

# 浙贝母配方颗粒的指纹图谱建立及3种成分的含量测定<sup>△</sup>

黄小兰<sup>1,2\*</sup>, 何旭峰<sup>1</sup>, 周 浓<sup>2#</sup>, 阳文武<sup>1</sup>, 钱林群<sup>2</sup>(1.重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404100; 2.重庆三峡学院生物与食品工程学院/三峡库区道地药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室, 重庆 404100)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)20-2473-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.20.07



**摘要** 目的:建立浙贝母配方颗粒的指纹图谱,并测定其中3种成分的含量。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法。以贝母素乙为参照,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》绘制13批浙贝母配方颗粒的HPLC指纹图谱,并进行相似度评价,确定共有峰;采用相同的HPLC法测定浙贝母配方颗粒中贝母辛、贝母素甲和贝母素乙的含量,并比较不同生产企业样品的质量差异。结果:13批浙贝母配方颗粒中共有5个共有峰,相似度为0.669~0.971;指认了贝母辛、贝母素甲和贝母素乙等3个共有峰。贝母辛、贝母素甲和贝母素乙检测质量浓度的线性范围分别为30.00~180.00  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 9$ )、79.58~477.50  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 6$ )、97.33~584.00  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 4$ );精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于3%;平均加样回收率分别为95.82% (RSD=1.17%,  $n=6$ )、99.00% (RSD=1.96%,  $n=6$ )、95.39% (RSD=2.00%,  $n=6$ )。13批样品中,贝母辛、贝母素甲、贝母素乙的含量分别为0.17~1.02、0.52~2.26、0.70~3.50 mg/g,平均总含量为3.62 mg/g。其中,企业C、A样品中上述成分的平均总含量较高,分别为5.02、4.61 mg/g,其次是企业E、B样品,分别为3.48、3.02 mg/g;最低为企业D样品,仅为1.87 mg/g。结论:所建指纹图谱和含量测定方法简便、可行,重复性好,可用于浙贝母配方颗粒的质量评价;不同生产企业样品的含量存在一定差异。

**关键词** 浙贝母;配方颗粒;指纹图谱;高效液相色谱法;含量测定

## Fingerprint Establishment and Content Determination of 3 Components in *Fritillaria thunbergii* Formula Granules

HUANG Xiaolan<sup>1,2</sup>, HE Xufeng<sup>1</sup>, ZHOU Nong<sup>2</sup>, YANG Wenwu<sup>1</sup>, QIAN Linqun<sup>2</sup>(1. Chongqing Wanzhou Food and Drug Inspection Institute, Chongqing 404100, China; 2. College of Food and Biological Engineering/Chongqing Engineering Laboratory for Green Cultivation and Deep Processing of the Three Gorges Reservoir Area's Medicinal Herbs, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404100, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the fingerprint of *Fritillariae thunbergii* formula granules and determine the contents of 3 components. METHODS: HPLC method was used. Using peiminine as reference, HPLC fingerprints of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules were drawn with *Similarity Evaluation System of TCM Chromatogram Fingerprint* (2012 edition). Similarity evaluation and common peak identification were conducted. The contents of peimisine, peimine and peiminine in *F. thunbergii* formula granules were determined by the same HPLC method. The quality difference of samples were compared among different manufacturers. RESULTS: There were 5 common peaks in 13 batches of *F. thunbergii* formula granules, and the similarity was 0.669-0.971. Three common peaks of peimisine, peimine and peiminine were identified. The linear ranges of peimisine, peimine and peiminine were 30.00-180.00  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 9$ ), 79.58-477.50  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 6$ ) and 97.33-584.00  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 4$ ), respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all lower than 3%. The average recoveries were 95.82% (RSD=1.17%,  $n=6$ ), 99.00% (RSD=1.96%,  $n=6$ ) and 95.39% (RSD=2.00%,  $n=6$ ), respectively. In the 13 batches of samples, the content of peimisine, peimine and peiminine were 0.17-1.02 mg/g, 0.52-2.26 mg/g, and 0.70-3.50 mg/g, respectively. Their average total content was 3.62 mg/g. The average total content of manufacturer C and A was higher (5.02 mg/g and 4.61 mg/g), followed by manufacturer E and B (3.48 mg/g and 3.02 mg/g); the lowest was manufacturer D (only 1.87 mg/g). CONCLUSIONS: Established fingerprint and content determination method is simple, feasible and reproducible, which can be

<sup>△</sup> 基金项目:重庆市技术创新与应用示范(社会民生类)一般项目(No.cstc2018jcsx-msybX0367)

\* 工程师,硕士。研究方向:药食同源植物资源的开发和利用。  
E-mail:534832723@qq.com

# 通信作者:教授,硕士。研究方向:药用植物栽培与质量控制。  
电话:023-58576130。E-mail:erhaizn@126.com

used for the quality evaluation of *F. thunbergii* formula granules. There are some differences in content among different manufacturers.

**KEYWORDS** *Fritillaria thunbergii*; Formula granules; Fingerprint; HPLC; Content determination

浙贝母为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎,其味苦、性寒,归肺、心经,具有清热化痰止咳,解毒散结消痈之功效,常用于治疗风热或痰热咳嗽、肺痈吐脓、疮痈肿毒等症<sup>[1]</sup>。该药是传统的“浙八味”药材之一,也是常用的大宗中药材<sup>[2]</sup>。现代研究表明,浙贝母含有生物碱、多糖、总皂苷和核苷类等成分<sup>[2-5]</sup>,具有镇咳、祛痰、松弛平滑肌、镇痛抗炎、降压活血、抗肿瘤等药理活性<sup>[6-7]</sup>,其中生物碱类成分贝母辛、贝母素甲和贝母素乙是浙贝母的主要活性成分<sup>[8]</sup>。

中药配方颗粒作为一种新型的配方用药,与传统的中药饮片相比,具有剂量准确、质量稳定、便于贮存、携带服用方便等特点<sup>[8-9]</sup>。目前,中药配方颗粒尚缺乏统一的国家质量标准,加之药材/饮片质量存有差异、生产工艺各有不同,使得不同企业生产的配方颗粒的质量和药效参差不齐,无法保证其质量的一致性<sup>[10]</sup>。为此,国家药典委员会组织审定了部分中药配方颗粒的国家药品标准,形成了含有160种中药配方颗粒的国家药品标准草案<sup>[11]</sup>,旨在为中药配方颗粒的质量评价提供参考。浙贝母配方颗粒是以浙贝母饮片为原料,经水煎煮提取、浓缩、干燥、制粒等现代化生产工艺制成,具有止咳化痰、清热解毒的作用,对风热感冒引起的咳嗽疗效较好。但浙贝母配方颗粒不在上述标准草案中,且市售配方颗粒使用的是各生产企业的内部质量标准,故亟需建立控制其质量的统一标准。

由于中药配方颗粒经水煎煮后,失去了药材原有的特点,无法进行传统的性状鉴别,而中药指纹图谱分析技术是建立在中药化学成分研究基础上的一种综合的、可量化的鉴定方法,具有整体性和模糊性的特点,现已广泛应用于中药材及其制剂的质量评价领域<sup>[12]</sup>。有研究指出,以指纹图谱作为检验手段可强化中药配方颗粒真伪鉴别及优劣评价的专属性<sup>[13]</sup>。目前,指纹图谱在浙贝母药材的质量评价和控制方面应用广泛<sup>[14-17]</sup>,而有关浙贝母配方颗粒的研究则主要集中在其处方、工艺优化以及贝母素甲、贝母素乙的含量测定等方面<sup>[8,16]</sup>。基于此,本研究建立了浙贝母配方颗粒的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并同法测定了其中贝母辛、贝母素甲和贝母素乙等3种主要活性成分的含量,旨在为完善浙贝母配方颗粒质量评价和相关国家标准提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有1260型HPLC仪及配套的在线脱气机、柱温箱、自动进样器、四元泵、蒸发光散射检测器(ELSD)和ChemStation Edition for LC(C.01.06版)数据处理工作站(美国Agilent公司),QUINTIX313-1CN型万分之一电子天平、MSE125S型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司),DZKW-S-6型电热恒温水浴锅(北

京市永光明医疗仪器有限公司),Sigma 4-16S型高速离心机(德国Sigma公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

贝母辛对照品(批号PS200722-02,纯度 $\geq 98.0\%$ )、贝母素甲对照品(批号PS000150,纯度 $\geq 98.0\%$ )、贝母素乙对照品(批号PS011156,纯度 $\geq 98.0\%$ )均购自成都普思生物科技股份有限公司;乙腈、甲醇为质谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

13批浙贝母配方颗粒(编号S1~S13)的来源信息如表1所示。将浙贝母配方颗粒研磨成粉,用自封袋密封,置于干燥器中保存,备用。

表1 13批浙贝母配方颗粒的来源信息

Tab 1 Source information of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules

生产企业	编号	批号	每袋质量/g	相当于饮片量/g
A	S1~S3	依次为20200901,20201112,20210401	2.0	10
B	S4~S6	依次为20021023,20021110,20021127	1.0	10
C	S7~S9	依次为20200506,20200827,20210115	1.0	5
D	S10~S12	依次为20000331,20000412,20000508	1.0	10
E	S13	包装上未标注具体批号	0.5	5

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 以Durashell C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈(A)-0.03%二乙胺溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~15 min, 20% A→40% A; 15~28 min, 40% A; 28~30 min, 40% A→70% A; 30~32 min, 70% A→100% A; 32~35 min, 100% A; 35~35.1 min, 100% A→20% A);流速为1.0 mL/min;柱温为35 °C;进样量为20 μL。检测器为ELSD,检测器增益为200;喷雾器模式为加热模式;动力级别为40%;漂移管温度为45 °C;样品室温度为20 °C;载气流速为2.0 L/min。

2.1.2 对照品贮备液的制备 精密称取贝母辛、贝母素甲、贝母素乙对照品各适量,分别置于5 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释,制成质量浓度分别为1.441、3.820、4.673 mg/mL的单一对照品贮备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品粉末约1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加浓氨水5.0 mL使样品分散均匀,浸润1 h后,加入氯仿-甲醇混合溶液(4:1, V/V)30 mL,混匀,置于90 °C水浴中,加热回流2 h,冷却至室温后,将提取液转移至离心管中,以4 000 r/min离心5 min,取有机相,置于蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至5 mL量瓶中,再用甲醇定容,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 精密度试验 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号S1),按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录色谱图。以贝母素乙为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,5个共有峰相对保留时间

的RSD不高于1.05% ( $n=6$ ), 相对峰面积的RSD不高于1.76% ( $n=6$ ), 表明方法精密度良好。

**2.1.5 重复性试验** 取样品(编号S1)约1.0 g, 共6份, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以贝母素乙为参照, 记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 5个共有峰相对保留时间的RSD不高于1.48% ( $n=6$ ), 相对峰面积的RSD不高于1.80% ( $n=6$ ), 表明方法重复性良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号S1), 分别于室温下放置0、2、4、8、16、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以贝母素乙为参照, 记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 5个共有峰相对保留时间的RSD不高于1.62% ( $n=6$ ), 相对峰面积的RSD不高于1.94% ( $n=6$ ), 表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定性良好。

**2.1.7 HPLC指纹图谱的建立** 取13批样品, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对13批样品的HPLC图谱进行分析, 设定5个响应较高的色谱峰, 选择MARK峰匹配法生成浙贝母配方颗粒的叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)。结果, 13批浙贝母配方颗粒共有5个共有峰。结果见图1。

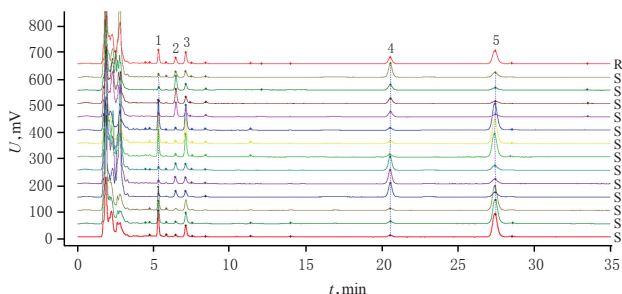


图1 13批浙贝母配方颗粒的HPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱

Fig 1 HPLC superimposed fingerprints and reference fingerprint of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules

**2.1.8 相似度的评价** 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》, 以HPLC图谱共有模式为对照, 计算13批样品的相似度。结果显示, 13批样品与共有模式的相似度为0.669~0.971, 表明不同生产企业样品的质量差异较大; 但相同企业不同批次样品的相似度接近, 表明同一企业的原料和生产工艺相对稳定。结果见表2。

**2.1.9 共有峰的指认以及相对保留时间、相对峰面积的计算** 通过与单一对照品(图略)比对, 共指认了3个共有峰, 分别为贝母辛(峰1)、贝母素甲(峰4)、贝母素乙

表2 13批浙贝母配方颗粒的相似度评价结果

Tab 2 Similarity evaluation results of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	R
S1	1.000	0.999	0.980	0.518	0.515	0.523	0.987	0.987	0.990	0.496	0.496	0.462	0.507	0.961
S2	0.999	1.000	0.984	0.524	0.521	0.529	0.984	0.983	0.987	0.493	0.493	0.460	0.514	0.961
S3	0.980	0.984	1.000	0.486	0.478	0.482	0.940	0.938	0.944	0.421	0.421	0.388	0.471	0.923
S4	0.518	0.524	0.486	1.000	0.999	0.995	0.553	0.554	0.538	0.830	0.830	0.836	0.929	0.721
S5	0.515	0.521	0.478	0.999	1.000	0.997	0.553	0.554	0.537	0.845	0.845	0.848	0.936	0.721
S6	0.523	0.529	0.482	0.995	0.997	1.000	0.560	0.563	0.548	0.860	0.860	0.863	0.930	0.729
S7	0.987	0.984	0.940	0.553	0.553	0.560	1.000	1.000	0.999	0.543	0.543	0.511	0.545	0.970
S8	0.987	0.983	0.938	0.554	0.554	0.563	1.000	1.000	0.999	0.546	0.546	0.513	0.546	0.971
S9	0.990	0.987	0.944	0.538	0.537	0.548	0.999	0.999	1.000	0.531	0.531	0.499	0.529	0.967
S10	0.496	0.493	0.421	0.830	0.845	0.860	0.543	0.546	0.531	1.000	1.000	0.996	0.833	0.695
S11	0.496	0.493	0.421	0.830	0.845	0.860	0.543	0.546	0.531	1.000	1.000	0.996	0.833	0.695
S12	0.462	0.460	0.388	0.836	0.848	0.863	0.511	0.513	0.499	0.996	0.996	1.000	0.838	0.669
S13	0.507	0.514	0.471	0.929	0.936	0.930	0.545	0.546	0.529	0.833	0.833	0.838	1.000	0.742
R	0.961	0.961	0.923	0.721	0.721	0.729	0.970	0.971	0.967	0.695	0.695	0.669	0.742	1.000

(峰5)。由于贝母素乙的峰面积较大且周围基线平稳, 干扰峰较少, 故选择贝母素乙为参照, 计算其余共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰的出峰时间相对稳定, 但峰面积差异较大, 表明含量差异较大。结果见表3、表4。

表3 13批浙贝母配方颗粒HPLC指纹图谱共有峰的相对保留时间

Tab 3 Relative retention time of common peaks for HPLC fingerprints of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
1	0.193 0	0.193 0	0.193 0	0.193 9	0.193 7	0.193 8	0.193 2	0.193 2	0.193 1	0.194 1	0.194 1	0.193 2	0.196 1
2	0.234 7	0.234 7	0.234 6	0.234 8	0.234 0	0.234 4	0.234 5	0.234 4	0.234 2	0.235 3	0.235 2	0.234 5	0.235 9
3	0.258 7	0.258 8	0.258 8	0.258 6	0.258 1	0.258 4	0.258 8	0.258 5	0.258 7	0.258 9	0.258 9	0.258 7	0.259 3
4	0.748 2	0.749 0	0.749 2	0.749 6	0.748 9	0.749 0	0.748 6	0.748 3	0.748 3	0.749 2	0.749 0	0.748 8	0.752 0
5	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0

表4 13批浙贝母配方颗粒HPLC指纹图谱共有峰的相对峰面积

Tab 4 Relative peak area of common peaks for HPLC fingerprints of 13 batches of *F. thunbergii* formula granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
1	0.335 8	0.293 0	0.286 3	0.169 9	0.178 4	0.242 0	0.332 5	0.338 6	0.347 1	0.296 7	0.296 7	0.327 9	0.207 0
2	0.033 0	0.029 9	0.030 6	0.444 0	0.497 9	0.567 5	0.033 9	0.036 3	0.035 0	1.764 5	1.764 5	1.972 8	1.140 8
3	0.200 7	0.183 3	0.189 4	0.496 4	0.539 0	0.571 9	0.371 1	0.380 8	0.357 5	0.897 4	0.897 4	0.987 9	0.649 7
4	0.071 8	0.080 0	0.072 6	2.022 7	2.045 5	2.030 3	0.102 5	0.103 9	0.084 2	1.493 4	1.493 4	1.731 5	2.899 4
5	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0

## 2.2 贝母辛等3种成分的含量测定

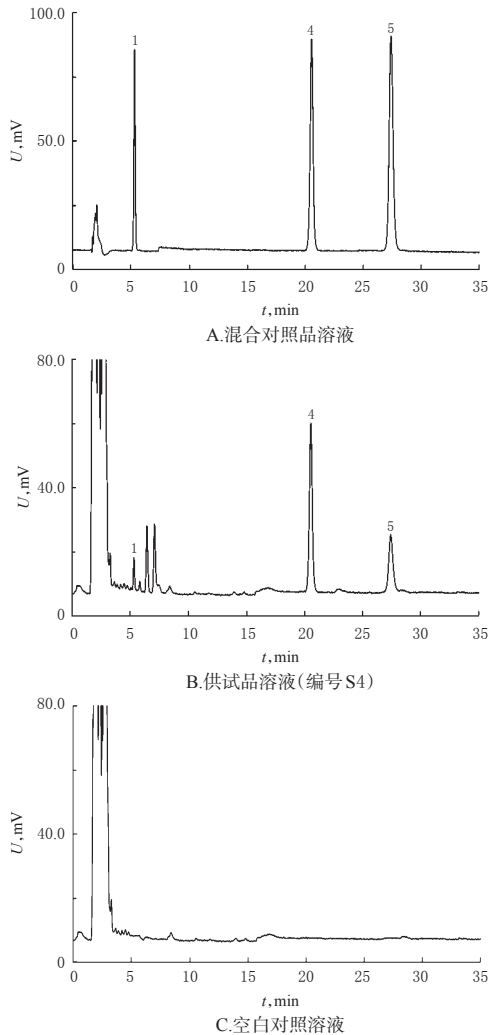
**2.2.1 色谱条件** 同“2.1.1”项。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 分别精密吸取“2.1.2”项下各单一对照品贮备液2.50 mL, 置于10 mL量瓶中, 用甲醇稀释, 制成质量浓度分别为0.360、0.955、1.168 mg/mL的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 同“2.1.3”项。

2.2.4 空白对照溶液的制备 不加样品,按“2.1.3”项下“加浓氨水 5.0 mL……取续滤液,即得”操作,制得空白对照溶液。

2.2.5 系统适用性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图2)。结果显示,各成分色谱峰峰形尖锐且对称,以贝母素甲峰计理论板数均大于 5 000,分离度均大于 1.5,且空白对照无干扰。



注:1.贝母辛;4.贝母素甲;5.贝母素乙

Note:1. peimisine; 4. peimine; 5. peiminine

图2 贝母辛等3种成分的混合对照品、供试品和空白对照溶液的HPLC图

Fig 2 HPLC chromatograms of 3 components such as peimisine mixed control, test sample, and blank control sample solution

2.2.6 线性关系考察 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,用甲醇逐级稀释,制成贝母辛质量浓度分别为 30.00、60.00、90.00、120.00、150.00、180.00  $\mu\text{g/mL}$ ,贝母素甲 79.58、159.17、238.75、318.33、397.92、477.50  $\mu\text{g/mL}$ ,贝母素乙 97.33、194.67、292.00、389.33、486.67、584.00  $\mu\text{g/mL}$ 的系列工作溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测

定,记录峰面积。以各待测成分质量浓度的自然对数( $X$ )为横坐标、峰面积的自然对数( $Y$ )为纵坐标进行线性回归。结果见表5。

表5 贝母辛等3种成分的回归方程与线性范围

Tab 5 Regression equations and linear ranges of 3 components such as peimisine

待测成分	回归方程	$r$	线性范围, $\mu\text{g/mL}$
贝母辛	$Y=1.2172X+0.0749$	0.9999	30.00~180.00
贝母素甲	$Y=1.4165X-0.6334$	0.9996	79.58~477.50
贝母素乙	$Y=1.4358X-0.6693$	0.9994	97.33~584.00

2.2.7 精密度试验 取“2.2.6”项下系列工作溶液(贝母辛、贝母素甲、贝母素乙质量浓度分别为 60.00、159.17、194.67  $\mu\text{g/mL}$ )适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,贝母辛、贝母素甲、贝母素乙峰面积的RSD分别为 2.42%、1.01%、1.92% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取样品(编号S4)约 1.0 g,共6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中各待测成分的含量。结果显示,贝母辛、贝母素甲、贝母素乙含量的RSD分别为 2.61%、1.86%、2.88% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(编号S4),分别于室温下放置 0、2、4、8、16、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,贝母辛、贝母素甲、贝母素乙峰面积的RSD分别为 1.70%、0.44%、0.81% ( $n=6$ ),表明供试品溶液于室温下放置 24 h内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(编号S4)0.5 g,共6份,分别加入“2.1.2”项下各单一对照品贮备液适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,贝母辛、贝母素甲、贝母素乙的平均加样回收率分别为 95.82%、99.00%、95.39%,RSD分别为 1.22%、1.98%、2.10% ( $n=6$ ),表明方法准确度良好。结果见表6。

2.2.11 样品含量测定 取 13批浙贝母配方颗粒样品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中各待测成分的含量。每样品平行测定 3次,结果见表7。

### 3 讨论

#### 3.1 提取条件优化

本课题组参考相关文献[16]对浙贝母配方颗粒的提取方法进行考察。结果发现,当加入浓氨水 2.0 mL水解浙贝母配方颗粒时出现了结块现象,导致水解不充分、提取不完全,故通过增加浓氨水量至 5.0 mL以保证样品

表6 贝母辛等3种成分的加样回收率试验结果(n=6)

Tab 6 Results of average recovery tests of 3 components such as peimisine (n=6)

待测成分	已知量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
贝母辛	90.09	89.34	175.93	96.08	95.82	1.17
	90.05	89.34	176.02	96.23		
	89.95	89.34	174.88	95.06		
	89.93	89.34	174.56	94.73		
	90.04	89.34	177.37	97.75		
	90.14	89.34	175.09	95.09		
贝母素甲	890.89	764.00	1 652.85	99.73	99.00	1.96
	890.53	764.00	1 671.09	102.17		
	889.47	764.00	1 643.23	98.66		
	889.29	764.00	1 635.26	97.64		
	890.36	764.00	1 649.08	99.31		
	891.42	764.00	1 628.76	96.51		
贝母素乙	545.55	584.12	1 089.76	93.17	95.39	2.00
	545.33	584.12	1 116.04	97.70		
	544.67	584.12	1 103.50	95.67		
	544.56	584.12	1 093.51	93.98		
	545.22	584.12	1 115.03	97.55		
	545.87	584.12	1 096.66	94.29		

表7 不同生产企业浙贝母配方颗粒中贝母辛等3种成分的含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 7 Results of content determination of 3 components such as peimisine of *F. thunbergii* formula granules from different manufacturers (n=3, mg/g)

生产企业	编号	批号	贝母辛	贝母素甲	贝母素乙	总含量
A	S1	20200901	0.88	0.56	3.23	4.67
A	S2	20201112	0.81	0.52	3.22	4.55
A	S3	20210401	0.85	0.53	3.22	4.60
B	S4	20021023	0.18	1.78	1.09	3.05
B	S5	20021110	0.19	1.77	1.07	3.03
B	S6	20021127	0.19	1.72	1.09	2.99
C	S7	20200505	1.01	0.63	3.36	5.00
C	S8	20200827	0.95	0.65	3.34	4.94
C	S9	20210115	1.02	0.61	3.50	5.13
D	S10	20000331	0.17	0.99	0.73	1.89
D	S11	20000412	0.18	0.98	0.71	1.87
D	S12	20000508	0.19	0.94	0.70	1.83
E	S13	未标注	0.18	2.26	1.04	3.48

粉末充分浸润,提取率明显提高。样品回流结束后,本课题组分别采用滤纸过滤和离心两种方式对所得溶液进行处理,结果发现,滤纸过滤时的重复性较差,而采用离心时的准确度和重复性均较好。

### 3.2 指纹图谱分析

13批样品中共有5个共有峰,比秦建平<sup>[17]</sup>、朱广磊<sup>[18]</sup>关于浙贝母药材的指纹图谱研究结果少2~4个共有峰,其原因可能为浙贝母配方颗粒在制备过程中采用水提方式,导致某些脂溶性成分不能被充分提取<sup>[13]</sup>。13批浙贝母配方颗粒样品与共有模式的相似度为0.669~0.971,表明不同生产企业的配方颗粒质量差距较大,这可能跟浙贝母配方颗粒的生产工艺特别是样品相当于

饮片量的一致有关;相同企业不同批次浙贝母配方颗粒样品的相似度接近,提示相同生产企业的原料和生产工艺相对稳定。

### 3.3 样品含量结果分析

含量测定结果显示,13批不同生产企业浙贝母配方颗粒样品间的含量存在一定差异,而相同企业不同批次样品的含量基本一致。从总含量方面看,企业C、A的平均总含量最高,分别为5.02、4.61 mg/g,相差不大;企业E、B、D的平均总含量分别为3.48、3.02、1.87 mg/g,存在较大差异。从单个成分含量方面看,贝母辛为0.17~1.02 mg/g,贝母素甲为0.52~2.26 mg/g,贝母素乙为0.70~3.50 mg/g。同一成分含量在不同生产企业样品中的变化规律不同,如在企业A、C的样品中,贝母素乙含量最高,可达3.20 mg/g以上;其次是贝母辛,含量不低于0.81 mg/g;最低为贝母素甲,平均含量不足0.60 mg/g。在企业B、D、E的样品中,含量由高到低均为贝母素甲>贝母素乙>贝母辛,且这3家生产企业样品中的贝母素甲和贝母素乙含量略有差异,但贝母辛含量相当。引起差异的原因可能是不同生产企业的工艺不一致,所用浙贝母药材质量本身存在差异<sup>[19]</sup>。此外,笔者还发现,在浙贝母药材(配方颗粒)中易被忽略的生物碱成分贝母辛含量较高(因药典和相关文献<sup>[17-18]</sup>均未纳入该指标),特别是S1~S3、S7~S9样品中贝母辛的平均含量高达0.92 mg/g,约是同批贝母素甲的1.6倍,因此笔者认为可将其作为浙贝母配方颗粒的质量考察指标。

综上所述,所建指纹图谱和含量测定方法简便、可行,重复性好,可用于浙贝母配方颗粒的质量评价。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:304-305.
- [2] 赵金凯,杜伟锋,应泽茜,等.浙贝母的现代研究进展[J].时珍国医国药,2019,30(1):177-180.
- [3] 汪少华,乔家法.不同产地浙贝母多糖含量的比较[J].中国现代应用药学,2014,31(10):1256-1258.
- [4] 陈文君,郑卫红,项颖华.浙贝母花、地上茎与鳞茎总生物碱、总皂苷含量测定的比较[J].浙江中医药大学学报,2008,32(4):530-531.
- [5] 赵顺鑫,周浓,杨琳琳,等.不同产地浙贝母中10种核苷类成分含量分析[J].中国野生植物资源,2020,39(10):35-40.
- [6] 卓诗勤,张浩,丁弋娜,等.硫熏和鲜切浙贝母的化学成分及其药理作用的比较研究[J].中华中医药学刊,2016,34(3):618-621.
- [7] 佟晓琳.浙贝母主要成分血浆药代动力学及肿瘤耐药细胞抑制研究[D].昆明:云南中医学院,2016.
- [8] 杨群,胡晓莉,张锴,等.基于粉体学表征技术的浙贝母配方颗粒处方和工艺研究[J].中草药,2018,49(15):3632-

# UPLC-MS/MS 法分析旋覆花蜜炙前后化学成分的变化<sup>Δ</sup>

吕渭升<sup>1,2\*</sup>, 位翠杰<sup>1,2</sup>, 潘晓君<sup>1,2</sup>, 杨文惠<sup>1,2</sup>, 何民友<sup>1,2</sup>, 陈向东<sup>1,2</sup>, 孙冬梅<sup>1,2</sup>, 魏梅<sup>1,2</sup>, 李振雨<sup>1,2#</sup>(1.广东一方制药有限公司, 广东佛山 528244; 2.广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东佛山 528244)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)20-2478-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.20.08



**摘要** 目的:比较旋覆花蜜炙前后的化学成分差异。方法:采用超高效液相色谱-串联质谱技术(UPLC-MS/MS)。色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>, 流动相为 0.1% 甲酸溶液-乙腈(梯度洗脱), 流速为 0.3 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 5 μL。采用电喷雾离子源, 以正离子模式扫描, 一级质谱扫描范围为  $m/z$  70~1 050, 二级质谱扫描范围为  $m/z$  50~1 050, 归一化碰撞能量为 40、60 eV, 质谱图类型为峰形图, 鞘气流速为 35 arb, 辅助气流速为 10 arb, 喷雾电压为 3.80 kV, 透镜电压为 50 V, 加热温度为 350 ℃, 毛细管温度为 350 ℃。采用 Qual Browser 4.1.39.1 软件并参考在线高分辨数据库 mzCloud、中药成分高分辨质谱本地数据库 OTcML, 同时结合相关文献对化合物进行鉴定。采用 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA), 以变量重要性投影(VIP)值大于 1 为标准筛选旋覆花蜜炙前后的差异性成分。结果:从旋覆花及其蜜炙品中共鉴定出 29 个共有化学成分, 包括 1-咖啡酰奎宁酸、绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸等 5 个酚酸类成分, 槲皮素、木犀草素、狭叶依瓦菊素等 12 个黄酮类成分, 以及 1-*O*-乙酰旋覆花内酯、二大花旋覆花内酯 B、1-*O*-乙酰基-6-*O*-异丁酰基大花旋覆花内酯等 12 个倍半萜内酯类成分。PCA 结果显示, 旋覆花与蜜旋覆花分别位于得分图的两侧。OPLS-DA 结果显示, 有 7 个成分的 VIP 值大于 1, 分别为峰 19(大花旋覆花素)、峰 6(槲皮万寿菊苷)、峰 1(1-咖啡酰奎宁酸)、峰 21(紫花牡荆素)、峰 20(tomentosin)、峰 13(菠叶素)、峰 3(瑞香素)。结论:经蜜炙后, 旋覆花的化学成分含量有所改变, 且均有一定程度的降低。大花旋覆花素、槲皮万寿菊苷、1-咖啡酰奎宁酸、tomentosin、紫花牡荆素、菠叶素、瑞香素可能为旋覆花及其蜜炙品的差异性成分。

**关键词** 旋覆花; 蜜旋覆花; 超高效液相色谱-串联质谱法; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 化学成分

## Variations of Chemical Components in *Inula japonica* by UPLC-MS/MS before and after Honey-frying

LYU Weisheng<sup>1,2</sup>, WEI Cuijie<sup>1,2</sup>, PAN Xiaojun<sup>1,2</sup>, YANG Wenhui<sup>1,2</sup>, HE Minyou<sup>1,2</sup>, CHEN Xiangdong<sup>1,2</sup>, SUN Dongmei<sup>1,2</sup>, WEI Mei<sup>1,2</sup>, LI Zhenyu<sup>1,2</sup> (1. Guangdong E-fong Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Foshan 528244, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of TCM Formula, Guangdong Foshan 528244, China)

- 3638.
- [9] 郝翠, 赵恒强, 崔莉, 等. 黄芩配方颗粒的质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(7): 723-727.
- [10] 何军, 朱旭江, 杨平荣, 等. 中药配方颗粒的现状与发展新思路[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4717-4725.
- [11] 国家药典委员会. 有关中药配方颗粒药品标准制定的通知[EB/OL]. (2021-02-24) [2021-05-10]. <https://www.chp.org.cn/gjydw/tz/15815.jhtml>.
- [12] 刘梦云, 江洁怡, 毕晓黎, 等. 葛花配方颗粒的 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2017, 28(21): 2978-2980.
- [13] 徐玉玲, 雷燕莉, 曾立, 等. 中药配方颗粒品种统一标准的有关问题探讨[J]. 中草药, 2020, 51(20): 5389-5394.
- [14] 程斌, 周爱珍, 彭昕, 等. 浙贝母 UPLC-Q-TOF-MS/MS 指纹图谱的建立及其抗炎质量标志物的分析[J]. 中国药房, 2020, 31(17): 2129-2135.
- [15] 杜伟锋, 岳显可, 朱涛, 等. 不同产地加工方法浙贝母的高效液相色谱-电喷雾-质谱指纹图谱分析[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(12): 4956-4960.
- [16] 何敏, 郭田, 杜昕, 等. 高效液相色谱法测定浙贝母配方颗粒中贝母素甲和贝母素乙的含量[J]. 医药导报, 2018, 37(4): 477-479.
- [17] 秦建平, 李家春, 吴建雄, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的浙贝母质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(19): 34-36.
- [18] 朱广磊, 睢宁, 张春椿, 等. 不同产地浙贝母药材 HPLC-ELSD 指纹图谱的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(5): 352-361.
- [19] 黄华花, 张伟云, 陈景海, 等. 陈皮配方颗粒的质量标准提高研究[J]. 中国药房, 2019, 30(7): 937-941.

(收稿日期: 2021-05-27 修回日期: 2021-08-24)

(编辑: 陈宏)

<sup>Δ</sup> 基金项目: 广东省省级科技计划项目(No.2018B030323004); “广东特支计划”科技创业领军人才项目(No.2017TY04R197)

\* 主管中药师, 硕士。研究方向: 中药饮片及中药配方颗粒。电话: 0757-85128602。E-mail: 731535332@qq.com

# 通信作者: 主管中药师, 硕士。研究方向: 中药饮片及中药配方颗粒。电话: 0757-85128602。E-mail: 1083656123@qq.com