

- 28(9): 78-81; 89.
- [13] 王群, 陈丝, 宋囡, 等. 基于“行津液、运膏脂”理论探讨泽泻汤对高脂血症大鼠 PI3K/AKT/FoxO1/AQP9 途径的影响及分子机制[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(3): 563-567.
- [14] 谢燕, 李贵平, 段月阳, 等. 泽泻提取物改善游离脂肪酸诱导的 HepG2 脂肪变性细胞模型的脂质代谢及氧化应激异常[J]. 中草药, 2024, 55(6): 2002-2012.
- [15] 柯瑞, 张江山, 甘春梅, 等. 基于指纹图谱-多成分化学计量学的建昌帮蜜糠炒白术质量评价研究[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(7): 50-56.
- [16] Liu G Q, Xie R Y, Tan Q W, et al. Pharmacokinetic study and neuropharmacological effects of atractylenolide III to improve cognitive impairment via PI3K/AKT/GSK3 β pathway in intracerebroventricular-streptozotocin rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 333: 118420.
- [17] 胡诚, 陈龙, 蒋元焯, 等. HPLC 法测定泽泻汤中泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 含量[J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(5): 73-77.
- [18] 郭炜, 王加锋, 展照双, 等. 高效液相色谱法测定茯苓泽泻汤加山楂中金丝桃苷的色谱条件考察[J]. 中药与临床, 2019, 10(Z1): 9-10.
- [19] 刘永铭, 刘树森, 熊轶喆, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定养血软坚胶囊中 17 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(2): 353-358.
- [20] 麻景梅, 姜晓娅, 麻朝朝, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定经典名方实脾散中 20 个化学成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(3): 429-439.
- [21] Mu H F, Jin Q, Tang J, et al. Pharmacokinetics and related gender difference studies of four active components of *Codonopsis Pilosula* by LC-MS/MS determination[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 337(Pt 2): 118899.

HPLC-MS/MS 法同时测定安神补心六味丸中 12 种成分的含量及其化学模式识别研究

刘成东¹, 李君¹, 张谦¹, 刘静¹, 陆景坤², 董馨¹, 廖园红¹, 王跃武^{1*}

(1. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古呼和浩特 010110; 2. 内蒙古医科大学基础医学院, 内蒙古呼和浩特 010110)

摘要: 目的 建立 HPLC-MS/MS 法同时测定安神补心六味丸中去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚的含量, 并进行化学模式识别。方法 分析采用 Shim-pack GIST-HP C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 3 μ m); 流动相甲醇-水 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.25 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式。再进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析。结果 12 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999 0$), 平均加样回收率 95.38%~105.00%, RSD 1.91%~5.14%。13 批样品聚为 3 类, 鞣花酸、去氢木香内酯、去氢二异丁香酚、原儿茶酸、没食子酸、槲皮素、山柰酚为潜在质量差异标志物。结论 该方法精确灵敏, 稳定性、重复性良好, 可用于安神补心六味丸的质量控制及评价。

关键词: 安神补心六味丸; 化学成分; 含量测定; 化学模式识别; HPLC-MS/MS; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2834-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.002

收稿日期: 2024-11-19

基金项目: 内蒙古自治区蒙医药协同创新中心国际合作项目 (MYXTCJ202306); 内蒙古自治区蒙医药协同创新中心成果转化培育项目 (MYXTPY202306); 内蒙古自治区科技计划项目 (2023YFHH0082); 内蒙古医科大学“致远”人才计划项目 (ZY20242115); 内蒙古医科大学面上项目 (YKD2024MS015)

作者简介: 刘成东 (1998—), 男, 硕士, 从事中药质量控制方法研究。E-mail: 2858209687@qq.com

* 通信作者: 王跃武 (1983—), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中蒙药质量控制及其新剂型开发研究

Simultaneous content determination of twelve constituents in Anshen Buxin Liuwei Pills by HPLC-MS/MS and their chemical pattern recognition

LIU Cheng-dong¹, LI Jun¹, ZHANG Qian¹, LIU Jing¹, LU Jing-kun², DONG Xin¹, LIAO Yuan-hong¹, WANG Yue-wu^{1*}

(1. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT: AIM To establish an HPLC-MS/MS method for the simultaneous content determination of dehydrodiisoeugenol, eugenol, costiolactone, dehydrocostiolactone, quercetin, isorhamnetin, luteolin, caffeic acid, gallic acid, protocatechuic acid, ellagic acid and kaempferol in Anshen Buxin Liuwei Pills, and to make chemical pattern recognition. **METHODS** The analysis was performed on a 35 °C thermostatic Shim-pack GST-HP C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 3 μm), with the mobile phase comprising of methanol-water (containing 0.1% formic acid) flowing at 0.25 mL/min in a gradient elution manner, and electron spray ionization source was adopted in positive and negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. Subsequently, cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least square-discriminant analysis were performed. **RESULTS** Twelve constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.999 0$), whose average recoveries were 95.38%–105.00% with the RSDs of 1.91%–5.14%. Thirteen batches of samples were clustered into 3 types, ellagic acid, dehydrocodenolactone, dehydrodiisoeugenol, protocatechuic acid, gallic acid, quercetin and kaempferol were taken as potential quality differential markers. **CONCLUSION** This accurate, sensitive, stable and reproducible method can be used for the quality control and evaluation of Anshen Buxin Liuwei Pills.

KEY WORDS: Anshen Buxin Liuwei Pills; chemical constituents; content determination; chemical pattern recognition; HPLC-MS/MS; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least square-discriminant analysis

安神补心六味丸由牛心、木香、枫香脂、丁香、肉豆蔻、广枣 6 味药材组成，蒙药名“吉如和-6”^[1]，功效祛“赫依”、镇静^[2]。目前，关于安神补心六味丸的质量研究仅采用 HPLC 法测定丁香酚、原儿茶酸含量^[3-4]，但复方制剂成分复杂^[5]，所以仅以单一成分为指标难以全面客观地评价其质量^[6]。

高效液相色谱-三重四极杆质谱 (HPLC-MS/MS) 法具有专属性强、灵敏度高、选择性好等特点^[7-8]，而化学模式识别能准确反映药物真实信息，可对其质量进行全面监控^[9]。2020 年版《中国药典》一部^[10]明确规定，肉豆蔻、丁香和木香指标成分分别为去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯和去氢木香内酯；部分研究^[11-13]表明，丁香中含有异鼠李素、山柰酚等成分，广枣中含有槲皮素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸等成分。因此，本实验建立 HPLC-MS/MS 法

同时测定安神补心六味丸中去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚的含量，并进行化学模式识别，旨在为该制剂质量控制提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 LC-MS8045 型高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪 [配置电喷雾离子源 (ESI)]、AP135W 型电子天平 (十万分之一, 日本岛津公司); BSA224S 型电子天平 [万分之一, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; DS-7510DTH 型数控超声波清洗器 (上海生析超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 安神补心六味丸共 13 批 (批号 201155、220713、221006、230233、230348、230352、230353、230404、230421、230502、230619、240318、240321, 编号 S1~S13, 2 g/10 粒), 均购自内蒙古奥特奇蒙药股份有限公司。去氢二异丁香

酚(批号111838-201804,纯度 $\geq 98.6\%$)、丁香酚(批号110725-202318,纯度 $\geq 99.6\%$)、木香烃内酯(批号111524-202312,纯度 $\geq 99.6\%$)、去氢木香内酯(批号111525-202313,纯度 $\geq 99.8\%$)、槲皮素(批号100081-201610,纯度 $\geq 99.1\%$)、异鼠李素(批号110860-202012,纯度 $\geq 99.1\%$)、木犀草素(批号111520-202107,纯度 $\geq 98.3\%$)、咖啡酸(批号110885-201703,纯度 $\geq 99.7\%$)、没食子酸(批号110831-202407,纯度 $\geq 98.3\%$)、原儿茶酸(批号110809-202207,纯度 $\geq 98.5\%$)、鞣花酸(批号111959-201903,纯度 $\geq 98.8\%$)、山柰酚(批号110861-202214,纯度 $\geq 98.4\%$)对照品,均购自中国食品药品检定研究院。甲酸为色谱纯,购自美国Fisher公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,购自德国默克公司;水为蒸馏水,购自屈臣氏集团(香港)有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚对照品适量,置于10 mL量瓶中,甲醇溶解定容,制成质量浓度分别为300、43 258、699、371、86、321、233、464、1 284、2 440、787、339 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的母液,再精密量取各母液适量,置于同一10 mL量瓶中,甲醇定容至刻

度,即得(各成分质量浓度分别为4.140、302.806、21.808 8、10.944 5、0.670 8、0.963、0.279 6、0.464、20.158 8、4.148、21.878 6、0.949 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.1.2 供试品溶液 取本品适量,研磨成粉,过4号筛,称取1.000 g,置于50 mL锥形瓶中,加入10 mL 70%甲醇,密封,超声(功率80 W,频率50 kHz)处理40 min,冷却至室温,70%甲醇补足减失的质量,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液稀释10倍,即得。

2.2 UPLC-MS/MS 条件

2.2.1 色谱 Shim-pack GIST-HP C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 3 μm);流动相甲醇(A)-水(含0.1%甲酸)(B),梯度洗脱(0.01~0.5 min, 10%~25% A; 0.5~1.0 min, 25%~35% A; 1.0~3.0 min, 35%~60% A; 3.0~5.0 min, 60%~75% A; 5.0~5.8 min, 75%~95% A; 5.8~7.5 min, 95% A; 7.5~7.51 min, 95%~10% A; 7.51~9.5 min, 10% A);体积流量0.25 mL/min;柱温35 $^{\circ}\text{C}$;进样量3 μL 。

2.2.2 质谱 电喷雾离子源(ESI);正负离子扫描;多反应监测(MRM)模式;喷雾电压3.80 kV(+),3.50 kV(-);雾化气体积流量3 L/min;加热气体积流量10 L/min;接口温度300 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度526 $^{\circ}\text{C}$;加热块温度400 $^{\circ}\text{C}$,其他参数见表1,二级质谱图见图1,MRM色谱图见图2。

表1 各成分质谱参数

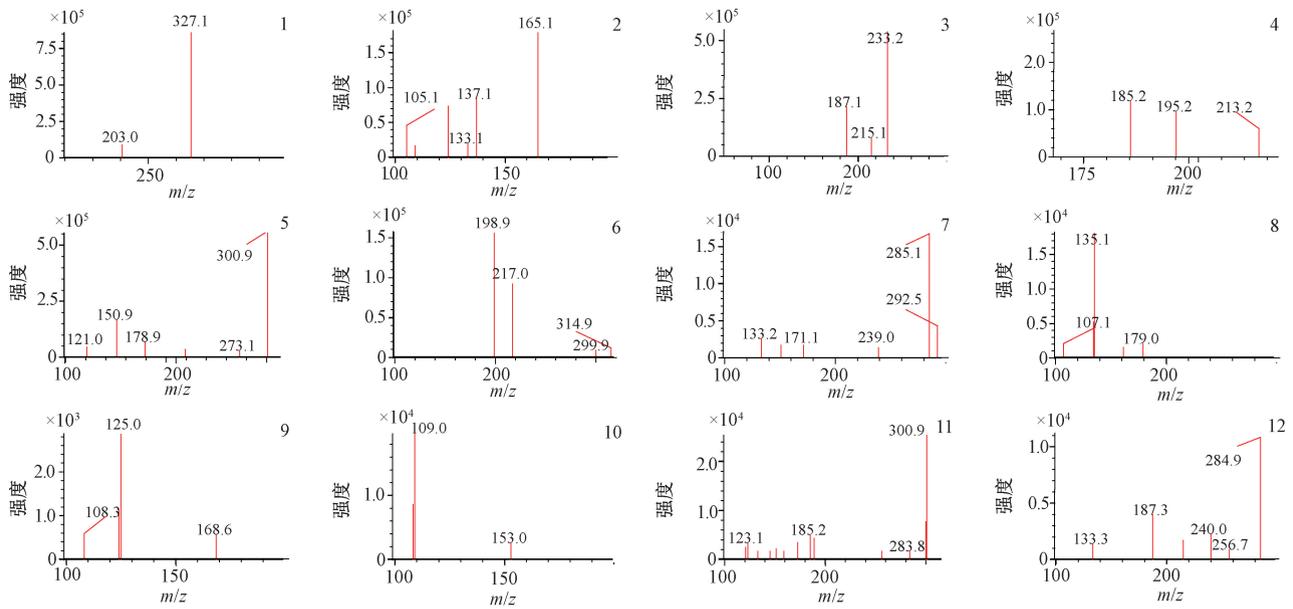
Tab. 1 Mass spectrometry parameters for various constituents

成分	t_{R}/min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量/eV
去氢二异丁香酚	7.980	327.1[M+H] ⁺	203.0[M+H-C ₇ H ₇ O ₂] ⁺	-15.0
丁香酚	6.501	165.1[M+H] ⁺	105.1[M+H-C ₃ H ₇ O] ⁺	-14.0
木香烃内酯	7.645	233.2[M+H] ⁺	187.1[M+H-CH ₂ O ₂] ⁺	-11.0
去氢木香内酯	7.778	231.1[M+H] ⁺	185.2[M+H-CH ₂ O ₂] ⁺	-13.0
槲皮素	5.729	300.9[M-H] ⁻	150.9[M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	24.0
异鼠李素	6.584	314.8[M-H] ⁻	300.1[M-H-CH ₃] ⁻	20.0
木犀草素	6.021	285.1[M-H] ⁻	133.2[M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	30.0
咖啡酸	3.727	179.0[M-H] ⁻	135.0[M-H-CO ₂] ⁻	18.0
没食子酸	2.505	168.9[M-H] ⁻	125.1[M-H-C ₂ H ₅ O] ⁻	15.0
原儿茶酸	3.001	153.3[M-H] ⁻	109.0[M-H-CO ₂] ⁻	16.0
鞣花酸	5.017	300.9[M-H] ⁻	283.6[M-H-OH] ⁻	34.0
山柰酚	6.450	284.9[M-H] ⁻	187.3[M-H-C ₄ H ₂ O ₃] ⁻	29.0

2.3 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液100、200、400、600、800、1 000 μL ,置于1 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,在“2.2”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。

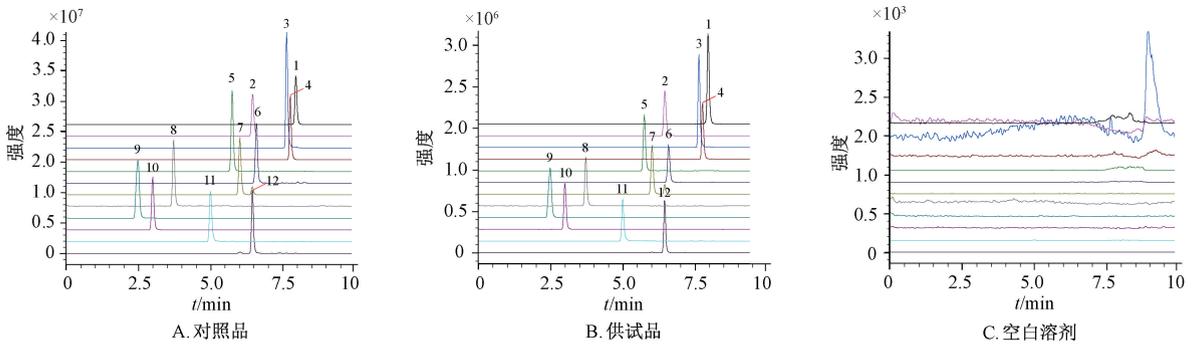
2.4 精密度试验 精密量取对照品溶液400 μL ,置于1 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,在“2.2”项条件下进样测定6次,测得去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠



1. 去氢二异丁香酚 2. 丁香酚 3. 木香烃内酯 4. 去氢木香内酯 5. 槲皮素 6. 异鼠李素 7. 木犀草素 8. 咖啡酸 9. 没食子酸
10. 原儿茶酸 11. 鞣花酸 12. 山柰酚
1. dehydrodiisoeugenol 2. eugenol 3. coenolactone 4. dehydrocoenolactone 5. quercetin 6. isorhamnetin 7. luteolin 8. caffeic acid
9. gallic acid 10. protocatechuic acid 11. ellagic acid 12. kaempferol

图1 各成分二级质谱图

Fig. 1 Secondary mass spectra for various constituents



1. 去氢二异丁香酚 2. 丁香酚 3. 木香烃内酯 4. 去氢木香内酯 5. 槲皮素 6. 异鼠李素 7. 木犀草素 8. 咖啡酸
9. 没食子酸 10. 原儿茶酸 11. 鞣花酸 12. 山柰酚
1. dehydrodiisoeugenol 2. eugenol 3. coenolactone 4. dehydrocoenolactone 5. quercetin 6. isorhamnetin 7. luteolin 8. caffeic acid
9. gallic acid 10. protocatechuic acid 11. ellagic acid 12. kaempferol

图2 各成分MRM色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of various constituents

李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚峰面积 RSD 分别为 2.09%、2.51%、2.46%、2.44%、1.89%、2.22%、2.70%、1.70%、1.98%、2.62%、2.94%、2.50%，表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 取本品 (S1, 批号 201155) 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2”项条件下进样测定, 测得去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异

鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚含量 RSD 分别为 0.59%、0.61%、1.92%、3.41%、0.73%、2.97%、4.35%、4.53%、0.35%、2.16%、0.51%、4.27%，表明该方法重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一份本品 (S1), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2”项条件下进样测定, 测得去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
去氢二异丁香酚	$Y=1.478\times 10^7 X+6.958\times 10^6$	0.999 2	0.414~4.410
丁香酚	$Y=1.324\times 10^5 X+2.050\times 10^6$	0.999 5	30.280 6~302.86
木香炔内酯	$Y=4.614\times 10^6 X+1.136\times 10^7$	0.999 0	2.180 88~21.808 8
去氢木香内酯	$Y=8.197\times 10^6 X+7.446\times 10^6$	0.999 2	1.094 45~10.944 5
槲皮素	$Y=630.206\times 10^3 X+5.024\times 10^4$	0.999 4	0.067 08~0.670 8
异鼠李素	$Y=4.776\times 10^4 X-5.927\times 10^2$	0.999 6	0.096 3~0.963
木犀草素	$Y=6.935\times 10^3 X+10.081\times 10^3$	0.999 4	0.027 96~0.279 6
咖啡酸	$Y=7.814\times 10^5 X+2.836\times 10^4$	0.999 0	0.046 4~0.464
没食子酸	$Y=1.339\times 10^5 X+1.110\times 10^5$	0.999 2	2.015 88~20.158 8
原儿茶酸	$Y=3.054\times 10^5 X+5.127\times 10^4$	0.999 0	0.414 8~4.148
鞣花酸	$Y=1.496\times 10^4 X+7.360\times 10^3$	0.999 0	2.187 86~21.878 6
山柰酚	$Y=1.085\times 10^5 X-6.574\times 10^3$	0.999 1	0.094 92~0.949 2

内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚峰面积 RSD 分别为 3.67%、1.47%、2.63%、3.67%、2.51%、4.09%、3.94%、2.77%、2.76%、1.45%、1.99%、

表 3 各成分含量测定结果 ($\mu\text{g/g}$, $n=3$)

Tab. 3 Results for content determination of various constituents ($\mu\text{g/g}$, $n=3$)

编号	去氢二异丁香酚	丁香酚	木香炔内酯	去氢木香内酯	槲皮素	异鼠李素	木犀草素	咖啡酸	没食子酸	原儿茶酸	鞣花酸	山柰酚
S1	250.997	16 107.078	1 298.555	1 011.679	32.328	47.830	5.017	21.018	1 050.625	93.442	514.718	13.433
S2	237.401	16 511.660	1 234.985	891.515	38.584	51.443	3.353	25.100	1 361.978	88.887	585.075	13.577
S3	235.176	19 569.154	1 388.048	958.119	26.970	53.893	3.242	18.623	1 020.837	105.695	546.366	12.097
S4	232.892	16 855.813	1 440.200	966.125	21.794	47.833	3.241	8.923	888.829	93.764	489.821	10.909
S5	263.029	19 436.673	1 459.404	981.112	21.560	56.220	3.443	20.205	704.860	89.879	461.975	11.526
S6	265.987	15 837.620	1 408.519	939.063	16.259	43.648	3.976	14.854	475.998	46.714	306.308	9.932
S7	272.504	19 261.671	1 668.458	1 078.073	20.432	52.452	4.913	17.811	570.765	45.519	433.180	10.791
S8	255.816	17 473.893	1 478.788	992.870	16.324	47.680	4.907	17.146	429.933	44.421	341.195	10.015
S9	262.238	15 961.615	1 550.249	1 014.256	16.033	41.551	3.725	16.195	501.382	61.247	349.420	9.724
S10	287.347	17 864.017	1 440.700	930.212	15.093	45.821	5.655	14.522	445.414	45.555	325.840	10.350
S11	198.608	15 178.087	1 289.611	823.608	14.478	40.348	4.347	27.718	442.479	51.752	352.817	11.138
S12	271.629	22 749.412	1 654.117	1 063.490	8.659	43.723	5.314	4.930	585.761	47.829	326.036	9.681
S13	317.987	21 168.826	1 587.798	1 053.402	7.511	39.439	4.669	4.772	610.433	48.093	328.014	9.724

2.9 化学模式识别研究

2.9.1 聚类分析 采用微生信平台，以各成分平均含量为指标，聚类选择 complete 法，距离度量选择 euclidean 法^[14]，结果见图 3。由此可知，13 批样品聚为 3 类，S1~S5 为第 1 类，S11 为第 2 类，S6~S10、S12~S13 为第 3 类，表明同一厂家样品中各成分含量具有一定差异。

2.9.2 主成分分析 (PCA) 以各成分含量为自变量，13 批样品为因变量，导入 SIMCA 14.1 软件进行分析，结果见图 4。由此可知，S1~S5、S11 与 S6~S10、S12~S13 分离明显，S11 与 S6~S10、S12~S13 也存在明显离散性，与聚类分析一致。

2.9.3 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA) 为 2838

4.13%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验 称取各成分含量已知的本品 (S6) 6 份，每份 0.500 0 g，按 100% 水平加入对照品溶液，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项条件下进样测定，计算回收率。结果，去氢二异丁香酚、丁香酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚平均加样回收率分别为 98.26%、101.22%、99.43%、99.34%、99.87%、105.00%、95.04%、97.07%、99.54%、95.38%、101.26%、104.87%，RSD 分别为 4.02%、1.91%、1.94%、3.78%、4.94%、4.18%、5.41%、2.75%、2.73%、3.11%、4.50%、3.72%。

2.8 样品含量测定 取 13 批样品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项条件下进样测定，计算含量，结果见表 3。

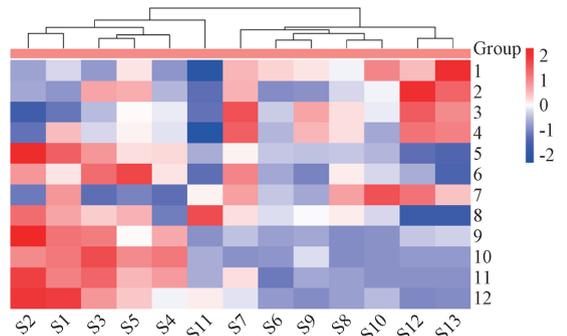


图 3 13 批安神补心六味丸聚类热图
Fig. 3 Cluster heatmap for 13 batches of Anshen Buxin Liuwei Pills

为了更好地获取组间差异信息，同时排除与组别无关

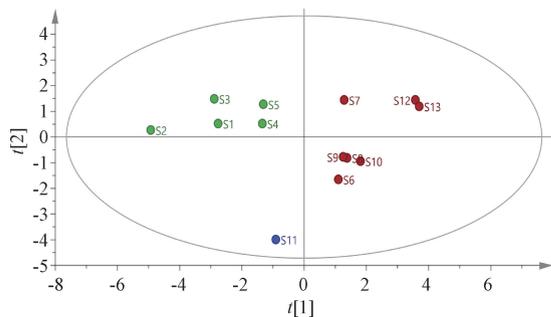


图4 13批安神补心六味丸 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot for 13 batches of Anshen Buxin Liuwei Pills

的变量影响,采用SIMCA 14.1软件进行分析,发现累积解释能力参数 R^2X 、 R^2Y 分别为 0.821、0.872,预测能力参数 Q^2 (cum) 为 0.511,即三者均大于 0.5,表明模型具有良好的解释能力和稳定性^[15-16]。由图 5 可知, S1~S5、S11、S6~S10、S12~S13 分别聚为一类,并且程度更明显,与聚类分析、主成分分析一致,进一步表明同一厂家样品存在质量差异。

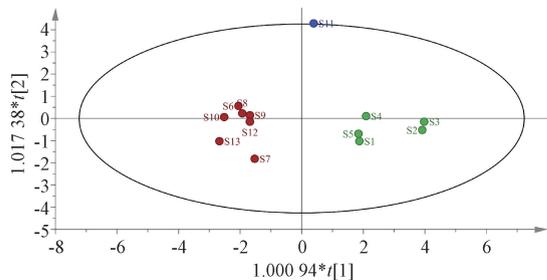


图5 13批安神补心六味丸 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA plot score for 13 batches of Anshen Buxin Liuwei Pills

为了探究批间质量差异的来源,以变量权重值 (VIP 值) >1 为标准,筛选潜在质量差异标志物^[17-18]。由图 6 可知, VIP 值 >1 的成分有 7 种,分别为鞣花酸 (1.116)、去氢木香内酯 (1.097)、去氢二异丁香酚 (1.097)、原儿茶酸 (1.068)、没食子酸 (1.059)、槲皮素 (1.048)、山柰酚 (1.009),可作为潜在质量差异物。

3 讨论

3.1 色谱条件优化及检测模式考察 为了提高各成分在仪器中的响应值,确保良好的分离效果,从而获得理想的色谱峰,课题组前期分别考察了不同流动相 (甲醇-0.1%甲酸、甲醇-0.2%甲酸、乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.2%甲酸),发现以甲醇-1%甲酸洗脱时响应值最佳,分离效果较优。在前体离子

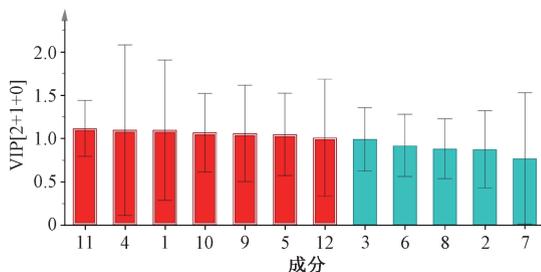


图6 安神补心六味丸 VIP 值

Fig. 6 VIP values for Anshen Buxin Liuwei Pills

扫描过程中发现,槲皮素在正负离子模式下均可出峰,并且在负离子模式下的色谱响应值更高,再对母离子、子离子质荷比进行比对,最终通过电压优化获得表 1 信息。

3.2 化学模式识别 13 批安神补心六味丸可分为 3 类,表明同一厂家不同批次样品之间存在质量差异,再以 VIP 值 >1 为标准,筛选出 7 个潜在质量差异标志物,分别为鞣花酸、去氢木香内酯、去氢二异丁香酚、原儿茶酸、没食子酸、槲皮素、山柰酚,由于该制剂现行质量标准中仅有性状、鉴别和用法用量项^[19],故它们可作为含量测定指标,为该复方制剂的质量控制和工艺优化提供科学依据,同时也对用药安全和药品推广具有重要意义。

4 结论

本实验建立 HPLC-MS/MS 法同时测定安神补心六味丸中去氢二异丁香酚、丁香酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、槲皮素、异鼠李素、木犀草素、咖啡酸、没食子酸、原儿茶酸、鞣花酸、山柰酚的含量,该方法专属性强,灵敏度高,简便快捷,结合化学模式识别可为该制剂质量控制提供依据。

参考文献:

[1] 王翼遥,黄鹤,高云航,等. LC-MS/MS 同时测定大鼠血浆中安神补心六味丸的 3 种有机酸类成分及药动学研究[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(17): 1620-1628.
[2] 王昆,武娜,康丽,等. 蒙药安神补心六味丸预防给药对心肌缺血大鼠的保护作用及氧化应激水平的影响[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2022, 24(8): 3174-3180.
[3] 乌珠木. HPLC 法测定蒙药安神补心六味丸中丁香酚的含量[J]. 中国民族医药杂志, 2013, 19(1): 49-51.
[4] 王焕芸. 安神补心六味丸中原儿茶酸的含量测定[J]. 中国药事, 2010, 24(1): 86-87.
[5] 胡小祥,何艳,孔庆丽,等. HPLC 法同时测定通舒口爽片中 9 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2024,

- 44(9): 1597-1603.
- [6] 申柯, 姚晓煜, 李建国, 等. 多组分定量结合 AHP-熵权法对不同产地梅花鹿茸饮片质量综合评价[J]. 中草药, 2024, 55(21): 7474-7482.
- [7] 李志娇, 郑振秋, 张晓博, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定月季花配方颗粒中 10 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(5): 1435-1440.
- [8] 郑振秋, 巩长芹, 张雪, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定荆防颗粒中 10 种成分[J]. 中成药, 2023, 45(12): 3901-3905.
- [9] 徐楠, 赵宇郁, 张伟, 等. 额日赫木-8 散 HPLC 指纹图谱建立及秦皮乙素测定[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2469-2475.
- [10] 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.
- [11] 肖娟兰, 赵鹿, 张东旭, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的蒙药安神补心六味丸化学成分辨识[J]. 中药材, 2021, 44(7): 1656-1667.
- [12] 向萍, 王晓琴, 马超美. RP-HPLC 法同时测定广枣中 5 种活性成分含量[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(2): 189-193.
- [13] 杨璐萌, 杨凌鉴, 贾璞, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 的广枣果肉化学成分分析[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(2): 159-166.
- [14] 惠玉晶, 于金高, 樊修和, 等. 基于小分子-蛋白质相互作用的甘草质量标志物筛选及活性验证[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(20): 5498-5508.
- [15] 杨小平. 藿香正气胶囊质量评价[J]. 中成药, 2024, 46(6): 1982-1984.
- [16] 丁曼, 毛艳, 赵学佳, 等. 基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学及熵权 TOPSIS 法对顶羽菊药材质量评价[J]. 中草药, 2024, 55(16): 5627-5638.
- [17] 郭威, 田雨晴, 唐云峰, 等. 金藤清痹颗粒多波长融合指纹图谱建立及质量评价[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3400-3405.
- [18] 杨帅, 郑林, 迟明艳, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定阿胶中 18 种核苷、游离氨基酸的含量[J]. 中成药, 2024, 46(7): 2140-2146.
- [19] 中华人民共和国卫生部药政局. 中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册)[S]. 1998: 94.

UPLC 法同时测定通宣理肺丸中 11 种成分的含量及其化学计量学考察

靳婉君¹, 浩文婷², 刘靖¹, 张明童^{1*}, 倪琳^{1*}

(1. 甘肃省药品检验研究院, 国家中药材及饮片质量控制重点实验室, 甘肃省中藏药检验检测技术工程实验室, 甘肃兰州 730030; 2. 甘肃省药物警戒中心, 甘肃兰州 730070)

摘要: **目的** 建立 UPLC 法同时测定通宣理肺丸中甘草苷、甘草酸铵、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白花前胡甲素的含量, 并进行化学计量学考察。**方法** 分析采用 SVEA C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×150 mm, 2.5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 250 nm。再进行聚类分析、主成分分析、偏最小二乘判别分析。**结果** 11 种成分在各自范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.990$), 平均加样回收率 90.00%~98.32%, RSD 0.35%~1.89%。40 批样品聚为 3 类, 黄芩苷、黄芩素、甘草苷、汉黄芩苷、汉黄芩素、新橙皮苷为质量差异标志物。**结论** 该方法简便, 重复性良好, 可为通宣理肺丸质量控制及评价提供依据。

关键词: 通宣理肺丸; 化学成分; 含量测定; 化学计量学; UPLC; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘判别分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2840-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.003

收稿日期: 2025-04-24

基金项目: 甘肃省科技计划项目 (24CXGA075); 甘肃省药品监管科学项目 (2023GSMPA065)

作者简介: 靳婉君 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药药效物质基础及其质量标准研究。E-mail: 18394660062@163.com

* 通信作者: 张明童 (1987—), 男, 硕士, 副主任中医师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 519815751@qq.com

倪琳 (1979—), 女, 主任中医师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 1724010367@qq.com