

高效液相色谱-串联质谱法同时测定心通口服液中 9种关键成分的含量

耿征, 胡丹东*

(北京市延庆区市场监管检验检测监控中心, 北京 102100)

摘要: **目的** 探讨高效液相色谱-串联质谱法同时测定心通口服液中9个成分的含量。**方法** 采用 Phenomenex Luna-C18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 0.9 mL/min。质谱条件: ESI 源, MRM 模式, 定量离子对峰面积进行定量。**结果** 阿魏酸、二苯乙烯苷、葛根素等9种成分的线性范围为 15.22~15220 ng/mL 至 25.36~25360 ng/mL。加样回收率分别为 98.15%、101.84%, RSD 为 0.67%~1.64%。9批样品中, 9种指标成分质量浓度范围为 0.180~4.699 mg/mL。**结论** 本研究创新运用高效液相色谱-串联质谱法技术, 高效精准地测定心通口服液九大核心成分, 简化了流程, 加速了质量控制, 助力标准化生产。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 心通口服液; 成分含量

High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of nine components in Xintong Oral Liquid

GENG Zheng, HU Dan-Dong*

(Market Supervision Inspection and Testing Monitoring Center of Yanqing District, Beijing, Beijing 102100, China)

ABSTRACT: Objective To explore the simultaneous determination of the contents of nine components in Xintong Oral Liquid using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** A Phenomenex Luna-C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-methanol-0.02mol/L ammonium acetate as the mobile phase for gradient elution at a flow rate of 0.9 mL/min. Mass spectrometry conditions: ESI source, MRM mode, quantification was performed using the peak area of the quantitative ion pairs. **Results** The linear ranges of the nine components, including ferulic acid, diphenylethylene glycoside, puerarin, etc., were from 15.22 to 15220 ng/mL to 25.36 to 25360 ng/mL. The recovery rates were from 98.15% to 101.84%, with RSDs ranging from 0.67% to 1.64%. In nine batches of samples, the mass concentration ranges of the nine index components were from 0.180 to 4.699 mg/mL. **Conclusion** This study innovatively applies the HPLC-MS/MS technique to efficiently and accurately determine the nine core components in Xintong Oral Liquid, simplifying the process, accelerating quality control, and aiding in standardized production.

KEY WORDS: high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Xintong Oral Liquid; component content

0 引言

本文旨在通过高效液相色谱-串联质谱法, 实现对心通口

服液中阿魏酸、二苯乙烯苷、葛根素、毛蕊异黄酮苷、柚皮苷、原儿茶醛、丹酚酸 B、淫羊藿苷及丹参酮 II A 共 9 个关键成分的同步测定, 从而提升该药品的质量控制水平, 为药品生产、

基金项目: 北京市延庆区金桥工程种子资金项目; 基于 UHPLC-MS 法快速检测调节三高类保健食品中非法添加药物方法的建立 (NO. 24005)

Fund: Seed Funding Project of Jinqiao Project, Yanqing District, Beijing: Establishment of a Method for Rapid Detection and Regulation of Illegal Drug Addition in Three High Class Health Food Based on UHPLC-MS Method (NO. 24005)

* 通信作者: 胡丹东, 博士, 副主任药师, 研究方向为药物分析与药物评价。E-mail: dongdanhu@163.com

* **Corresponding author:** HU Dan-Dong, Ph.D, Deputy Chief Pharmacist, Market Supervision Inspection and Testing Monitoring Center of Yanqing District, Beijing, Beijing 102100, China. E-mail: dongdanhu@163.com

监管及临床应用提供科学依据^[1], 对确保药品疗效和安全性具有重要意义。研究过程中, 采用 Phenomenex Luna-C18 色谱柱, 以乙腈-甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵溶液为流动相, 通过梯度洗脱技术, 结合 ESI 源和多反应监测模式 (MRM), 对心通口服液中的上述 9 种成分进行精确定量^[2]。该方法不仅分离度高, 而且检测速度快, 能够高效地从复杂基质中准确识别并测定目标成分的含量^[3]。通过本研究的实施, 可以全面了解心通口服液中各有效成分的实际含量, 进而评估其生产批次间的稳定性及一致性^[4]。这对于药品生产企业而言, 有助于优化生产工艺, 确保产品质量稳定可控; 对于药品监管机构, 则提供了更为准确、可靠的检测手段, 以加大药品市场的监管力度^[5]; 同时, 也为临床医生在用药选择上提供了更加科学的依据, 有助于实现个体化治疗, 提高治疗效果, 降低药物不良反应风险^[6]。综上所述, 本研究不仅具有重要的理论价值, 更在实际应用中展现出广阔的前景, 对于提升我国中药制剂的整体质量控制水平具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 仪器

安捷伦科技推出的 1290 系列液相色谱-质谱联用仪, 配备先进的 6460 型四级杆质谱检测器, 该系统集成有高效电喷雾离子化源 (ESI) 与升级的 Xcalibur 1.2 数据处理软件, 技术根源可追溯至美国 Finnigan 公司。BP-211D 型电子天平, 以其卓越的十万分之一称量精度著称, 由赛得利斯精心打造, 确保了测量的极致精准。Milli-Q 系列纯水系统, 作为默克密理博公司的杰出产品, 提供了高纯度水源以满足实验室的严格需求。而 KQ-1000 超声清洗器, 则源自昆山超声仪器公司的专业制造, 以其强大的清洗效能助力科研实验的顺利进行。

1.2 材料与试剂

(1) 心通口服液样品信息。心通口服液 (XOL): 9 批, 来源于鲁南厚普制药有限公司, 批号分别为 16040211、16052314、16062154、16062182、16062195、16080326、16080416、16080433、16091616、16091676。

(2) 试剂。①阿魏酸: 批号 110773-201313, 质量分数 99.6%, 购自中国食品药品检定研究院。②二苯乙烯苷: 批号 110844-200003, 质量分数 96.4%, 购自中国食品药品检定研究院。③葛根素: 批号 110752-201514, 质量分数 95.5%, 购自中国食品药品检定研究院。④毛蕊异黄酮苷: 批号 111920-201505, 质量分数 97.1%, 购自中国食品药品检定研究院。⑤柚皮苷: 批号 110722-201312, 质量分数 94.7%, 购自中国食品药品检定研究院。⑥原儿茶醛: 批号 110810-201608, 质量分数 99.3%, 购自中国食品药品检定研究院。⑦丹酚酸 B: 批号 111211-201601, 质量分数 99.5%, 购自中国食品药品检定研究院。⑧淫羊藿苷: 批号 111521-201603, 质量分数 99.6%, 购自中国食品药品检定研究院。⑨丹参酮 II A: 批号 110766-201520, 质量分数 98.9%, 购自中国食品药品检定研究院。⑩乙腈、甲醇: 色谱纯, 美国西格玛公司。⑪超纯水: 用于实验。⑫其余试剂: 均为分析纯。

(3) 中药材。①黄芪 (*Astragal Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为豆科黄芪属植物黄芪 [*Astragalus*

membranaceus (Fisch.) Bunge] 的干燥根茎。②党参 (*Codonopsis Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为桔梗科党参属植物党参 [*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.] 的干燥根。③麦冬 (*Ophiopogonis Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为百合科沿阶草属植物麦冬 [*Ophiopogon japonicus* (Linn.f.) Ker-Gawl.] 的干燥块根。④何首乌 (*Polygoni Multiflori Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为蓼科何首乌属植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。⑤淫羊藿 (*Epimedii Folium*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为小檗科淫羊藿属植物淫羊藿 (*Epimedium brevicornu* Maxim.) 的干燥叶。⑥葛根 (*Puerariae Lobatae Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为豆科葛属植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根。⑦当归 (*Angelicae Sinensis Radix*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。⑧丹参 (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为唇形科鼠尾草属植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 的干燥根和根茎。⑨皂角刺 (*Gleditsiae Spina*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为豆科皂荚属植物皂荚 (*Gleditsia sinensis* Lam.) 的干燥棘刺。⑩海藻 (*Sargassum*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为马尾藻科松藻属植物海蒿子 *Sargassum pallidum* (Turn.) C.Ag. 的干燥藻体。⑪昆布 (*Ecklonia Kurome*): 购自天津市环湖医院药剂科, 基原植物为海带科植物海带 (*Laminaria japonica* Aresch.) 的干燥叶状体。⑫牡蛎 (*Ostreae Concha*): 购自天津市环湖医院药剂科。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

在色谱分析过程中, 选用了 Phenomenex 品牌的 Luna-C18 型号色谱柱, 其设计尺寸为 250 mm 长度搭配 4.6 mm 内径, 并采用 5 μ m 粒径的填料以增强分离效果。流动相体系被创新性地构建为 A 相乙腈与甲醇的等体积混合液 (体积比 1:1), 而 B 相则采用乙酸铵水溶液^[7]。通过精细设计的梯度洗脱程序来控制组分分离: 起初 10 min 内 A 相比例保持在 10%, 在 10~45 min 区间内逐渐线性增加至 90%, 之后在 45~50 min 阶段内回落至 10% A 相浓度。整个分析过程中, 流动相的流速被恒定维持在 0.9 mL/min, 每次分析进样量为 10 μ L, 且色谱柱温度被精心控制在 35°C, 以确保实验的稳定性和准确性。

1.3.2 质谱条件

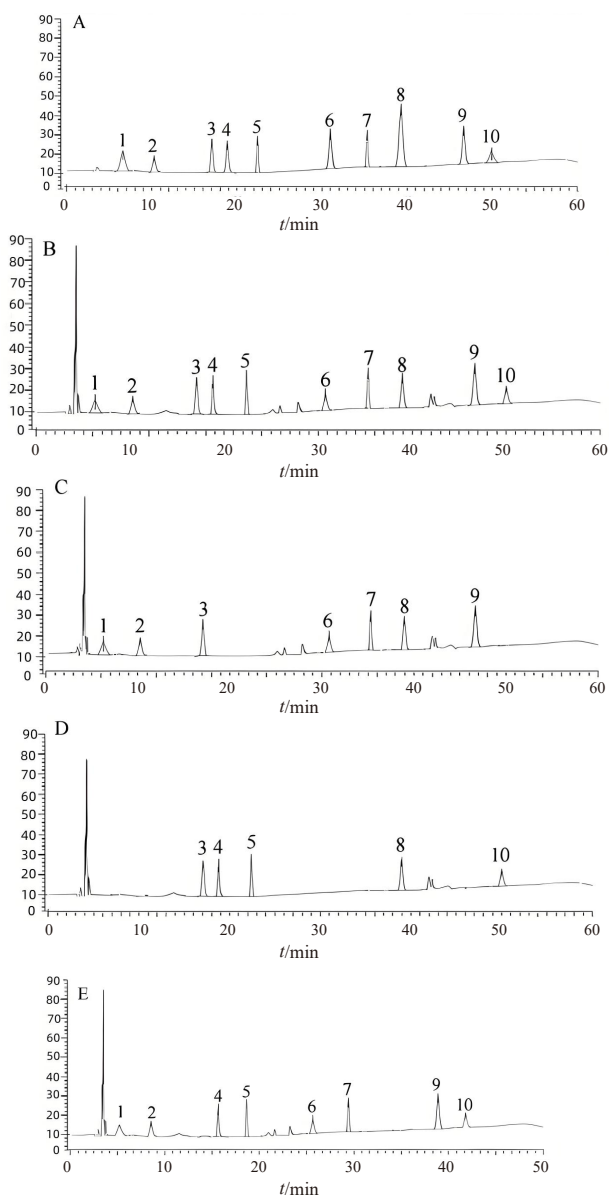
安捷伦公司推出的 6460 型质谱仪, 在采用电喷雾电离 (ESI) 作为离子源的基础上, 实现了质谱反应监测 (MRM) 模式下正负离子的灵活切换, 显著增强了分析灵活性。该仪器通过精细调整气流量参数, 结合优化的电压与温控设置, 确保了分析过程的精确性与稳定性^[8]。其总离子流色谱图 (TIC) 已展示于附图 1 中, 直观呈现了样品的全貌。在对照品分析中, TIC 图所显示的保留时间区域内, 未观测到任何阴性峰干扰, 这一结果验证了实验条件的纯净度与方法的可靠性。

1.3.3 溶液的制备

(1) 混合对照品溶液的制备精密称取阿魏酸

在确保二苯乙烯苷等九种对照品适量提取后, 采用了 50% 甲醇作为溶剂, 精心调整至总体积为 10 毫升的容量, 从而制备

出了一种多成分混合的对照品溶液。此溶液中,各成分的质量浓度范围被精准控制在 15.12 至 30.42 $\mu\text{g/mL}$ 之间,通过这一精细操作,不仅确保了溶液的浓度均匀性,还提升了实验的准确性与可重复性^[9]。



注: 1——阿魏酸、2——二苯乙烯苷、3——葛根素、4——毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5——柚皮苷、6——原儿茶醛、7——丹酚酸 B、8——淫羊藿苷、9——丹参酮 II A

图 1 AIGC 检测优化: A(混合对照品)、B(XOL 供试品)、C(无黄芪枳实对照)、D(缺当归首乌丹参对照)、E(去麦冬淫羊藿等多药材对照)的 TIC 图各异

Fig.1 AIGC detection optimization: The TIC chromatograms for A (mixed control), B (XOL test sample), C (control without Astragalus Radix and Citri Rind), D (control lacking Angelicae Sinensis Radix, Polygoni Multiflori Radix, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma), and E (control with the removal of Ophiopogonis Radix, and other herbs) all exhibit distinct characteristics

(2) 供试品溶液的制备

准确量取本品 1 毫升, 随后注入已标定的 25 毫升容量瓶

中, 紧接着, 向该容量瓶内添加至刻度线的 50% (V/V) 甲醇溶液, 确保完全混合均匀后, 执行过滤操作。滤除不溶物后, 所得澄清滤液即被选定为后续的待分析溶液, 以满足实验或检测的需求。

(3) 阴性对照溶液的制备

基于 XOL 配方的特定比例要求, 排除了黄芪、当归、何首乌、丹参、麦冬、淫羊藿及葛根等药材, 精心调配出阴性对照溶液。此溶液的制备严格遵循“1.3.3 (2)”标准化流程, 确保每一步骤的精准执行。利用 0.22 微米孔径的微孔滤膜对溶液进行精细过滤处理, 以去除任何潜在杂质。

2 结果与分析

2.1 精密度试验

在研究中, 采用了编号为 16040211 的 XOL 供试品溶液, 实施了六轮连续的注入检测流程, 同时细致地记录了每次的色谱图数据。经深入剖析, 该溶液被确认含有包括阿魏酸在内的九种关键成分, 其特征峰面积的相对标准偏差 (RSD) 维持在 0.99% 至 1.77% 的狭窄范围内。此结果强有力地印证了实验所采用的仪器设备展现出了卓越的精确性与稳定性。

2.2 稳定性试验

针对 XOL 批号 16040211 的样品, 进行了时长 0 至 24 小时的分批进样检测流程。通过色谱图分析, 明确记录到阿魏酸等九大关键成分的峰面积相对标准偏差 (RSD) 范围处于 1.05% 至 1.64% 之间。此数据有效证实了该样品溶液在长达 24 小时内的稳定性表现优异, 符合稳定性验证的标准要求^[10]。

2.3 重复性试验

为制备 XOL 样品(批号 16040211), 依照“1.3.3(2)”规定流程, 精心配制了六份溶液样本。利用“1.3.1”及“1.3.2”中指定的色谱条件进行详尽分析, 成功获取了对应的色谱图像资料。经深入解析, 确认样品中阿魏酸等关键九组分的浓度 RSD 值维持在 0.55% 至 1.67% 的狭窄区间内, 此结果强有力地证明了所采用分析方法的卓越重复性与可靠性。

2.4 加样回收率试验

XOL 测试样品(批号 16040211) 经精心配制后, 被均分为三独立批次处理, 每批均融入标准品, 依据特定“1.3.3 (2)”流程制备溶液, 并逐一进行成分回收效率评估。实验结果揭示, 包括阿魏酸在内的九种关键成分, 其回收率稳定维持在 98.15% 至 101.84% 的高水平区间内, 而相对标准偏差 (RSD) 则控制在 0.67% 至 1.64% 的狭窄范围内, 体现了良好的分析重现性与准确性。

2.5 成分定量测定结果

取 XOL 供试品, 按“1.3.3 (1)”方法制备, 用“1.3.1”和“1.3.2”项色谱条件分析, 记录图谱。通过对表 1 中 9 批 XOL 样品中 9 种成分的质量分数进行统计分析, 可以观察到各成分在不同批次样品中的含量相对稳定, 但存在一定的波动范围。具体而言, 阿魏酸、二苯乙烯苷、葛根素、柚皮苷、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、原儿茶醛、淫羊藿苷和丹参酮 II A 等成分的质量分数分别在 0.289~0.321 mg/mL、0.638~0.664 mg/mL、4.66~4.702 mg/mL、0.809~0.831 mg/mL、0.307~0.324 mg/mL、0.247~0.261 mg/mL、0.178~0.1999 mg/mL、1.537~1.572 mg/mL 以及 0.507~0.522 mg/mL 之间变动。这种波动可能是由于原料来源、生产工艺控制或储存条件等因素造成的。尽管如此, 各成分的含量均保持在一定范围内, 表明 XOL 产品的生产工艺具有一定的稳定性和一致性。可以考虑通过优化生产工艺、加强原料质量控制以及改善储存条件等措施来进一步减少成分含量的波动, 从而提高产品的整体质量稳定性。按外标法计算 XOL 中 9 成分的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 9 批 XOL 样品中 9 种成分定量测定结果
Table 1 Quantitative determination results of 9 components in 9 batches of XOL samples

批号	质量分数(mg/mL)								
	阿魏酸	二苯乙烯苷	葛根素	柚皮苷	丹酚酸 B	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	原儿茶醛	淫羊藿苷	丹参酮 II A
16040211	0.304	0.661	4.671	0.822	0.308	0.261	0.179	1.552	0.508
16052314	0.309	0.652	4.702	0.809	0.317	0.252	0.178	1.561	0.509
16062154	0.301	0.649	4.701	0.818	0.322	0.253	0.187	1.549	0.522
16062182	0.312	0.657	4.679	0.831	0.319	0.261	0.189	1.561	0.519
16080326	0.317	0.658	4.678	0.816	0.322	0.259	0.179	1.538	0.507
16080416	0.321	0.664	4.681	0.817	0.324	0.257	0.178	1.572	0.518
16080433	0.289	0.639	0.702	0.811	0.319	0.247	0.194	1.563	0.513
16091616	0.299	0.638	4.669	0.822	0.307	0.259	0.201	1.537	0.522
16091676	0.305	0.658	4.682	0.809	0.308	0.261	0.1999	1.552	0.508

3 讨论与结论

液质联用质谱技术,作为一种高效分析工具,在中药复杂体系的多组分定量分析中展现出广泛应用价值,特别在质量控制与药效评价领域尤为突出。针对心通口服液这类成分繁多却药效显著的中药制剂,快速且精确地测定其主要活性成分含量,成为保障其品质稳定与疗效确切的关键环节。通过优化检测技术,实现了对复杂中药体系的深度剖析与精准把控。在提升心通口服液分析精度的过程中,着重优化了色谱分离条件,包括精心挑选色谱柱、调整流动相配比及优化梯度洗脱程序,以达成九种成分的高效基线分离。样品预处理环节同样至关重要,通过细致的稀释与过滤步骤有效去除杂质,并引入内标法进行误差校正,这一系列改进措施显著增强了心通口服液成分测定的准确性与可靠性。

高效液相色谱法(HPLC)在药物分析中被广泛应用,包括心通口服液中多个成分的同时测定。HPLC具有高分离效率和灵敏度,能够在复杂的药物制剂中准确分离和定量多个成分。通过优化色谱条件,如选择适当的色谱柱和流动相,HPLC可以有效地分离心通口服液中的 9 个成分,即使这些成分的化学性质非常相似。这样可以提高分析结果的准确性和可靠性。HPLC法具有高度的重复性和稳定性。通过标准化的操作和方法,HPLC可以确保在不同批次和不同实验条件下得到一致的结果。这对于药品的质量控制至关重要,确保每一批心通口服液的成分含量在规定的范围内,从而保证其疗效和安全性。HPLC法通常具有较短的分析时间和较高的效率。现代 HPLC 设备配备了高效的检测器和自动化系统,能够在相对较短的时间内完成对多个成分的检测。这使得在大规模生产和质量监控过程中,HPLC法能够满足快速、高效的需求。尽管 HPLC 法有诸多优势,但也存在一些劣势。首先,HPLC 的设备和维护成本较高。高性能液相色谱仪、色谱柱及相关耗材的价格都不菲,而且设备需要定期维护和校准,这对实验室的预算和资源管理是一个挑战。其次,HPLC 方法开发需要时间和经验。为了能够同时测定心通口服液中的 9 个成分,通常需要对色谱条件进行多次优化,包括选择合适的流动相、检测波长、流速等。这一过程可能涉及复杂的实验设计和数据分析,需要研究人员具备较高的技术水平和丰富的经验。此外,HPLC 法可能对样品前处理要求较高。在实际应用中,样品中可能存在干扰物质,这需要在样品前处理阶段进行去除或分离,以确保分析结果的准确性。复杂的样品处理过程增加了实验的难度和时间。HPLC 法在心通口服液中同时测定多个成分时,展现了其高效分离、灵敏检测和高重复性的优势,但也面临着设备成本高、方法开

发复杂和样品前处理要求高等挑战。

HPLC-MS/MS 技术,凭借其卓越的高效性与精准度,在中药复杂体系分析中展现出非凡潜力,特别是在针对如心通口服液等多成分中药的含量测定上,开辟了广阔的应用前景。通过精细调控实验条件与创新方法策略,该技术不仅强化了中药产品质量的控制力度,还显著提升了药物疗效的评估准确性,为中药行业向现代化、国际化迈进提供了强有力的技术支持。此技术的应用,不仅打破了传统分析手段的局限性,实现了对中药活性成分及微量杂质的精准鉴别与定量,还促进了中药质量控制体系的升级换代。它如同一把精细的手术刀,精准剖析中药的内在品质,为中药配方的优化、药效机制的阐明以及新药研发奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] 于文萃.HPLC法同时测定保健食品中 9 种降糖药物的含量[J].安徽医学,2023,22(03):85-87.
- [2] 赵李妮,李慧慧,梁振纲,等.高效液相色谱法同时测定除湿止痒软膏中 9 种成分含量[J].中国药业,2023,32(08):77-81.
- [3] 毕秋左,安艳苏.HPLC法同时测定中消软膏中 4 种成分含量[J].中国民族民间医药,2023,32(16):48-51.
- [4] 刘英,林敏,戴思芮,等.HPLC-QAMS法同时测定何首乌防脱育发精华液中 9 种成分含量[J].日用化学工业(中英文),2023.
- [5] 李晓宁,林紫华.高效液相色谱法同时测定茯苓泽泻颗粒中的两种成分含量[J].按摩与康复医学,2021,12(18):92-94.
- [6] 吴津丽,高晗,曾永祯,等.HPLC法同时测定美洲大蠊标准汤剂中 6 种成分含量[J].中国民族民间医药,2023,32(01):32-36.
- [7] 刘宗新,郑雪媚,黄钦耿,等.HPLC法测定银黄甘颗粒中甘草有效成分甘草酸的含量[J].广州化工,2023,(13):051.
- [8] 陈霞飞,简淑娟,林凤屏,等.HPLC法同时测定曲安奈德苯海拉明水杨酸酐中三种有效成分的含量[J].药品评价,2023,20(06):697-700.
- [9] 王力弘,钱怡云,韦敏,等.基于多波长切换HPLC同时测定五加皮中 10 个成分研究[J].药物分析杂志,2023,43(04):558-563.
- [10] 杨增亮,刘学良,苏媛,等.高效液相色谱法同时测定川西獐牙菜中 9 种成分的含量[J].西北药学杂志,2023,38(02):15-19.

作者简介

耿征,药师,研究方向为药物分析、药物评价。
胡丹东,博士,副主任药师,研究方向为药物分析与药物评价。