

甲状腺颗粒化学成分分析与迷迭香酸含量测定

张 帆¹, 王 冬^{1,2}, 付志飞³, 牛辰瑾⁴, 徐铭琳⁵, 张 洁^{2*}

(1. 天津市肿瘤医院空港医院, 天津 300308; 2. 天津医科大学肿瘤医院, 天津 300060; 3. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 301617; 4. 天津市药品检验研究院, 天津 300070; 5. 天津中医药大学测试中心, 天津 301617)

摘要: **目的** 分析甲状腺颗粒化学成分, 并测定迷迭香酸含量。**方法** 建立 UHPLC-Q-Orbitrap MS 法并结合数据库、对照品及相关文献对甲状腺颗粒化学成分进行定性分析, UPLC-MS/MS 法测定其主要成分迷迭香酸的含量。**结果** 从中共鉴定出 80 种成分。迷迭香酸在 0.003 24~3.24 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好 ($R^2 = 1.000\ 0$), 平均加样回收率为 101.2%, RSD 为 0.8%。**结论** 该方法快速、准确、可靠, 可用于甲状腺颗粒的质量控制。

关键词: 甲状腺颗粒; 成分分析; 迷迭香酸; 含量测定; UHPLC-Q-Orbitrap MS; UPLC-MS/MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)10-3519-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.056

甲状腺癌是最常见的内分泌系统肿瘤, 其发病率逐年上升, 2022 年全球 36 种癌症新增病例排名中列第 7 位^[1], 我国城市地区恶性肿瘤新发病例数排名中列第 3 位^[2]。中药根据中医辨证论治原则, 是甲状腺癌综合治疗的组成部分, 尤其对术后康复更为重要^[3]。

甲状腺颗粒为天津市肿瘤医院的院内中药制剂, 由夏枯草、陈皮、赤芍等 15 味中药组成, 具有理气活血、软坚散结功效, 临床用于甲状腺癌、良性甲状腺瘤的治疗。本方是根据治疗甲状腺疾病的基础方“海藻玉壶汤”化裁而成, 上世纪 90 年代取得医疗机构制剂批准文号, 临床上使用至今, 大量研究证实该制剂具有安全性与有效性, 体外研究也表明其对人甲状腺癌细胞 BCPAP 具有增殖抑制和诱导凋亡的作用^[4]。目前, 甲状腺颗粒质量标准收录于现行《天津市医疗机构制剂规范》(2021 年版) 中, 但仅有方中臣药的薄层定性鉴别, 并没有含量测定^[5]。

UHPLC-Q-Orbitrap MS 法分辨率及准确度高^[6], 已被广泛用于中药材与中药复方化学成分的鉴定^[7-9]。因此, 本实验应用 UHPLC-Q-Orbitrap MS 法, 结合数据库、对照品及相关文献分析甲状腺颗粒化学成分。再以君药夏枯草主要成分迷迭香酸为指标, 采用 UPLC-MS/MS 法进行含量测定, 以期为该制剂质量控制提供参考, 也为后续其向新药转化研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 Ultimate 3000 超高效液相系统、Orbitrap Exploris 120 高分辨质谱仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪、Xevo TQ-S 三重四极杆质谱 (美国 Waters 公司); AX205 天平

(十万分之一, 瑞士 Mettler-Toledo 公司); 5424R 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); KQ-250E 超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 甲状腺颗粒, 批号 20190416、20190529、20191218、20200102、20200103、20200824、20200828、20201209、20210615、20210616、20211025、20211213、20211215、20220516、20220518, 编号 S1~S15, 由天津市肿瘤医院空港医院配制。

橙皮苷 (批号 201617, 纯度 96.1%)、迷迭香酸 (批号 201404, 纯度 98.6%)、芍药苷 (批号 201943, 纯度 95.1%)、苦杏仁苷 (批号 201607, 纯度 90.7%)、丹参酮 II_A (批号 201721, 纯度 99.5%)、丹酚酸 B (批号 201917, 纯度 96.6%)、丹参素钠 (批号 201210, 含量 91.2%)、柚皮苷 (批号 201616, 纯度 94.3%)、穗花杉双黄酮 (批号 201603, 纯度 97.7%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈、甲酸、乙酸均为色谱纯, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 水为蒸馏水, 购自香港屈臣氏公司。

2 方法与结果

2.1 成分分析 采用 UHPLC-Q-Orbitrap MS 法。

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取橙皮苷、迷迭香酸、芍药苷、苦杏仁苷、丹参酮 II_A、丹酚酸 B、丹参素钠、柚皮苷、穗花杉双黄酮对照品适量, 甲醇溶解, 制成 1 mg/mL, 即得, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取甲状腺颗粒 5 mg, 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 50% 甲醇, 使其质量浓度为 5 mg/mL, 超声处理 15 min, 放冷, 14 000 r/min 离心 15

收稿日期: 2024-03-16

作者简介: 张 帆 (1986—), 女, 硕士, 药师, 从事中药质量控制及其物质基础研究。Tel: 15922231087, E-mail: zf31087@163.com

* 通信作者: 张 洁 (1971—), 女, 硕士, 主任药师, 从事临床药理学、医院药学研究。Tel: 23340123—5028, E-mail: jiezhang1224@163.com

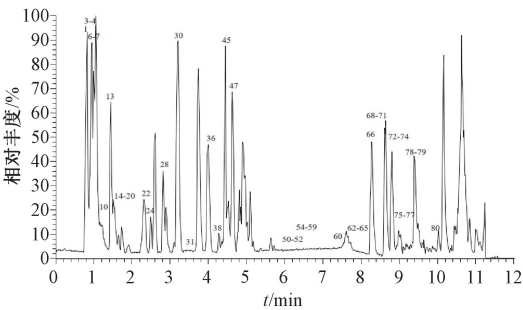
min，取上清液，即得。

2.1.3 色谱条件 HSS T3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相乙腈（A）-水（含 0.1% 甲酸，B），梯度洗脱（0~0.5 min，5%~20% A；0.5~1.8 min，20%~22% A；1.8~2.5 min，22%~40% A；2.5~4.0 min，40%~49% A；4.0~5.3 min，49% A；5.3~6.5 min，49%~80% A；6.5~9.0 min，80%~95% A；9.0~10.0 min，95% A；10.0~10.1 min，95%~5% A；10.1~12.0 min，5% A）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 35℃；进样量 4 μL。

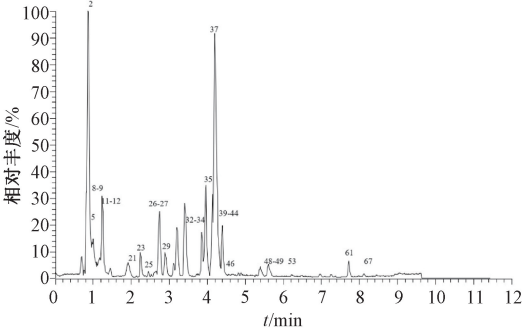
2.1.4 质谱条件 电喷雾离子源（ESI）；正负离子扫描；喷雾电压 3.5 kV；载气氮气；鞘气体积流量 35 arb；辅助气体体积流量 10 arb；毛细管温度 320℃；辅助气加热温度 350℃；扫描方式 Full Scan、ddMS2，Full Scan 模式下分辨率 60 000，扫描范围 m/z 100~1 500，而 ddMS2 模式下分辨率 15 000，扫描范围自动。

2.1.5 结果分析 原始数据采用 Compound Discover 3.0 软件对特征峰进行峰提取，并与 HMDB、PubChem 数据库进行对比，结合文献共鉴定出 80 个化合物，包括黄酮类 20 个^[10-12]、酚酸类 13 个^[13]、有机酸类 12 个^[14]、醌类 10 个^[15]、苯酞类 9 个^[16-17]、核苷酸类 7 个^[18]、蒽类 4 个^[19]、其他类 5 个，其中 9 个经对照品比对确认，见图 1、表 1。

酚酸是夏枯草的主要活性成分，以含量最高的迷迭香酸为例，其负离子模式下准分子离子峰 m/z 359.077 3 [M-H]⁻，结构中酯基氧原子两侧易断裂形成 m/z 161.024 4、179.035 1 的碎片离子，还出现了丰度较高的碎片离子 m/z



A.正离子模式



B.负离子模式

图 1 甲状腺颗粒UHPLC-Q-Orbitrap MS总离子流图

197.045 5，推断是酯基断裂后丢失中性分子 C₉H₇O₃ 所得^[20]。

2.2 含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取迷迭香酸对照品 1 mg，置于 1.5 mL 具塞离心管中，加入 1 mL 甲醇，使其质量浓

表 1 甲状腺颗粒化学成分鉴定结果

序号	分子式	离子模式	t_R / min	m/z 理论值	m/z 实际值	偏差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片 m/z	成分
1	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	0.82	175.119 0	175.119 1	0.57	158.092 6,116.070 7,70.065 2,60.055 7	精氨酸
2	C ₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	0.87	195.051 0	195.051 0	0	75.008 8,59.013 9	葡萄糖酸
3	C ₅ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	0.88	148.060 4	148.060 5	0.68	130.049 9,102.055 0,84.044 5	谷氨酸
4	C ₅ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	0.92	116.070 6	116.070 6	0	74.023 8,70.065 2	脯氨酸
5	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	0.93	341.108 9	341.108 9	0	179.056 1,161.045 5,143.034 7	α,α-海藻糖
6	C ₇ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	0.94	144.101 9	144.102 0	0.69	102.054 9,84.080 7,58.065 2	水苏碱
7	C ₆ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	0.97	130.086 3	130.086 2	-0.77	112.086 9,84.080 8,56.049 5	哌啶酸
8	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	0.98	133.014 2	133.014 2	0	115.003 7,89.024 4,71.013 8	苹果酸
9	C ₅ H ₇ NO ₃	[M-H] ⁻	1.09	128.035 3	128.035 3	0	82.029 8	焦谷氨酸
10	C ₅ H ₅ N ₅	[M+H] ⁺	1.30	136.061 8	136.061 9	0.73	119.035 4,94.040 0	腺嘌呤
11	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	1.31	191.019 7	191.019 7	0	111.008 8,87.008 8,85.029 5	柠檬酸
12	C ₅ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	1.32	129.019 3	129.019 4	0.78	85.029 5,41.003 4	柠康酸
13	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	1.36	268.104 0	268.104 3	1.12	136.061 9,85.028 2,57.033 7	腺苷
14	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	1.41	165.054 6	165.054 8	1.21	123.044 2,119.049 3,95.049 2	对羟基肉桂酸
15	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M+H] ⁺	1.42	182.081 2	182.081 2	0	165.054 8,136.075 8,123.044 1	酪氨酸
16	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₃	[M+H] ⁺	1.44	252.109 1	252.109 2	0.40	136.061 9,117.054 7,73.028 5	2'-脱氧腺苷
17	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	1.47	132.101 9	132.102 0	0.76	86.096 5,69.070 0,44.049 6	异亮氨酸
18	C ₅ H ₅ N ₅ O	[M+H] ⁺	1.50	152.056 7	152.056 9	1.32	135.030 3,110.035 1	鸟嘌呤
19	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	1.56	132.101 9	132.102 0	0.76	86.096 5,69.070 0,44.049 6	亮氨酸
20	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	1.88	282.119 7	282.119 9	0.71	136.061 8,101.059 7,69.033 4	2'-O-甲基腺苷
21	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	2.02	169.014 2	169.014 3	0.59	125.024 4,97.029 7	没食子酸
22	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	2.12	282.119 7	282.120 0	1.06	150.077 6,85.028 2,57.033 5	N6-甲基腺苷
23	C ₉ H ₉ NaO ₅	[M-H] ⁻	2.27	219.027 5	219.027 5	0	173.022 1,150.032 3	丹参素钠*
24	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	[M+H] ⁺	2.47	298.096 8	298.097 0	0.67	136.061 9,97.028 4,75.026 2,61.010 7	5'-脱氧-5'-甲硫腺苷

续表 1

序号	分子式	离子 模式	$t_{\text{R}}/$ min	m/z 理论值	m/z 实际值	偏差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片 m/z	成分
25	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	2.49	353.087 8	353.087 7	-0.28	191.056 1,179.035 0,135.045 2	新绿原酸
26	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	2.68	495.150 8	495.150 7	-0.20	333.096 9,195.065 5,165.055 5,137.024 4	氧化芍药苷
27	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	2.77	353.087 8	353.087 7	-0.28	191.056 1,161.024 1,135.045 2	绿原酸
28	C ₁₄ H ₂₀ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	2.79	277.165 9	277.166 0	-0.36	147.044 1,114.102 7	对香豆素
29	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	[M-H] ⁻	2.90	456.151 1	456.151 0	-0.22	323.098 4,263.078 3,221.066 8,89.024 4	苦杏仁苷 [*]
30	C ₇ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	3.08	139.039 0	139.039 2	1.44	93.033 6,65.038 7	对羟基苯甲酸
31	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M+H] ⁺	3.40	481.170 4	481.170 6	0.42	319.118 2,197.081 2,179.070 9	芍药内酯苷
32	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	3.61	479.155 9	479.155 7	-0.42	449.145 4,327.108 7,165.055 7,121.029 5	芍药苷 [*]
33	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	3.81	595.166 8	595.166 4	-0.67	287.056 2,151.003 7	圣草次苷
34	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	3.93	537.103 8	537.103 3	-0.93	493.114 0,339.050 4	丹酚酸 U
35	C ₂₄ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	4.01	521.130 1	521.129 9	-0.38	359.076 5,179.035 0,161.024 5,135.045 3	异迷迭香酸苷
36	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M+H] ⁺	4.05	581.186 5	581.184 8	-2.93	273.076 0,195.029 5	芸香柚皮苷
37	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	4.13	579.171 9	579.171 8	-0.17	271.061 3,151.003 7	柚皮苷 [*]
38	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	4.15	303.086 3	303.086 7	1.32	285.075 6,261.075 4,177.054 8,153.018 5	橙皮素
39	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	4.16	537.103 8	537.103 9	0.19	493.113 5,339.050 9	丹酚酸 T
40	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	4.18	609.182 5	609.182 4	-0.16	325.070 0,301.071 7,286.048 2	橙皮苷 [*]
41	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	4.30	479.155 9	479.155 9	0	357.119 4,121.029 5	牡丹皮苷 I
42	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	[M-H] ⁻	4.32	359.077 2	359.077 3	0.28	197.045 5, 179.035 1, 161.024 4, 135.045 2, 72.993 1	迷迭香酸 [*]
43	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	4.34	537.103 8	537.101 0	-5.21	493.113 9,339.051 3	丹酚酸 H 或 I
44	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	4.46	717.146 1	717.145 8	-0.42	519.093 2,493.114 9,321.040 5	丹酚酸 B [*]
45	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	[M+H] ⁺	4.56	361.164 6	361.164 7	0.28	343.154 3	落叶松树脂醇
46	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	4.61	493.114 0	493.113 9	-0.20	295.061 2,185.024 5,109.029 5	丹酚酸 A
47	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	4.66	207.101 6	207.101 7	0.48	189.091 2,179.106 7,133.101 2	洋川芎内酯
48	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	5.57	271.061 2	271.061 3	0.37	227.070 7,151.003 8,145.029 0	柚皮苷查尔酮
49	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	5.91	537.082 7	537.082 6	-0.19	443.041 0, 417.061 3, 399.050 9, 375.051 0, 357.038 7,331.061 4	穗花杉双黄酮 [*]
50	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M+H] ⁺	5.98	359.112 5	359.112 6	0.28	344.089 2,329.065 8	去甲基桔皮素
51	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	6.01	373.128 2	373.128 4	0.54	358.105 0,343.081 5,315.086 2	异甜橙黄酮
52	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	[M+H] ⁺	6.16	389.123 1	389.123 4	0.77	374.098 7,359.076 4,344.053 3	3'-去甲川陈皮素
53	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	6.18	537.082 3	537.082 7	0.74	519.073 6,417.061 8,309.040 3	罗波斯塔双黄酮
54	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	[M+H] ⁺	6.19	313.143 4	313.143 6	0.64	295.133 0,277.122 5	丹参酚醌 II
55	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	6.41	403.138 7	403.138 9	0.50	373.092 0,358.068 3	5,7,8,3',4',5'-六甲氧基黄酮
56	C ₁₇ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	6.56	283.096 5	283.096 5	0	265.085 9,237.091 1,195.080 7,181.100 9	15,16-二氢去甲丹参酮
57	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	[M+H] ⁺	6.63	343.117 6	343.117 7	0.29	313.070 8,285.076 2,181.013 3	6-去甲氧基桔皮素
58	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	[M+H] ⁺	6.68	343.117 6	343.117 8	0.58	313.071 0,299.091 8	4',5,6,7-四甲氧基黄酮
59	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	6.69	373.128 2	373.128 3	0.27	357.097 0,343.081 3,297.075 0	甜橙黄酮
60	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	7.47	403.138 7	403.139 2	1.24	388.115 9,373.092 3,355.081 2,327.086 5	川陈皮素
61	C ₃₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	7.48	551.098 4	551.098 1	-0.54	519.068 1,375.051 2,331.061 6	4'-氧-甲基穗花杉双黄酮
62	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	[M+H] ⁺	7.61	311.127 8	311.127 9	0.32	225.091 2,185.096 1	丹参酮 II B
63	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	[M+H] ⁺	7.81	433.149 3	433.149 3	0	418.126 3,403.102 4	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮
64	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	7.92	373.128 2	373.128 6	1.07	358.105 3,343.081 7,325.071 4	橘红素
65	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	[M+H] ⁺	7.99	193.122 3	193.122 5	1.04	175.111 9,147.116 9,137.059 8	洋川芎内酯 A
66	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	[M+H] ⁺	8.10	297.148 5	297.148 9	1.35	253.158 9,238.135 4	隐丹参酮
67	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	8.11	313.144 5	313.144 5	0	269.154 8,241.159 7,213.128 5	新隐丹参酮
68	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	[M+H] ⁺	8.24	389.123 1	389.123 7	1.54	359.076 6,341.065 2	去甲基川陈皮素
69	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	8.27	191.106 7	191.106 8	0.52	173.096 3,163.111 9,145.101 3	正丁基苯酞
70	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	8.44	279.101 6	279.101 8	0.72	261.091 3,233.096 5,205.101 5,169.065 0	二氢丹参酮 I
71	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	8.45	191.106 7	191.106 8	0.52	173.096 2,163.111 8,145.101 3	E-藁本内酯
72	C ₁₈ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	8.63	281.117 2	281.117 4	0.71	263.106 8,235.112 0,207.117 2	trijuganone B
73	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	[M+H] ⁺	8.77	295.132 9	295.133 1	0.68	280.109 6,249.127 4,225.127 7	异丹参酮 II A
74	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	[M+H] ⁺	8.83	189.091 0	189.091 2	1.06	171.080 5,128.062 1	E-丁烯基苯酞
75	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	9.01	191.106 7	191.106 9	1.05	173.096 3,163.112 0,145.101 4	Z-藁本内酯
76	C ₁₈ H ₁₂ O ₃	[M+H] ⁺	9.07	277.085 9	277.086 2	1.08	249.091 3,234.068 4	丹参酮 I
77	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	[M+H] ⁺	9.09	189.091 0	189.091 2	1.06	171.080 7,128.062 3	Z-丁烯基苯酞
78	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	[M+H] ⁺	9.40	381.206 0	381.206 3	0.79	335.201 3,191.106 8,173.096 7,105.070 1	(Z)-6,8',7,3'-双蒿本内酯
79	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	[M+H] ⁺	9.52	381.206 0	381.206 3	0.79	191.106 7,173.096 2,105.069 8	欧当归内酯 A
80	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	[M+H] ⁺	9.87	295.132 9	295.132 9	0	277.122 5,266.093 7,249.127 4	丹参酮 II _A [*]

注：* 表示经对照品比对。

度为 1 mg/mL，即得，4 ℃ 保存。

2.2.2 供试品溶液制备 精密称取本品 50 mg，置于 15 mL 离心管中，加入 10 mL 50% 甲醇至其质量浓度为 5 mg/mL，称定质量，超声处理 15 min，50% 甲醇补足缺失的质量，摇匀，吸取 1 mL 至 1.5 mL 离心管中，14 000 r/min 离心 15 min，取上清液，即得。

2.2.3 质谱条件 电喷雾离子源（ESI）；负离子扫描；母离子 m/z 358.86，子离子 m/z 161.04；碰撞能量 14 V；锥孔电压 28 V。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系考察 甲醇将对照品溶液依次稀释至 3.24、0.810、0.202、0.101、0.050 6、0.020 2、0.008 10、0.003 24 $\mu\text{g/mL}$ ，在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（ X ），峰面积为纵坐标（ Y ）进行回归，得方程为 $Y=925\ 877X+7\ 266.7$ （ $R^2=1.000\ 0$ ），在 0.003 24~3.24 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

2.2.4.2 精密度试验 精密称取本品（编号 S6）适量，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定 6 次，测得迷迭香酸峰面积 RSD 为 4.01%，表明仪器精密度良好。

2.2.4.3 重复性试验 精密称取本品（编号 S6）适量，按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定，测得迷迭香酸峰面积 RSD 为 2.87%，表明该方法重复性良好。

2.2.4.4 稳定性试验 精密称取本品（编号 S6）适量，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，10 ℃ 下于 0、3、6、9、12、24 h 在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定，测得迷迭香酸峰面积 RSD 为 3.62%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.4.5 加样回收率试验 精密称取迷迭香酸含量已知的本品（编号 S6）6 份，每份 25 mg，加入 1 mL 1.12 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定，测得迷迭香酸平均加样回收率为 101.2%，RSD 为 0.8%。

2.2.5 样品含量测定 精密称取 15 批样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.3”“2.2.3”项条件下进样测定，计算含量，结果见表 2。

表 2 迷迭香酸含量测定结果（ $n=3$ ）

编号	含量/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	编号	含量/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	编号	含量/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
S1	0.350	S6	0.415	S11	0.310
S2	0.392	S7	0.391	S12	0.318
S3	0.442	S8	0.374	S13	0.320
S4	0.477	S9	0.339	S14	0.386
S5	0.451	S10	0.317	S15	0.323

3 讨论

3.1 分析条件确定 分别采用水及 30%、50%、70%、100% 甲醇作为提取溶剂，发现色谱峰差别不大，峰形和保留时间大致相同，结合 SEIVE 软件提取的离子色谱峰数量，3522

50% 甲醇提取物最丰富，分离度最好。乙腈-水作为流动相时，色谱峰峰形较差，基线不平；加入 0.1% 甲酸或乙酸时，色谱峰峰形明显改善，尤其 0.1% 甲酸谱图基线更加平稳。再分别考察了 Waters ACQUITY UPLC 的 BEH C_{18} 、RP18、HSS T3 色谱柱，发现 RP18、HSS T3 响应值均高于 BEH C_{18} ，其中后者保留时间适中，分离度更好。

3.2 含量测定指标确定 甲状腺颗粒由 15 味中药组成，方中君药夏枯草是治疗甲状腺结节等甲状腺疾病的常用药物^[21]，迷迭香酸是其主要成分，具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤作用^[22]。2020 年版《中国药典》^[23]中，夏枯草以迷迭香酸为质控指标。本实验发现，迷迭香酸色谱峰峰形等各项参数良好，因此被选为质量评价的指标成分。

3.3 含量结果分析 15 批甲状腺颗粒中迷迭香酸含量与制剂配制时间无正相关性，推测不同批次样品中其含量差异可能与饮片质量、配制过程、储存、运输等多种因素有关。

4 结论

本实验围绕天津市肿瘤医院院内制剂甲状腺颗粒展开研究，采用液质联用法首次明确其化学成分，又对其主要成分迷迭香酸进行含量测定，完善了该制剂质控方法，可用于其质量标准提升，也为深入研究其药效物质基础提供了科学依据。

参考文献：

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3) : 229-263.

[2] 郑荣寿, 陈 茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2024, 46(3) : 221-231.

[3] 佚名. 中国抗癌协会甲状腺癌整合诊治指南（2022 精简版） [J]. *中国肿瘤临床*, 2023, 50(7) : 325-330.

[4] 孙 蓓, 叶因涛, 韩建庚, 等. 甲状腺颗粒影响肿瘤细胞增殖和凋亡的机制研究 [Z]. 天津: 天津市肿瘤医院, 2020.

[5] 天津市药品监督管理局. 天津市医疗机构制剂规范（2021 年版） [S]. 2021.

[6] 李 明, 马家辰, 李红梅, 等. 静电场轨道阱质谱的进展 [J]. *质谱学报*, 2013, 34(3) : 185-192.

[7] 张童画, 乔溪莹, 徐浩然, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 隔山消化学成分鉴定 [J]. *中成药*, 2023, 45(3) : 807-814.

[8] 聂雨杉, 彭 潇, 马 雪, 等. UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 法分析舒眠胶囊化学成分 [J]. *中成药*, 2023, 45(1) : 127-134.

[9] Wang D, Fu Z F, Xing Y C, *et al.* Rapid identification of chemical composition and metabolites of Pingxiao Capsule *in vivo* using molecular networking and untargeted data-dependent tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(9) : e4882.

[10] 邹 瑾, 周金彩, 龙红萍, 等. UPLC-ESI-Q-TOF-MS 法分

析究州卷柏化学成分[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2334-2337.

[11] 刘梦诗, 杨得坡, 杨婉玲, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术分析四花青皮的成分[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(23): 2395-2400; 2427.

[12] 吴建雄, 杨嵩虹, 郭怡敬, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的陈皮醋制前后成分分析[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(9): 4321-4327.

[13] 陈嘉慧, 张雅心, 刘孟华, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的丹参水提液全成分分析[J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(1): 1-9.

[14] 武少茹, 冯伟红, 陈凯明, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 结合 UPLC 表征夏枯草不同部位的化学组成及抗氧化活性研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(17): 4569-4588.

[15] 张 驰, 张彩娟, 邱敏懿, 等. 丹参多化学成分的 UPLC-LTQ Orbitrap MS 快速表征解析[J]. 中医医学报, 2018, 46(3): 14-21.

[16] 蒋虎刚, 赵信科, 蔺文燕, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析当归中多种香豆素类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 157-162.

[17] 张清清, 冯 媛, 李春花, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术快速鉴定当归中苯酞类和有机酸类成分[J]. 中国药房, 2022, 33(5): 579-585; 591.

[18] 张聪聪, 王长虹, 李兴佳, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析桃仁化学成分及快速测定苦杏仁苷和野黑樱苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(4): 347-355.

[19] 刘 杰, 陈 琳, 范彩荣, 等. 基于 HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS 的白芍和赤芍主要成分定性定量研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1762-1770.

[20] 刘 静, 霍志鹏, 田介峰, 等. 迷迭香酸及咖啡酸的 ESI 四级杆飞行时间高分辨质谱裂解规律研究[J]. 化工与医药工程, 2023, 44(3): 29-34.

[21] 张莹莹, 凌 霄, 李春晓, 等. 治疗甲状腺结节、乳腺增生、子宫肌瘤中药复方的用药共性规律[J]. 中成药, 2022, 44(1): 270-276.

[22] 龙苗苗, 程 贤, 赵振东, 等. 迷迭香酸药理作用及其递送系统的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(11): 3715-3724.

[23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 292-293.

基于 VITEK MS 及 VITEK2 Compact 的更年宁微生物污染调查

郭 琦
[河南省药品医疗器械检验院 (河南省疫苗批签中心), 河南 郑州 450018]

摘要: **目的** 研究更年宁微生物负载状况。**方法** 建立微生物限度检查方法并对全部样品进行微生物限度检查, 分离培养检查中出现的污染菌, 使用 VITEK MS 飞行时间质谱及 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统对分离菌株进行鉴定。**结果** 样品需氧菌总数存在不同程度的微生物污染问题, 霉菌、酵母菌总数及控制菌各项指标良好。需氧菌污染菌株以芽孢杆菌属为主, 其他种类需氧菌较少被检出, 2 种方法对菌种的鉴定结果存在差异。**结论** 更年宁需氧菌总数微生物污染问题不容忽视, 但未发现有严重致病性微生物。VITEK MS 及 VITEK2 Compact 联用时结果展现更丰富、直观、高效, 可为调查污染来源提供重要参考。

关键词: 更年宁; 微生物污染; VITEK MS; VITEK2 Compact; 菌种鉴定; 芽孢杆菌

中图分类号: R927.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)10-3523-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.057

更年宁是由柴胡、黄芩、白芍等 22 味中药组成的丸剂, 执行标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第六册)》^[1], 制法提示该品种含药材原粉。前期中药材微生物污染研究表明, 经处理入药的药材尚含有一定量的致病菌和条件致病菌^[2], 由于微生物代谢活跃的特殊性, 其在中成药中可能产生未知化合物, 甚至分解有效成分, 导致药品本身质量及其安全性受到影响^[3-4]。微生物污染是国际上药品召回事件发生的重要原因

之一^[5], 也是目前制约我国中药制剂走向国际市场的重大因素^[6]。

药品微生物质量控制正向过程控制转变, 这种转变需要全面掌握药品生产过程原材料、环境、人员、设备、终产品等方面可能存在的微生物菌群, 在出现微生物异常事件时便于进行回顾性调查。本研究通过调查分析 2022 年国家药品监督抽检品种中成药制剂更年宁的微生物污染状况, 旨在全面了解目前市场流通的该制剂微生物负载状况, 以