

- [12] 孙强, 何召允, 王传杰, 等. RP-HPLC法测定健肝灵胶囊中五味子醇甲的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(11): 224-225.
- [13] 杨孝容, 向清祥, 熊俊如, 等. HPLC测定柏子养心丸中五味子酯甲、五味子甲素和五味子乙素的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(11): 1558-1561.
- [14] 张永萍, 李永鹏. 高效液相色谱法筛查利肺片中南五味子代替五味子[J]. 中国药业, 2020, 29(11): 62-65.

UPLC-MS/MS法同时测定岩鹿乳康胶囊中6种成分

李伟, 郝晶晶*

(北京卫生职业学院药学系, 北京 101101)

摘要: 目的 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定岩鹿乳康胶囊中岩白菜素、没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素的含量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Phenomenex Kinetex C₈ 100A 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相 0.01% 甲酸-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 ℃; 电喷雾离子源; 负离子模式; 多反应监测 (MRM) 模式。结果 6 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.9959$), 平均加样回收率 97.0%~106.1%, RSD 2.78%~7.50%。结论 该方法简便准确, 可用于岩鹿乳康胶囊的质量控制。

关键词: 岩鹿乳康胶囊; 化学成分; UPLC-MS/MS

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1267-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.039

岩鹿乳康胶囊为彝族传统药物, 主要由岩陀、鹿衔草、鹿角霜等中药组成, 用于治疗肾阳不足、气滞血瘀所致的乳腺增生^[1-2], 方中岩陀主要成分为岩白菜素、槲皮素、没食子酸^[3-4], 具有抗炎、镇痛、抗肿瘤作用^[5-8]; 鹿衔草主要成分为没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷等, 具有抗炎、抗氧化作用^[9-14]; 鹿角霜主要成分为碳酸钙和磷酸钙, 但目前仅采用 HPLC 法测定该制剂中岩白菜素含量^[15], 故建立多成分含量同时测定的方法对评价其质量具有重要意义。课题组前期通过高分辨质谱对岩鹿乳康胶囊化学成分进行定性分析, 发现岩白菜素、大黄素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷含量较高; 本实验结合相关文献报道, 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定岩白菜素、没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素含量, 有助于保证该制剂的质量可控。

1 材料

Exion LC AD 型超高效液相色谱仪、QTRAP 6500+ 型质谱仪 (美国 AB Sciex 公司); NewClassic MS 型电子天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司)。岩白菜素 (批号 111532-202005, 纯度 94.4%)、没食子酸 (批号 110831-201906, 纯度 91.5%)、金丝桃苷 (批号 111521-201809, 纯度

94.9%)、儿茶素 (批号 110877-202005, 纯度 95.1%)、2''-O-没食子酰基金丝桃苷 (批号 111629-201002, 纯度 88.3%)、大黄素 (批号 110756-201913, 纯度 96.0%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。岩鹿乳康胶囊 (批号 20200602、20200702、20200801、20200903、20201001、20201102) 购自常宁仁和堂大药房有限公司。甲醇、乙腈、甲酸、蒸馏水均为色谱纯, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱 Phenomenex Kinetex C₈ 100A 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相 0.01% 甲酸 (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (0 min, 5% B; 0~5 min, 5%~95% B; 5~7 min, 95% B; 7~7.1 min, 95%~5% B; 7.1~10 min, 5% B); 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量 1 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源; 负离子模式; 多反应监测 (MRM) 模式; 气帘气 N₂, 体积流量 30 L/min; 雾化气 N₂, 体积流量 50 L/min; 辅助气 N₂, 体积流量 55 L/min; 离子源喷雾电压 -4 500 V, 温度 550 ℃, 主要质谱参数^[16-18]见表 1, 总离子流图、MRM 色谱图分别见图 1~2。

收稿日期: 2021-07-26

基金项目: 2018 年北京市职业教育教学改革项目 (2018-108)

作者简介: 李伟 (1986—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为药物分析。Tel: (010) 63209176, E-mail: lijing_0317001@163.com

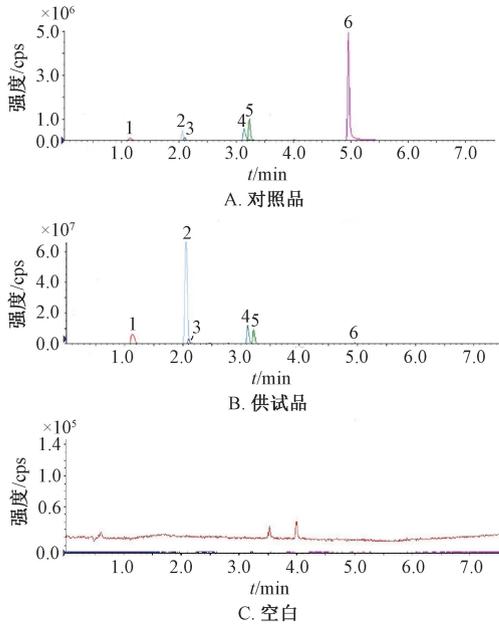
* 通信作者: 郝晶晶 (1981—), 男, 硕士, 教授, 研究方向为药物制剂新技术与质量控制。Tel: (010) 63209013, E-mail: haojingjing@sina.com

网络出版日期: 2022-02-16

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220216.1421.006.html>

表1 各成分主要质谱参数

成分	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压/V	碰撞电压/V	保留时间/min
岩白菜素	327.0 [M-H] ⁻	192.0 [M-H-CH ₃ -C ₄ H ₈ O ₄] ⁻	-60	-34	2.07
没食子酸	169.1 [M-H] ⁻	125.0 [M-H-CO ₂] ⁻	-30	-19	1.15
儿茶素	289.1 [M-H] ⁻	203.2 [M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	-40	-27	2.11
2''-O-没食子酰基金丝桃苷	615.1 [M-H] ⁻	301.0 [M-H-galloyl-Gal] ⁻	-55	-31	3.14
金丝桃苷	463.2 [M-H] ⁻	300.1 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻	-40	-38	3.23
大黄素	269.2 [M-H] ⁻	225.0 [M-H-CO-O] ⁻	-100	-36	4.96



1. 没食子酸 2. 岩白菜素 3. 儿茶素 4. 2''-O-没食子酰基金丝桃苷 5. 金丝桃苷 6. 大黄素

图1 各成分总离子流图

表2 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
岩白菜素	$Y=7.003\times 10^3 X+3.986\times 10^3$	0.996 6	0.1~1 000
没食子酸	$Y=1.343\times 10^4 X-2.144\times 10^3$	0.997 0	0.5~1 000
金丝桃苷	$Y=2.382\times 10^4 X+6.861\times 10^2$	0.999 0	0.5~1 000
儿茶素	$Y=2.817\times 10^3 X+1.306\times 10^2$	0.997 5	0.5~1 000
2''-O-没食子酰基金丝桃苷	$Y=2.072\times 10^4 X+3.520\times 10^3$	0.995 9	0.5~200
大黄素	$Y=8.568\times 10^4 X+4.716\times 10^3$	0.997 4	0.1~200

2.4 精密度试验 取“2.2.1”项下对照品溶液(岩白菜素、大黄素质量浓度为0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$, 没食子酸、金丝桃苷、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷质量浓度为0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$), 在“2.1”项条件下进样测定6次, 测得岩白菜素、大黄素、没食子酸、金丝桃苷、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷峰面积RSD分别为4.26%、3.45%、4.46%、3.56%、6.41%、2.44%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 取同一份本品(批号20200903), 按“2.2.2”项下方法平行制备供试品6份溶液, 在“2.1”项条件下进样测定, 测得岩白菜素、没食子酸、金丝桃苷、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素峰面积RSD分别为2.34%、2.58%、1.90%、1.26%、1.14%、1.13%, 表明方法重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一份本品(批号20200903), 按

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密吸取岩白菜素、没食子酸、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、金丝桃苷、大黄素对照品适量, 置于10 mL量瓶中, 甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的贮备液, 分别精密吸取适量, 置于5 mL量瓶中, 甲醇稀释, 分别制成岩白菜素质量浓度为0.1、0.5、1、2、10、50、100、200、500、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$, 儿茶素、金丝桃苷、没食子酸质量浓度为0.5、1、2、10、50、100、200、500、1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$, 2''-O-没食子酰基金丝桃苷质量浓度为0.5、1、2、5、10、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{L}$, 大黄素质量浓度为0.1、0.5、1、2、10、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的溶液, 即得。

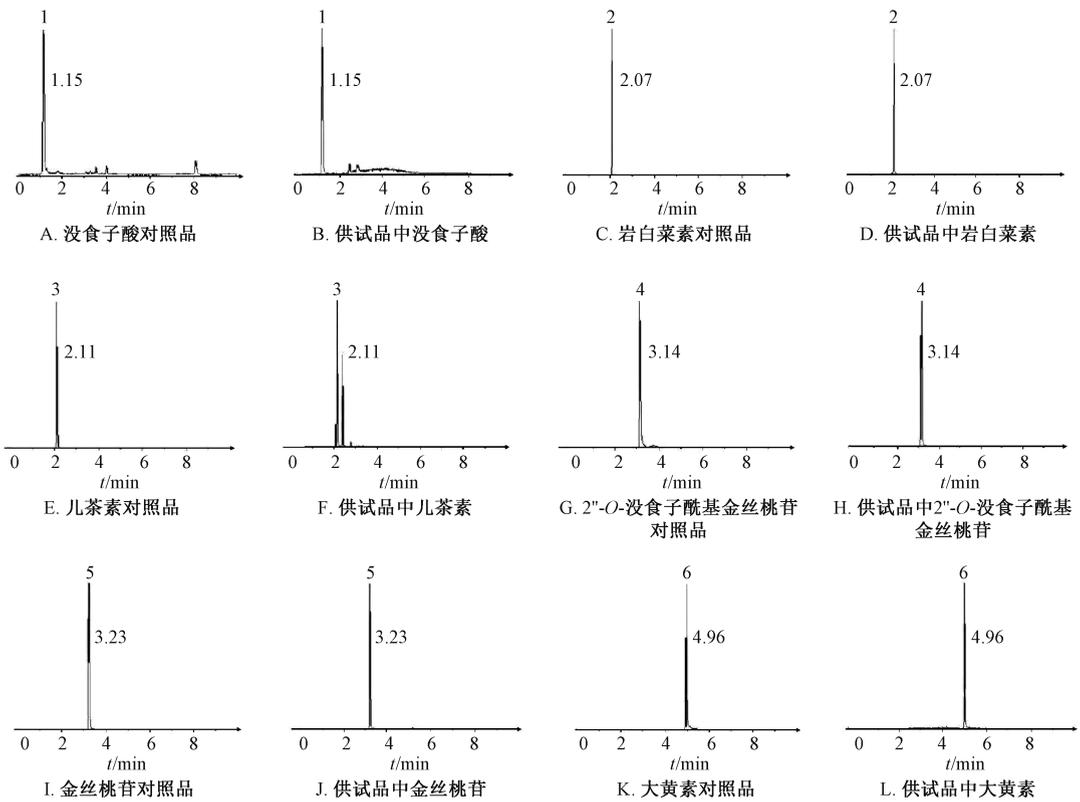
2.2.2 供试品溶液 取本品5粒, 内容物研细, 精密称取10 mg粉末至离心管中, 加入20 mL甲醇, 涡旋1 min, 超声处理30 min, 4 000 r/min离心5 min, 取上清液, 甲醇稀释, 即得。

2.3 线性关系考察 取“2.2.1”项下对照品溶液各1 μL , 在“2.1”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, 结果见表2, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 于0、2、4、8、12、24 h在“2.1”项条件下进样测定, 测得岩白菜素、没食子酸、金丝桃苷、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素峰面积RSD分别为4.64%、3.39%、1.78%、1.82%、4.77%、3.62%, 表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的本品粉末(批号20200903)6份, 每份5 mg, 精密加入低、中、高质量浓度对照品溶液, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项条件下进样测定, 计算回收率。结果, 岩白菜素、没食子酸、金丝桃苷、儿茶素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素平均加样回收率(RSD)分别为100.7% (7.50%)、101.9% (6.34%)、97.0% (6.16%)、97.5% (3.11%)、104.1% (2.78%)、106.1% (6.71%)。

2.8 样品含量测定 取6批样品, 按“2.2.2”项下方法



1. 没食子酸 2. 岩白菜素 3. 儿茶素 4. 2''-O-没食子酰基金丝桃苷 5. 金丝桃苷 6. 大黄素

图2 各成分UPLC-MS/MS色谱图

制备供试品溶液，在“2.1”项条件下进样测定，计算含量，结果见表3。

表3 各成分含量测定结果 (μg/L, n=6)

批号	岩白菜素	没食子酸	金丝桃苷	儿茶素	2''-O-没食子酰基金丝桃苷	大黄素
20200602	41 934.59	634.73	377.37	1 259.76	592.90	0.20
20200702	38 016.35	319.88	174.79	826.26	285.51	0.21
30300801	37 427.07	350.16	172.35	727.65	268.11	0.53
20200903	36 440.00	434.80	139.80	406.00	182.92	1.21
20201001	42 961.83	407.38	189.90	819.17	314.09	2.01
20201102	34 893.33	426.42	127.33	786.75	121.20	0.58

3 讨论

3.1 色谱柱选择 本实验首先考察了C₁₈、XBC₁₈、F₅色谱柱，发现F₅色谱柱响应值较好，但进完1批样品后没食子酸出峰位置出现干扰，冲洗色谱柱后也未改善，故改用保留较弱的C₈色谱柱，发现其响应高，而且无干扰。最终，选择C₈色谱柱进行检测。

3.2 流动相选择 本实验首先考察了水-乙腈，发现以其洗脱时2''-O-没食子酰基金丝桃苷不出峰，而换成甲醇后能看到该成分信号峰，但响应较低，然后在水相中加入0.01%甲酸，发现其信号响应改善。最终，选择甲醇-0.01%甲酸作为流动相。

4 结论

本实验建立UPLC-MS/MS法同时测定岩鹿乳康胶囊中岩白菜素、没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素的含量，该方法前处理简便，回收率、

精密度、稳定性均满足定量分析要求，可为该制剂质量控制标准的建立提供参考。

参考文献:

[1] 蔡乾荣, 张庚. 岩鹿乳康胶囊的国内临床研究进展[J]. 中国计划生育学杂志, 2017, 25(12): 888-890.
 [2] 杨杰, 罗金, 官家全, 等. 彝药岩鹿乳康胶囊研究进展[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2018, 5(31): 6-9.
 [3] 张诗昆. 海枣和岩陀的化学成分研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2015.
 [4] 罗万玲. 美洲大蠊和岩陀的化学成分研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2007.
 [5] 王蒙, 牛有红, 吴艳芬. 岩白菜素及其衍生物抗肿瘤活性的相关研究进展[J]. 药学研究, 2018, 37(7): 408-412.
 [6] 邓丽华, 李云森, 吴艳芬. 岩白菜素及其衍生物抗炎活性

- 的相关研究进展[J]. 药学研究, 2016, 35(7): 408-411.
- [7] 梁爽. 没食子酸抗肿瘤作用研究进展[J]. 广西医学, 2017, 39(7): 1068-1072.
- [8] 郑雪花, 杨君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 94-98; 102.
- [9] 王西发, 张建民, 曹爱兰, 等. 鹿衔草的化学成分[J]. 中草药, 1988, 19(1): 8-10.
- [10] 王军宪, 陈新民, 李宏, 等. 鹿衔草化学成分的研究(第1报)[J]. 天然产物研究与开发, 1991, 3(3): 1-6.
- [11] 王军宪, 陈新民, 李宏, 等. 鹿衔草化学成分的研究: 羟基肾叶鹿蹄草甙的结构鉴定[J]. 植物学报, 1994, 36(11): 895-897.
- [12] 覃姣兰, 袁涛, 钟雨佳. 儿茶素抗氧化活性研究[J]. 广东化工, 2020, 47(21): 18-19.
- [13] 金向楠, 高薇, 冯欣, 等. 金丝桃苷对胶原诱导性关节炎小鼠的治疗作用[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(17): 2199-2203.
- [14] 夏良萍, 孙惠芳, 王丹, 等. 2'-O-没食子酰基金丝桃苷的抗炎和神经保护活性研究[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(11): 54-56.
- [15] 国家食品药品监督管理局. 国家中成药标准汇编[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [16] 任慧, 崔小敏, 胡静, 等. 秦岭岩白菜根茎化学成分的UHPLC-Q Exactive Focus MS/MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(9): 118-128.
- [17] 马微, 王海波, 陈冬东, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥保健食品中酚酞和大黄素的方法研究[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 339-343.
- [18] 林志燕, 杨荣富, 唐跃年. 8种黄酮类成分的LC-MS/MS分析[J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1292-1297.

铧头草质量标准研究

沙马里牛^{1,2,3}, 李文兵^{2,3}, 沙冬梅^{1,2,3}, 陈燃^{1,2,3}, 陈丽萍^{1,2,3}, 倪帅聪^{1,2,3}, 阎新佳^{2,3*}, 刘圆^{2,3*}

(1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041; 2. 四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 四川 成都 610225; 3. 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 四川 成都 610225)

摘要: **目的** 建立铧头草质量标准。**方法** 采用显微鉴别、TLC对彝药材铧头草进行定性鉴别, HPLC法测定秦皮乙素含量, 2020年版《中国药典》方法测定水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量。**结果** 显微鉴别特征明显, 可见薄壁细胞、纤维束、螺纹导管、草酸钙簇晶、淀粉粒等。早开堇菜、心叶堇菜 TLC特征斑点分离清晰。水分、总灰分、酸不溶性灰分含量分别不得超过13%、24%、7%, 浸出物含量不得低于10%。秦皮乙素在0.05~0.80 mg/mL范围内线性关系良好($R^2=0.9995$), 平均加样回收率为100.17%、RSD为1.07%, 早开堇菜中该成分含量不得低于0.10%, 而心叶堇菜中不限。**结论** 该方法简便、准确、重复性好, 可用于铧头草的质量控制。

关键词: 铧头草; 早开堇菜; 心叶堇菜; 秦皮乙素; 显微鉴别; TLC; HPLC; 2020年版《中国药典》

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1270-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.040

铧头草为堇菜科植物早开堇菜 *Viola prionantha* Bunge、心叶堇菜 *Viola yunnanfuensis* W. Becker 的干燥全草, 彝药名“赤芙洛比”, 具有清热解毒、除脓消炎等功效, 可用于排脓、消炎、生肌等^[1], 为四川大凉山名药“彝药痛风颗粒”方中药材。彝医药作为民族医药的重要分支, 对痛

风有独特的治疗特色, 而且临床疗效显著^[2]。有关堇菜属植物的记载最早出现在先秦《五十二病方》中^[3], 富含黄酮、香豆素、木脂素、萜类、甾体、生物碱等多种成分^[4-7], 具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节^[8]、抗凝血^[9]等作用, 其主要成分秦皮乙素具有抗肿

收稿日期: 2022-09-09

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1708005); 2022年国家民委领军人才支持计划(2022); 四川省科技计划项目(2021YFS0043); 四川省药品监督管理局中药(民族药)标准提升项目(510201202102305); 中央高校基本科研业务费校级创新团队专项项目(ZYN2022067)

作者简介: 沙马里牛(1994—), 女(彝族), 硕士生, 研究方向为药用植物资源品质评价。Tel: (028) 85528812, E-mail: 2284525940@qq.com

* **通信作者:** 阎新佳(1984—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (028) 85528812, E-mail: yanxinjia@yeah.net
刘圆(1968—), 女, 博士, 教授, 研究方向为民族药品种、品质评价及新药资源保护与利用。Tel: (028) 85528812, E-mail: 499769896@qq.com