

3.2 内标物的选择

由于月里瑶秘喷雾的成分复杂,相比于外标法,采用内标法检测的结果会更加准确。笔者前期分别将萘、邻苯二甲酸二甲酯、水杨酸甲酯、丙二酸二乙酯等作为内标候选物进行了考察。结果发现水杨酸甲酯、丙二酸二乙酯、邻苯二甲酸二甲酯的出峰时间与样品中部分峰重合;而萘的出峰位置在柠檬烯与 β -榄香烯之间,且分离效果良好,可防止系统误差的产生。因此,在本研究中选择萘作为内标物进行含量测定。

3.3 内参物的选择

笔者在研究中发现, β -榄香烯和柠檬烯在月里瑶秘喷雾剂中的含量均较高且较稳定。但从质控成本角度来看,柠檬烯较 β -榄香烯价格更低廉、出峰时间更快,且附近的干扰峰也较少。根据QAMS法内参物易得、价

廉、有效、稳定的选择原则^[10],本研究最终选择柠檬烯作为内参物进行相对校正因子的计算。

2.11 样品含量测定

取3批月里瑶秘喷雾剂样品(批号:20190521、20190807、20191029),分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液后,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别采用内标法和QAMS法计算3个批次样品中7种成分的含量。应用SPSS 19.0统计软件对2种方法测得结果进行 t 检验分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。结果显示,2种方法测定的7种成分的含量差异均无统计学意义($P > 0.05$),表明QAMS法用于同时测定月里瑶秘喷雾剂多种成分是可行的。7种成分的含量测定结果见表3。

综上所述,本研究以萘为内标物,首次建立了QAMS法同时测定月里瑶秘喷雾剂中 α -香附酮、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -榄香烯、氧化石竹烯、藁本内酯7种有效成分的含量,且和内标法测得的结果差异无统计学意义。本研究建立的QAMS法进行月里瑶秘喷雾剂的质量控制是可行的,可为该制剂的全面质量控制奠定基础。

参考文献

- [1] 田红霞. 88例妊娠糖尿病产妇产心理障碍的护理观察[J]. 中国实用医药, 2013, 8(35): 183-184.
- [2] 吕水玉, 柯秀权, 刘玲玲. 妊娠期糖尿病患者心理健康状况的临床调查研究[J]. 中国医学创新, 2019, 16(16): 109-112.
- [3] 李彤. 瑶医核心病机“盈亏平衡理论”初探[J]. 广西中医药, 2011, 34(3): 43-44.
- [4] 唐汉庆, 黄岑汉, 黄秀峰, 等. 瑶医学的哲学基础及其对瑶医药应用的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 215-216.
- [5] 李梅, 王秋, 彭崇胜, 等. 中医学基础[M]. 2版. 北京: 中国医药科技出版社, 2009: 253.
- [6] 刘成彬, 张少聪, 李青天. 香附的现代药理研究进展[J]. 光明中医, 2009, 24(4): 787-788.
- [7] 罗嘉, 黄佳. 香附总黄酮对糖尿病大鼠血糖血脂及抗氧化活性的影响[J]. 解剖学研究, 2017, 39(6): 15-18, 34.
- [8] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [9] 刘琳娜, 梅其炳, 程建峰. 当归挥发油的化学成分分析[J].

基于UPLC-Q-TOF-MS法分析生、炙甘草中化学成分的差异性^Δ

崔园园*,周永峰,马艳芹,房吉祥,王国强,张蓉蓉,董 旂,张 萍*(中国人民解放军总医院医疗保障中心,北京 100039)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)09-1049-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.09.06

摘要 目的:比较生、炙甘草的化学成分差异,为阐明甘草炮制前后化学成分的变化规律以及甘草生熟异用的物质基础提供参考。方法:采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对生、炙甘草中成分进行检测,通过将所得化合物的保留时间、相对分子量等信息与METLIN、安捷伦MassHunter PCDL Manager离线成分鉴定工作站等数据库以及相关文献进行比对后,对其化学成分进行初步鉴定。采用主成分分析(PCA)法观察样本的整体分布趋势;采用正交偏最小二乘法(OPLS-DA)法对差异性化合物进行筛选[以变量投影重要度(VIP)>1.0和 $|P(\text{corr})| \geq 0.5$ 为标准],并分析差异性化合物的含量变化。结果:从生、炙甘草中初步鉴定出了31个共有化合物。PCA分析结果显示,生、炙甘草样本均能够较好地分离。OPLS-DA分析结果显示,在生、炙甘草中共筛选出了15个特征差异性化合物,包括黄酮类化合物13个、香豆素类化合物2个;甘草蜜炙后甘草黄酮A、甘草素以及光甘草定等8种黄酮类化合物的含量显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),甘草黄酮醇、甘草宁A等5种黄酮类化合物以及2',4'-三羟基-5-甲氧基-3-芳香豆素、红花岩黄芩香豆雌酚B等2种香豆素类化合物的含量显著降低($P < 0.01$)。结论:甘草炮制前后部分黄酮类和香豆素类化合物存在明显的差异,这些差异性化合物可能是甘草生熟异用的主要物质基础。

关键词 生甘草;炙甘草;超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱;主成分分析法;正交偏最小二乘法;差异性化合物

Differences Analysis of Chemical Composition of Raw and Fried *Glycyrrhiza uralensis* Based on UPLC-Q-TOF-MS

CUI Yuanyuan, ZHOU Yongfeng, MA Yanqin, FANG Jixiang, WANG Guoqiang, ZHANG Rongrong, DONG Yi, ZHANG Ping (Medical Supplies Center, PLA General Hospital, Beijing 100039, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the chemical composition differences of raw and fried processed *Glycyrrhiza uralensis*, and provide reference for clarifying the regularity of chemical composition change before and after processing and material basis of differential use of raw and fried *G. uralensis*. METHODS: UPLC-Q-TOF-MS technology was used to detect the composition of raw and fried *G. uralensis*. By comparing the retention time, relative molecular weight and other information of the compounds with the databases such as METLIN, Agilent MassHunter PCDL Manager off-line component identification workstation and references, the chemical compositions of the compounds were preliminarily identified. Principal component analysis (PCA) method was used to observe the overall distribution trend of samples. Orthogonal partial least square (OPLS-DA) method was used to screen differential compounds [VIP>1.0 and $|P(\text{corr})| \geq 0.5$ as criteria] and analyze the content changes of differential compounds. RESULTS: A total of 31 common compounds were preliminarily identified from the raw and fried *G. uralensis*. PCA analysis showed that raw and fried *G. uralensis* could be separated well. OPLS-DA analysis result showed that 15 characteristic differential compounds were screened out from raw and fried *G. uralensis*, including 13 flavonoids and 2 coumarins; the contents of 8 flavonoids compounds

- 中成药,2005,27(2):204-206.
- [10] 姚淞允,张开霞,马强,等.藁本内酯的临床前研究进展[J].药学服务与研究,2019,19(2):106-110.
- [11] 徐程,张利萍.气相色谱法测定香附挥发油中 α -香附酮的含量[J].中国洗涤用品工业,2014(6):55-57.
- [12] 南海军,蔡绮,谭玉彬,等.气相色谱法测定当归挥发油中藁本内酯的含量[J].海峡药学,2014,26(9):42-44.
- [13] 王世宇,李文兵,卢君蓉,等. HPLC法同时测定不同产地香附药材中香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮[J].中成药,2015,37(3):588-591.
- [14] 顾志荣,王亚丽,孙宇靖,等.当归中5种成分同时测定与产地质量评价[J].中成药,2014,36(10):2135-2140.
- [15] 王智民,钱忠直,张启伟,等.一测多评法建立的技术指南[J].中国中药杂志,2011,36(6):657-658.
- [16] 左雅敏,李琛,彭兴春,等. HPLC-一测多评法测定黄精及其饮片中6种成分的含量[J].中国药房,2019,30(13):1748-1754.

Δ 基金项目:国家重点研发计划项目(No.2018YFC1706502)

* 药师,硕士。研究方向:临床中药学。E-mail:1019194407@qq.com

通信作者:副主任药师。研究方向:临床中药学。E-mail:zhp1231@163.com

(收稿日期:2020-01-02 修回日期:2020-02-29)

(编辑:林 静)