

## HPLC – MS/MS 法同时测定更年宁中 11 个成分\*

蒋芦荻, 王晓燕, 刘亚楠, 王海波\*\*, 杨琰, 李海燕

(河南省药品医疗器械检验院 国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室, 郑州 450018)

**摘要 目的:** 建立 HPLC – MS/MS 法同时测定更年宁中哈巴萆、红景天萆、特女贞萆、党参炆萆、蟛蛄菊内酯、哈巴俄萆、王不留行黄酮萆、6 – 姜辣素、白术内酯 III、白术内酯 II、白术内酯 I 共 11 个成分的含量。**方法:** 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), 以甲醇 – 0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.3 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温为 25 °C, 进样量为 1 μL; 质谱采用电喷雾离子源(ESI), 电离模式为 ESI<sup>-</sup>(哈巴萆、红景天萆、特女贞萆、党参炆萆、蟛蛄菊内酯、哈巴俄萆)和 ESI<sup>+</sup>(王不留行黄酮萆、6 – 姜辣素、白术内酯 III、白术内酯 II、白术内酯 I), 多反应监测(MRM)模式进行定量分析。**结果:** 11 个成分的线性范围分别为 1.485 ~ 29.71、1.620 ~ 32.40、7.801 ~ 156.0、0.518 ~ 10.35、0.167 ~ 3.333、0.359 ~ 7.179、1.455 ~ 29.10、1.520 ~ 30.40、0.160 ~ 3.205、0.143 ~ 2.864、0.157 ~ 3.136 μg · mL<sup>-1</sup>, *r* 均 ≥ 0.998 0; 平均回收率(*n* = 6) 在 95.9% ~ 102.6%, RSD 在 0.90% ~ 3.0%。5 个企业生产的 10 批更年宁样品中上述 11 个成分的含量分别为 14.8 ~ 104.5、37.6 ~ 288.5、335.8 ~ 1332.8、6.2 ~ 10.1、6.6 ~ 61.8、13.7 ~ 75.1、57.4 ~ 132.8、16.9 ~ 70.6、11.8 ~ 33.9、3.4 ~ 15.4、6.5 ~ 12.9 μg · g<sup>-1</sup>。**结论:** 本方法灵敏、准确, 可用于更年宁的质量控制。

**关键词:** 更年宁; 玄参; 酒女贞子; 党参; 墨旱莲; 炒王不留行; 干姜; 麸炒白术; 哈巴萆; 红景天萆; 特女贞萆; 党参炆萆; 蟛蛄菊内酯; 哈巴俄萆; 王不留行黄酮萆; 6 – 姜辣素; 白术内酯; 中成药质量控制; 高效液相色谱 – 串联质谱法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254 – 1793(2024)05 – 0827 – 08

doi: 10.16155/j.0254 – 1793.2024.05.10

Simultaneous determination of 11 components in  
Gengnianning by HPLC – MS/MS\*JIANG Lu – di, WANG Xiao – yan, LIU Ya – nan,  
WANG Hai – bo\*\*, YANG Yan, LI Hai – yan

(Henan Institute for Drug and Medical Device Inspection, State Drug Administration Key Laboratory of Quality Control of Chinese Herbal Medicines and Decoction Pieces, Zhengzhou 450018, China)

**Abstract Objective:** To establish an HPLC – MS/MS method for simultaneous determination of 11 components (harpagide, salidroside, nuezhenide, lobetyolin, wedelolactone, harpagoside, vaccarin, 6 – gingerol,

\* 2022 年国家药品抽检(中央补助地方经费项目)(No. 41); 河南省市场监督管理局科技计划项目(2023sj61); 中国药品监管科学行动计划第二批重点项目[NMPAJKXX – 2023 – 028]

\*\* 通信作者 Tel: (0371)65566577; E – mail: gmn2022gc@163.com

第一作者 Tel: (0371)65566040; E – mail: jiangludi\_52@163.com

atractylenolide III, atractylenolide II, and atractylenolide I) in Gengnianning. **Methods:** HPLC assay was performed on C<sub>18</sub> column (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) with a mixture of methanol and 0.1% formic acid as the mobile phase in gradient elution at a flow rate of 0.3 mL · min<sup>-1</sup>. The column temperature was 25 °C and the injection volume was 1 μL. Detection was carried out on a triple quadrupole mass spectrometer in positive ion mode (harpagide, salidroside, nuezhenide, lobetyolin, wedelolactone and harpagoside) and negative ion mode (vaccarin, 6-gingerol, atractylenolide III, atractylenolide II, and atractylenolide I) using an electrospray ion source (ESI). Multiple reaction monitoring (MRM) mode was employed. **Results:** The calibration curves were linear within the ranges of 1.485 – 29.71 μg · mL<sup>-1</sup>, 1.620 – 32.40 μg · mL<sup>-1</sup>, 7.801 – 156.0 μg · mL<sup>-1</sup>, 0.518 – 10.35 μg · mL<sup>-1</sup>, 0.167 – 3.333 μg · mL<sup>-1</sup>, 0.359 – 7.179 μg · mL<sup>-1</sup>, 1.455 – 29.10 μg · mL<sup>-1</sup>, 1.520 – 30.40 μg · mL<sup>-1</sup>, 0.160 – 3.205 μg · mL<sup>-1</sup>, 0.143 – 2.864 μg · mL<sup>-1</sup> and 0.157 – 3.136 μg · mL<sup>-1</sup> for harpagide, salidroside, nuezhenide, lobetyolin, wedelolactone, harpagoside, vaccarin, 6-gingerol, atractylenolide III, atractylenolide II, and atractylenolide I, respectively. All 11 components showed good linearity ( $r \geq 0.9980$ ). The average recoveries ( $n = 6$ ) were in the range of 95.9% – 102.6% with RSDs within 0.90% – 3.0%. The contents of harpagide, salidroside, nuezhenide, lobetyolin, wedelolactone, harpagoside, vaccarin, 6-gingerol, atractylenolide III, atractylenolide II and atractylenolide I in 10 tested samples from 5 manufactures were 14.8 – 104.5, 37.6 – 288.5, 335.8 – 1332.8, 6.2 – 10.1, 6.6 – 61.8, 13.7 – 75.1, 57.4 – 132.8, 16.9 – 70.6, 11.8 – 33.9, 3.4 – 15.4 and 6.5 – 12.9 μg · g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The developed method is accurate and sensitive. It can be used in quality control of Gengnianning.

**Keywords:** Gengnianning; Scrophulariae Radix; wine-steamed Ligustri Lucidi Fructus; Codonopsis Radix; Ecliptae Herba; fried Vaccariae Semen; Zingiberis Rhizoma; Atractylodis Macrocephalae Rhizoma stir-fried with wheat bran; harpagide; salidroside; nuezhenide; lobetyolin; wedelolactone; harpagoside; vaccarin; 6-gingerol; atractylenolide quality control of Chinese patent medicine; HPLC-MS/MS

更年宁是由柴胡、黄芩、白芍、墨旱莲、人参、党参、郁金、醋香附、当归、薄荷、川芎、玄参、茯苓、法半夏、石菖蒲、牡丹皮、陈皮、干姜、麸炒白术、丹参、炒王不留行、酒女贞子 22 味药材制成的中药制剂,具有疏肝解郁、益气养血、健脾安神的功效,用于更年期引起的心悸气短、烦躁易怒、眩晕失眠、阵热汗出、胸乳胀痛、月经紊乱等症<sup>[1]</sup>。更年宁现行质量标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第六册,仅有显微鉴别项和薄层鉴别项,未对药味进行含量测定控制。目前,更年宁的含量测定相关研究较少,仅见芍药苷、阿魏酸、黄芩苷和丹皮酚的含量测定报道<sup>[2-4]</sup>。

本实验在前期指纹图谱研究、HPLC 法含量测定和 GC-MS 法含量测定的基础上,选择更年宁中玄参、酒女贞子、党参、墨旱莲、炒王不留行、干姜、麸炒白术中的指标成分哈巴苷、哈巴俄苷<sup>[5-6]</sup>、红景天苷、特女贞苷<sup>[7-8]</sup>、党参炔苷<sup>[9]</sup>、蟛蜞菊内酯<sup>[10]</sup>、王不留行黄酮苷<sup>[11]</sup>、6-姜辣素<sup>[12]</sup>、白术内酯 III、白术内酯

II、白术内酯 I<sup>[13-14]</sup>,采用 HPLC-MS/MS 技术建立含量测定方法,以期全面、客观评价更年宁质量提供数据支持。

### 1 仪器与试剂

TSQ Altis 三重四极杆液相色谱-质谱联用仪, Thermo Fisher 公司; Mettler XPE205 十万分之一电子天平, Mettler Toledo 公司; KQ-300DA 型数控超声清洗仪(超声功率:300 W;频率:40 kHz), 昆山市超声仪器有限公司。

分析纯甲醇(国药集团化学试剂有限公司);质谱纯甲醇(Merck 公司);质谱纯甲酸(Fisher 公司);实验用水为 Milli-Q 系统制备。

对照品哈巴苷(批号 111729-201707,含量以 96.8% 计)、红景天苷(批号 110818-202009,含量以 98.6% 计)、特女贞苷(批号 111926-201906,含量以 95.0% 计)、党参炔苷(批号 111732-201908)、蟛蜞菊内酯(批号 111885-202105,含量以 97.2% 计)、哈巴俄苷(批号 111730-202110,含

量以 96.8% 计)、王不留行黄酮苷(批号 111853 - 201303, 含量以 92.6% 计)、6 - 姜辣素(批号 111833 - 202007, 含量以 99.3% 计)、白术内酯Ⅲ(批号 111978 - 201501, 含量以 99.9% 计)、白术内酯Ⅱ(批号 111976 - 201501, 含量以 99.9% 计)、白术内酯Ⅰ(批号 111975 - 201501, 含量以 99.9% 计)均来自中国食品药品检定研究院。10 批更年宁样品均为 2022 年国家药品抽检样品, 来自 5 个企业(相关信息: A 企业, 批号 21030536、21033791; B 企业, 批号 210602、210201; C 企业, 批号 200610、210802; D 企业, 批号 200703、201202; E 企业, 批号 191001、191002)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱-质谱条件

**2.1.1 色谱条件** 采用 Thermo Fisher Hypersil GOLD VANQUISH C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), 以甲醇(A) - 0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 5 min, 20% A; 5 ~ 25 min, 20% A → 60% A), 流速 0.3 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 进样量 1 μL。

**2.1.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI), 分段正负离子化, 多反应监测(MRM)模式, 离子喷雾电压 4 kV(正离子)、2.5 kV(负离子), 鞘气 50 Arb, 辅助气 10 Arb, 蒸发温度 350 °C, 离子传输管温度 325 °C。各成分质谱参数见表 1, 各成分总离子流图见图 1。

表 1 各成分色谱及质谱测定参数

Tab. 1 The chromatographic and mass spectral parameters of components

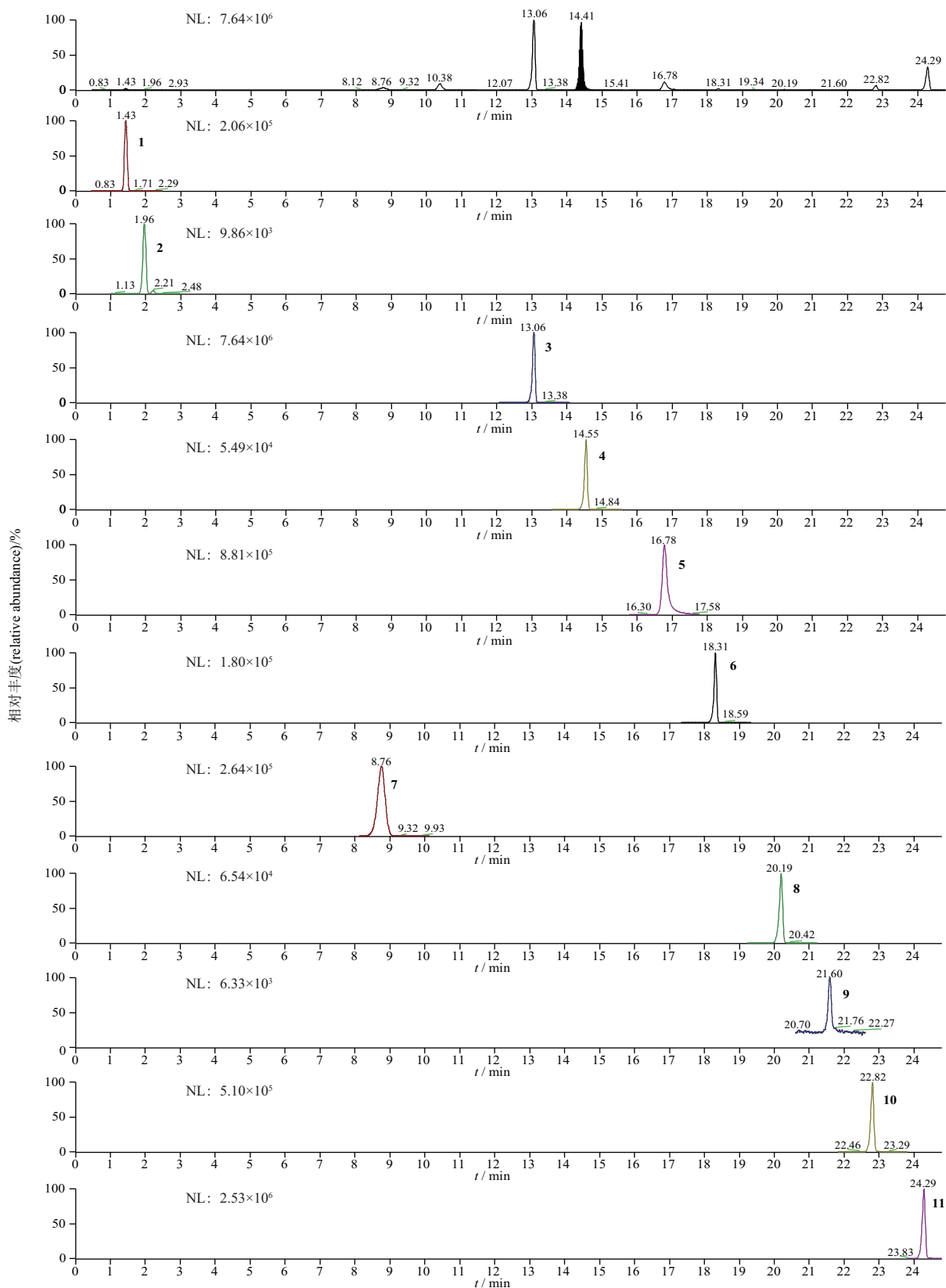
峰号 (peak No.)	成分 (component)	保留时间 (retention time)/min	电离模式 (ionization mode)	母离子 (precursor ion) <i>m/z</i>	子离子 (product ion) <i>m/z</i>	碰撞能量 (collision energy)/eV
1	哈巴昔(harpagide)	1.45	负离子(negative ion)	409	363.4*	10
				409	201	18
2	红景天苷(salidroside)	1.98	负离子(negative ion)	299.1	118.8*	20
				299.1	179	20
3	特女贞苷(nuezhenide)	13.07	负离子(negative ion)	685.3	523.3*	20
				685.3	299	22
4	党参炔苷(lobetyolin)	14.56	负离子(negative ion)	441.2	179.1*	10
				441.2	185.2	15
5	蟛蜞菊内酯(wedelolactone)	16.78	负离子(negative ion)	313	298*	24
				313	270	28
6	哈巴俄苷(harpagoside)	18.33	负离子(negative ion)	493.1	345*	10
				493.1	147	19
7	王不留行黄酮苷(vaccarin)	8.78	正离子(positive ion)	749.1	587*	34
				749.1	437	40
8	6 - 姜辣素(6 - gingerol)	20.22	正离子(positive ion)	317.9	218*	15
				317.9	217.1	14
9	白术内酯Ⅲ(atractylenolide Ⅲ)	21.6	正离子(positive ion)	249.1	231.1*	10
				249.1	163	18
10	白术内酯Ⅱ(atractylenolide Ⅱ)	22.81	正离子(positive ion)	233.1	187.1*	16
				233.1	213.1	23
11	白术内酯Ⅰ(atractylenolide Ⅰ)	24.29	正离子(positive ion)	231.1	185.1*	23
				231.1	213.1	18

注(note): \*. 定量离子对(quantitative ion pairs)

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品储备液** 分别取哈巴昔、红景天苷、特女贞苷、党参炔苷、蟛蜞菊内酯、哈巴俄苷、王不留

行黄酮苷、6 - 姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 各含 400 μg 的对照品储备液。



1~11. 同表1 (same as Tab. 1) NL, 离子强度 (normalized level)

图 1 11 个待测成分的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of 11 investigated components

**2.2.2 供试品溶液** 取本品水蜜丸适量,研碎,取约 2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 25 mL,密塞,称量,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称量,用 80% 甲醇补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 方法学研究

**2.3.1 线性关系考察、检测限及定量限测定** 分别精密量取哈巴昔、红景天昔、特女贞昔、党参炔昔、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行黄酮昔、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的对照品储备液 2、2、10、1、0.2、0.5、2、2、0.2、

0.2、0.2 mL,置于同一 25 mL 量瓶中,加甲醇定容,即得混合对照品储备液。继续逐级稀释 2、4、10、20 倍,即得上述 5 个浓度的系列混合对照品溶液,按“2.1”项下条件进样测定,以进样浓度( $X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )为横坐标,峰面积积分值( $Y$ )为纵坐标对各成分进行线性回归,11 个成分的线性范围、回归方程、相关系数见表 2,各成分在各自浓度范围内线性关系良好。基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法计算各成分的检测限和定量限(以截距的标准偏差作为响应值标准偏差),结果见表 2。

表 2 11 个成分的回归方程及线性范围

Tab. 2 Regression equation and linear ranges of 11 components

成分 (component)	线性方程 (linear equation)	$r$	线性范围 (linear range)/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	检测限 (LOD)/ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	定量限 (LOQ)/ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
哈巴昔(harpagide)	$Y = 6.873 \times 10^4 X - 7.199 \times 10^4$	1.000	1.485 ~ 29.71	0.15	0.46
红景天昔(salidroside)	$Y = 3.926 \times 10^3 X - 2.548 \times 10^3$	0.999 1	1.620 ~ 32.40	0.97	2.93
特女贞昔(nuezhenide)	$Y = 4.101 \times 10^5 X + 1.620 \times 10^5$	0.999 7	7.801 ~ 156.0	1.31	3.97
党参炔昔(lobetyolin)	$Y = 4.692 \times 10^4 X - 1.659 \times 10^4$	1.000	0.518 ~ 10.35	0.13	0.39
虻蜚菊内(wedelolactone)	$Y = 5.838 \times 10^6 X - 6.032 \times 10^5$	0.999 1	0.167 ~ 3.333	0.10	0.29
哈巴俄昔(harpagoside)	$Y = 1.964 \times 10^5 X - 5.074 \times 10^4$	1.000	0.359 ~ 7.179	0.15	0.45
王不留行黄酮昔(vaccarin)	$Y = 1.625 \times 10^5 X - 2.147 \times 10^5$	0.999 6	1.455 ~ 29.10	0.59	1.79
6-姜辣素(6-gingerol)	$Y = 1.934 \times 10^4 X + 3.488 \times 10^3$	0.998 0	1.520 ~ 30.40	1.34	4.07
白术内酯Ⅲ(atractylenolide Ⅲ)	$Y = 1.293 \times 10^4 X + 1.250 \times 10^4$	0.999 1	0.160 ~ 3.205	0.09	0.28
白术内酯Ⅱ(atractylenolide Ⅱ)	$Y = 2.350 \times 10^6 X - 1.451 \times 10^5$	0.998 5	0.143 ~ 2.864	0.11	0.33
白术内酯Ⅰ(atractylenolide Ⅰ)	$Y = 8.623 \times 10^6 X - 7.063 \times 10^5$	0.999 3	0.157 ~ 3.136	0.08	0.26

**2.3.2 精密度试验** 取哈巴昔、红景天昔、特女贞昔、党参炔昔、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行黄酮昔、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ质量浓度为 7.43、8.10、39.01、2.59、0.83、1.80、7.28、7.60、0.80、0.72、0.78  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液,按“2.1”项下条件连续进样 6 次,测得上述 11 个成分峰面积的 RSD 分别为 2.0%、1.2%、1.7%、1.8%、0.89%、1.5%、2.4%、1.7%、1.6%、0.98%、0.77%,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 重复性试验** 分别精密称取同一更年宁样品(批号 21033791)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件进样测定,测得哈巴昔、红景天昔、特女贞昔、党参炔昔、虻蜚菊内酯、哈巴俄

昔、王不留行黄酮昔、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的平均含量分别为 99.9、111.5、374.1、8.8、50.6、62.9、67.0、60.2、21.0、5.0、9.3  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 2.4%、2.8%、1.8%、2.4%、0.89%、1.2%、1.1%、1.6%、1.8%、1.3%、0.95%,表明方法重复性良好。

**2.3.4 稳定性试验** 取“2.3.3”项下同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1”项下条件进样,测定峰面积,结果哈巴昔、红景天昔、特女贞昔、党参炔昔、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行黄酮昔、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ峰面积的 RSD 分别为 2.9%、2.6%、1.6%、2.2%、0.88%、1.4%、2.0%、1.4%、1.9%、1.9%、0.65%,

表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.5 回收率试验** 依次精密量取哈巴昔、红景天苷、特女贞苷、党参炔苷、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行黄酮苷、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的对照品储备液 5、5、20、0.75、2.5、2.5、4、3、1、0.25、0.5 mL, 置于同一 250 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 得到回收率混合对照品溶液(上述 11 个成分的质量浓度依次为 3.71、4.05、15.60、0.39、2.08、1.79、2.91、2.28、0.80、0.18、0.39  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。精密称取已测得 11 个成分含量的更年宁样品(批号 21033791)粉末 1.0 g 共 6 份, 分别精密加入上述回收率混合对照品溶液各 25 mL, 按“2.2.2”项下方法

平行制备 6 份供试溶液, 按“2.1”项下条件进样测定, 结果哈巴昔、红景天苷、特女贞苷、党参炔苷、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行黄酮苷、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的平均回收率分别为 95.9%、97.7%、98.3%、102.6%、96.7%、97.9%、97.1%、98.2%、96.5%、100.9%、96.4%, RSD 分别为 1.2%、1.3%、1.2%、2.8%、1.8%、0.80%、2.1%、1.1%、2.0%、2.2%、3.0%。

#### 2.4 样品测定

取 10 批更年宁样品各 2 份, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件进样测定, 以随行标准曲线计算含量, 结果见表 3。

表 3 更年宁中 11 个成分的含量测定结果( $n=2$ )

Tab. 3 Contents of 11 components in Gengnianning

批号 (lot No.)	含量(contents)/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
21030536	104.5	119.2	335.8	7.8	61.8	75.1	57.4	66.5	24.0	7.9	9.1	179.6	40.9
21033791	99.9	111.5	374.1	8.8	50.6	62.9	67.0	60.2	21.0	5.0	9.3	162.8	35.4
210602	48.3	71.4	1089.6	9.6	44.5	43.7	66.6	57.0	31.3	9.4	7.9	91.9	48.7
210201	25.8	288.5	341.8	7.2	37.2	24.7	73.5	54.8	33.9	12.1	8.5	50.5	54.5
200610	15.4	60.0	583.3	6.4	6.6	14.6	64.0	16.9	23.6	15.4	10.6	30.0	49.5
210802	14.8	58.9	559.3	6.2	6.6	13.7	72.4	18.1	11.8	14.6	10.0	28.5	36.3
200703	31.0	46.8	1332.8	9.1	30.7	29.4	117.3	53.0	20.5	11.2	12.9	60.4	44.6
201202	32.5	37.6	1294.5	9.2	21.9	28.4	101.9	54.6	23.3	11.4	11.2	61.0	46.0
191001	56.3	44.6	430.6	10.1	45.9	29.5	131.4	70.6	29.3	3.4	6.5	85.8	39.2
191002	53.7	45.2	443.5	10.0	40.6	30.1	132.8	62.4	32.8	3.4	6.6	83.8	42.8

注(note): A. 哈巴昔(harpagide); B. 红景天苷(salidroside); C. 特女贞苷(nuezhenide); D. 党参炔苷(lobetyolin); E. 虻蜚菊内酯(wedelolactone); F. 哈巴俄昔(harpagoside); G. 王不留行黄酮苷(vaccarin); H. 6-姜辣素(6-gingerol); I. 白术内酯Ⅲ(atractylenolide Ⅲ); J. 白术内酯Ⅱ(atractylenolide Ⅱ); K. 白术内酯Ⅰ(atractylenolide Ⅰ); L. 哈巴昔与哈巴俄昔总量(total content of harpagide and harpagoside); M. 白术内酯总量(total content of atractylenolide)

### 3 讨论

#### 3.1 检测方法的选择及指标成分确定

更年宁处方中含 22 味药, 成分复杂, 各药味占比小, 采用 HPLC 法进行检测时方法灵敏度低, 不能满足低含量成分定量分析的需求。前期, 本研究已采用 HPLC-PDA 建立了更年宁中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、芍药苷、橙皮苷、丹酚酸 B 的含量测定方法, 对方中黄芩、白芍、牡丹皮、陈皮、丹参的投料情况进行评价。本实验选择采用 HPLC-PDA 法难以检测的成分哈巴昔、红景天苷、特女贞苷、党参炔苷、虻蜚菊内酯、哈巴俄昔、王不留行

黄酮苷、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ为研究对象, 采用专属性强、灵敏度高的 HPLC-MS/MS 法对其进行含量测定, 评价处方中玄参、酒女贞子、党参、墨旱莲、炒王不留行、干姜、麸炒白术的投料质量。

#### 3.2 供试品溶液制备方法的优化

实验中曾考察了不同提取溶剂(甲醇、80% 甲醇水溶液、50% 甲醇水溶液)、提取方式(回流、超声)、提取时间(回流 30、60 min, 超声 15、30、45 min)的效果。结果表明, 80% 甲醇水溶液提取效果优于甲醇或 50% 甲醇水溶液, 超声提取 30 min 结果最优。故

供试品溶液制备采用 80% 甲醇水溶液, 超声处理 30 min。

### 3.3 测定结果分析

文献研究表明, 女贞子酒炙过程中, 随着炮制时间的延长, 红景天苷含量显著增加, 特女贞苷含量稍有下降, 但整体趋于稳定; 红景天苷含量与炮制时间显著相关, 炮制不足者, 红景天苷含量较低<sup>[15-17]</sup>。2015 年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 规定酒女贞子“含特女贞苷( $C_{31}H_{42}O_{17}$ ) 不得少于 0.70%”, 2020 年版《中国药典》规定酒女贞子“含红景天苷( $C_{14}H_{20}O_7$ ) 不得少于 0.20%”。按处方量折算, 更年宁中特女贞苷的理论值为  $238 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 10 批样品特女贞苷含量为理论值的 140.6%~558.1%, 均符合拟定限度; 红景天苷的理论值为  $68 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 10 批样品红景天苷含量为理论值的 55.1%~423.1%, C、D 和 E 企业样品不符合拟定限度。提示各企业所用酒女贞子原料质量存在一定差异, 部分企业应关注 2020 年版《中国药典》酒女贞子质量控制指标的变化。

2020 年版《中国药典》规定玄参“含哈巴苷和哈巴俄苷的总量不得少于 0.45%”、墨旱莲“含蟛蜞菊内酯不得少于 0.04%”、炒王不留行“含王不留行黄酮苷不得少于 0.15%”、干姜“含 6-姜辣素不得少于 0.60%”。按处方量折算, 更年宁中哈巴苷与哈巴俄苷的总量、蟛蜞菊内酯、王不留行黄酮苷、6-姜辣素的理论值分别为 153、13、38、51  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。除 A 企业 2 批样品外, 其他 4 个企业 8 批更年宁样品哈巴苷与哈巴俄苷总量均未达到拟定限度, 提示生产企业应重点关注玄参质量。C 企业样品蟛蜞菊内酯、6-姜辣素含量均未达到拟定限度, 提示该企业应关注墨旱莲、干姜投料质量。各批样品王不留行黄酮苷均符合拟定限度, 认为炒王不留行投料情况较好。

2020 年版《中国药典》暂未收载党参、麸炒白术含量测定项。对比 5 个企业 10 批样品党参炔苷及白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ和白术内酯Ⅰ总量的测定结果, 各批次间党参炔苷含量及白术内酯总量差异较小。

## 4 结论

本文建立了同时测定更年宁中哈巴苷、红景天苷、特女贞苷、党参炔苷、蟛蜞菊内酯、哈巴俄苷、王不留行黄酮苷、6-姜辣素、白术内酯Ⅲ、白

术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ共 11 个成分的 HPLC-MS/MS 方法, 该方法简便快速, 稳定可靠, 灵敏度高, 专属性强, 可为更年宁的质量评价及控制提供科学依据。

## 参考文献

- [1] 卫生部药品标准中药成方制剂第 6 册[S]. 1993:70  
Drug Specifications Promulgated by Ministry of Public Health. Prescription of Chinese Patent Medicine Vol 6[S]. 1993:70
- [2] 郑阿旭, 鲁晓光. HPLC-PDA 法同时测定更年宁中芍药苷、阿魏酸、黄芩苷和丹皮酚的含量[J]. 中南药学, 2020, 18(2): 258  
ZHENG AX, LU XG. Simultaneous determination of paeoniflorin, ferulic acid, baicalin and paeonol in Gengnianing pills by HPLC-PDA[J]. Cent South Pharm, 2020, 18(2): 258
- [3] 石洪超, 杨能英, 何风雷, 等. 更年宁质量控制方法的建立研究[J]. 中国当代医药, 2017, 24(20): 141  
SHI HC, YANG NY, HE FL, et al. Study on establishment of quality control method for Gengnianing [J]. China Mod Med, 2017, 24(20): 141
- [4] 潘炎铃. RP-HPLC 测定更年宁中黄芩苷的含量[J]. 人参研究, 2011, 23(3): 24  
PAN YL. Determination of baicalin in Genanning by RP-HPLC [J]. Ginseng Res, 2011, 23(3): 24
- [5] 张勇纯, 刘彦玲, 王铭爽, 等. 基于内在成分含量差异辨别玄参药材品质优劣可行性研究[J]. 中草药, 2022, 53(2): 544  
ZHANG YC, LIU YL, WANG MS, et al. Feasibility study on quality of Scrophulariae Radix based on chemical component quantitative difference analysis[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(2): 544
- [6] 任丹, 齐方圆, 黄紫妍, 等. 15 个产地玄参中哈巴苷与哈巴俄苷含量测定[J]. 药学实践杂志, 2021, 39(4): 313  
REN D, QI FY, HUANG ZY, et al. Determination of harpagide and harpagoside contents in Scrophulariae Radix from 15 origins [J]. J Pharm Pract, 2021, 39(4): 313
- [7] 张柏生, 李斌, 李茜, 等. 不同产地酒女贞子红景天苷、特女贞苷含量测定及聚类分析[J]. 世界中医药, 2021, 16(3): 426  
ZHANG BS, LI B, LI Q, et al. Determination of salidroside and nuezhenide in different producing areas and cluster analysis [J]. World Chin Med, 2021, 16(3): 426
- [8] 纪鑫, 刘晓谦, 李春, 等. 基于 UPLC 技术的女贞子中主要成分炮制变化规律研究及酒女贞子特色质量标准的探讨[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(24): 4862  
JI X, LIU XQ, LI C, et al. Content change of main components in processed *Ligustrum lucidum* fruits of different processing time and their characteristic quality standard based on UPLC technology [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(24): 4862
- [9] 张小婷, 张芮铭, 牛媛婧, 等. 基于多成分含量测定及化学计量学的党参质量评价[J]. 中药材, 2022, 45(10): 2411

- ZHANG XT, ZHANG RM, NIU YJ, *et al.* Quality evaluation of Codonopsis Radix based on multi - component content determination and chemometrics[J]. *J Chin Med Mater*, 2022, 45(10): 2411
- [10] 刘颖新,冯传平,刘利利,等. 一测多评法同时测定不同产地墨旱莲中9种成分及其质量评价研究[J]. *中国现代应用药学*,2022,39(18):2339
- LIU YX, FENG CP, LIU LL, *et al.* Study on simultaneous determination of 9 components in Ecliptae Herba from different growing areas by QAMS method and it's quality evaluation[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2022, 39(18):2339
- [11] 黄懿,欧阳波,肖作奇,等. 不同产地炒王不留行 HPLC 指纹图谱及含量测定研究[J]. *中南药学*,2017,15(7):879
- HUANG Y, OUYANG B, XIAO ZQ, *et al.* Content determination and fingerprint of fried *Vaccaria segetalis* from different habitats by HPLC[J]. *Cent South Pharm*, 2017, 15(7):879
- [12] 何蕊,刘鹤,翟俊民,等. 不同产地干姜中6-姜辣素含量的考察[J]. *中国地方病防治杂志*,2018,33(6):647
- HE R, LIU H, ZHAI JM, *et al.* Study the content of 6 - gingerol in *Zingiberis Rhizoma* from different places [J]. *Chin J Control Endem Dis*, 2018, 33(6):647
- [13] 杜晓蕾,崔伟亮,朱日然,等. 指纹图谱结合化学计量学研究白术麸炒前后成分变化情况[J]. *中药材*,2022,45(10):2358
- DU XL, CUI WL, ZHU RR, *et al.* Study the changes of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* ingredients before and after stir - frying by chromatographic fingerprint combined with chemometrics [J]. *J Chin Med Mater*, 2022, 45(10):2358
- [14] 高红宁,潘雨柔,殷奕,等. 高效液相色谱法测定不同产地麸炒白术中苍术酮、白术内酯 I、白术内酯 II 和白术内酯 III 的含量[J]. *中国当代医药*,2021,28(3):4
- GAO HN, PAN YR, DUAN Y, *et al.* Content determination of atractylone, atractylenolide I, atractylenolide II and atractylenolide III in *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* stir - fried with wheat bran from different habitats by high performance liquid chromatogram method [J]. *China Mod Med*, 2021, 28(3):4
- [15] 林伟雄,邓李红,李美洲,等. 基于 UPLC 特征图谱及多成分同时定量的酒女贞子炮制工艺研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2022,38(3):236
- LIN WX, DENG LH, LI MZ, *et al.* Study on processing procedure of wine - processed *Ligustri Lucidi Fructus* based on UPLC characteristic chromatogram and multicomponent content determination [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2022, 38(3):236
- [16] 纪鑫. 女贞子产地加工、炮制中化学成分变化规律及酒女贞子特色质量标准探索研究[D]. 北京:中国中医科学院,2019
- JI X. Studies on The Transformation of Chemical Components in The Processing of *Ligustri Lucidi Fructus* and Characteristic Quality Standard of Wine - steamed *Ligustri Lucidi Fructus*[D]. Beijing:China Academy of Chinese Medical Sciences, 2019
- [17] 纪鑫,刘晓谦,李春,等. 基于 UPLC 技术的女贞子中主要成分炮制变化规律研究及酒女贞子特色质量标准的探讨[J]. *中国中药杂志*,2018,43(24):4862
- JI X, LIU XQ, LI C, *et al.* Content change of main components in processed *Ligustrum lucidum* fruits of different processing time and their characteristic quality standard based on UPLC technology [J]. *China J Chin Mater Med*, 2018, 43(24):4862

(本文于2023年5月26日收到)