

超高效液相色谱 – 三重四极杆串联质谱测定 芪玉三龙汤中 14 个活性成分含量*

魏子琦¹, 杨蕊¹, 李阑影¹, 蒋羽鸽^{2**}, 杨沫², 周安^{1,2}, 李泽庚³, 吴欢^{1,2,3**}

(1. 安徽中医药大学 药学院, 合肥 230012; 2. 新安医学教育部重点实验室, 合肥 230012;

3. 中医药防治肺系重大疾病应用转化安徽省重点实验室, 合肥 230031)

摘要 目的: 建立超高效液相色谱 – 三重四极杆串联质谱 (UPLC–QQQ MS/MS) 法测定芪玉三龙汤中 14 个活性成分 (*L*-精氨酸、水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、芦丁、贝母辛、毛蕊异黄酮-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、咖啡酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I) 的含量。**方法:** 色谱分析采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液 (A) – 乙腈 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.2 mL · min⁻¹, 进样量 5 μ L, 柱温 35 °C。质谱分析采用电喷雾离子源 (ESI), 正负离子模式扫描, 多反应监测模式。**结果:** 14 个活性成分在各自浓度范围内线性关系良好, r 均 > 0.995 0; 精密度和重复性 RSD 均 < 2%, 稳定性 RSD < 3%; 平均加样回收率为 88.4%~108.5%, RSD 为 0.020%~3.6%; 10 批自制芪玉三龙汤中上述 14 个成分的含量范围分别为 667.28~785.78、165.72~197.27、196.32~275.60、17.60~26.52、4.68~10.75、279.12~388.05、26.00~47.57、385.52~442.77、288.00~358.82、629.88~839.02、86.67~125.83、51.58~65.83、25.50~37.53、55.50~76.13 μ g · g⁻¹。**结论:** 本研究基于 UPLC–QQQ MS/MS 建立的芪玉三龙汤多种活性成分的含量测定方法具有快速准确, 灵敏度高, 专属性好的特点, 可为芪玉三龙汤的质量控制提供参考。**关键词:** 芪玉三龙汤; 活性成分; 含量测定; 超高效液相色谱 – 三重四极杆串联质谱

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2025) 05-0779-17

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-1216

Simultaneous determination of fourteen active components in Qiyu Sanlong decoction by UPLC–QQQ MS/MS*

WEI Zi-qi¹, YANG Rui¹, LI Lan-ying¹, JIANG Yu-ge^{2**}, YANG Mo²,
ZHOU An^{1,2}, LI Ze-geng³, WU Huan^{1,2,3**}

(1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230012, China; 3. Anhui Province Key Laboratory of the Application and Transformation of Traditional Chinese Medicine in the Prevention and Treatment of Major Pulmonary Diseases, Hefei 230031, China)

Abstract Objective: To establish an ultra-performance liquid chromatography–triple quadrupole mass spectrometry

* 国家自然科学基金项目 (81903765); 安徽省高等学校自然科学基金重点项目 (2022AH050444); 安徽省研究生创新创业实践工程 (2023exceysj115)

** 通信作者 吴欢 Tel: (0551) 65169195; E-mail: wuhuanpu@ahtcm.edu.cn

蒋羽鸽 Tel: (0551) 65165073; E-mail: jyg@ahtcm.edu.cn

第一作者 Tel: (0551) 65165073; E-mail: 15215575722@163.com

(UPLC-QQQ MS/MS) method for the simultaneous determination of 14 active components in Qiyu Sanlong decoction, including *L*-arginine, monotropein, deacetyl asperulosidic acid, rutin, peimisine, calycosin-7-*O*- β -*D*-glucoside, caffeic acid, solasonine, solamargine, *p*-coumaric acid, ferulic acid, calycosin, astragaloside IV and astragaloside I.

Methods: The chromatographic separation experiment was performed on an ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μ m), with gradient elution of 0.1% formic acid aqueous solution (A)-acetonitrile (B) as mobile phase at the flow rate of 0.2 mL \cdot min⁻¹, injection volume of 5 μ L, and column temperature of 35 $^{\circ}$ C. The ion source was an electrospray ionization source (ESI), the scanning mode was simultaneous scanning of positive and negative ions, and the monitoring mode was multiple reaction monitoring. **Results:** The 14 active components revealed good linearity within their respective ranges ($r > 0.995$), RSDs of precision and repeatability were below 2%, RSDs of stability were below 3%, and the average recoveries ranged from 88.4% to 108.5% with the RSDs ranging from 0.020% to 3.6%. The content ranges of the aforementioned 14 components in 10 batches of self-prepared Qiyu Sanlong decoction were as follows (in μ g \cdot g⁻¹): 667.28-785.78, 165.72-197.27, 196.32-275.60, 17.60-26.52, 4.68-10.75, 279.12-388.05, 26.00-47.57, 385.52-442.77, 288.00-358.82, 629.88-839.02, 86.67-125.83, 51.58-65.83, 25.50-37.53, and 55.50-76.13. **Conclusion:** The UPLC-QQQ MS/MS method established in this study is rapid, accurate, sensitive and repeatable, which can provide a reference for the quality control of Qiyu Sanglong decoction.

Keywords: Qiyu Sanglong decoction; active component; content determination; ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

芪玉三龙汤是治疗非小细胞肺癌的名老中医验方,疗效确切,临床应用已有 20 余年^[1]。该方由黄芪、龙葵、天龙、地龙、泽漆、白花蛇舌草、莪术、玉竹、薏苡仁、川贝母等 10 味中药组成,诸药合用共奏益气养阴、化痰祛瘀、解毒消积之功。现代药理学研究^[2-4]表明,芪玉三龙汤抑制非小细胞肺癌的机制可能是与其干预 mTOR/Beclin1/LC3 信号轴相关分子和 Bax、cleaved Caspase-3 和 Bcl-2 蛋白表达,以及通过 PD-1 信号通路增强 Th1 免疫反应有关。对芪玉三龙汤的药效物质基础和质量控制进行深入全面的研究,对推动其临床应用和相关制剂的开发,具有深远的意义。

课题组前期利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q TOF MS^E)快速辨识了芪玉三龙汤中 166 个化学成分^[5],然后通过体内药物分析,分别在大鼠血浆、尿液和粪便中识别了 101、85、93 个芪玉三龙汤的原型成分和代谢产物^[6-8],这些成分构成了芪玉三龙汤抑制非小细胞肺癌的潜在药效物质基础,最后通过“谱-效”关系研究,筛选出 14 个芪玉三龙汤抑制非小细胞肺癌的活性成分^[9-10]。对芪玉三龙汤活性成分进行定量研究有助于控制复方制剂的质量,前期尝试运用 UPLC 法测定芪玉三龙汤中咖啡酸、对香豆酸、芦丁、毛蕊异黄酮和毛蕊异黄

酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 5 个成分的含量,但分离效率低,分析时间长。超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(UPLC-QQQ MS/MS)具有选择性好、专属性强和灵敏度高等优势,已广泛应用于中药复方的多组分定量分析^[11-13]。基于此,本研究对芪玉三龙汤中的 14 个活性成分进行含量测定,旨在为芪玉三龙汤的全面质量控制提供科学方法和依据。

1 仪器与试药

1.1 中药饮片

黄芪(批号 220401、230701、230702)、龙葵(批号 210601、220401、221101)、天龙(批号 211201、220308002、230301)、地龙(批号 220601、220901、230201)、泽漆(批号 210701、210902、230701)、白花蛇舌草(批号 211201、220501、221001)、莪术(批号 220801、230201、230501)、玉竹(批号 210701、220601、221201)、薏苡仁(批号 A220113、A221211、A230320)、川贝母(批号 210501、230201、2304030),以上 10 味中药饮片均购于北京同仁堂(合肥),由安徽中医药大学中药资源中心杨青山副教授鉴定。

1.2 试药

对照品 *L*-精氨酸(批号 MUST-23090501,纯度 99.59%)、水晶兰苷(批号 MUST-21102315,纯度 99.86%)、去乙酰基车叶草苷酸(批号 MUST-22020810,

纯度 98.17%)、芦丁(批号 MUST-22111214, 纯度 99.04%)、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷(批号 MUST-20031920, 纯度 99.86%)、咖啡酸(MUST-23061118, 纯度 99.82%)、澳洲茄碱(批号 MUST-20042004, 纯度 99.61%)、澳洲茄边碱(批号 MUST-19102621, 纯度 99.43%)、对香豆酸(批号 MUST-20050603, 纯度 99.96%)、阿魏酸(批号 MUST-23072910, 纯度 99.99%)、毛蕊异黄酮(批号 MUST-19120901, 纯度 99.84%)、黄芪甲苷(批号 MUST-19091308, 纯度 99.89%)和黄芪皂苷 I(批号 MUST-20042906, 纯度 99.10%), 购于成都曼思特生物科技有限公司; 贝母辛(批号 B20082, 纯度 98.00%), 购于上海源叶生物科技有限公司。甲酸(Sigma-Aldrich 公司)和甲醇、乙腈(Merck 公司)均为质谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪串联 Xevo TQS 三重四极杆质谱仪(Waters 公司), KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), BP211D 十万分之一电子天平(Sartorius 公司), 5430R 低温高速离心机(Eppendorf 公司), Milli-Q Gradient A10 超纯水机(Millipore 公司), RE-3000A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), ALPHA1-2LD 真空冷冻干燥机(Christ 公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 称取方中诸药, 使用水煎法制备中药汤剂。每副药材 134 g(黄芪 30 g、龙葵 20 g、天龙 6 g、地龙 6 g、泽漆 6 g、白花蛇舌草 20 g、莪术 10 g、玉竹 10 g、薏苡仁 20 g、川贝母 6 g), 在 10 倍纯净水(1 340 mL)中浸泡 1 h, 武火煮沸后文火煎煮 1.5 h, 提取液通过 4 层纱布过滤, 残渣加入 8 倍纯净水(1 072 mL), 武火煮沸后文火煎煮 40 min, 提取液再次通过 4 层纱布过滤; 合并 2 次煎煮液, 50 °C 真空旋转蒸发浓缩至一定体积, 放置于 -80 °C 冰箱预冻, 然后真空冷冻干燥, 得芪玉三龙汤冻干粉, 于干燥器中避光保存。取冻干粉 0.1 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 90% 甲醇水 50 mL, 密塞, 摇匀, 称量, 超声(功率 250 W, 频率 40 kHz)提取 30 min, 待冷却后, 再称量, 用 90% 甲醇水补足减失的量。在 4 °C、3 000 r·min⁻¹ 的条件下离心 10 min, 取上清液涡旋混匀, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 即得, 4 °C 下保存。

2.1.2 混合对照品溶液 精密称取 L-精氨酸、水晶

兰昔、去乙酰基车叶草苷酸、芦丁、贝母辛、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷、咖啡酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 的对照品各约 5.00 mg, 分别置 5 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成 1.00 mg·mL⁻¹ 的对照品储备液, -20 °C 下保存备用。精密吸取各对照品储备液适量, 涡旋混匀, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 即得混合对照品溶液, 4 °C 下保存备用。

2.1.3 阴性溶液 按照“2.1.1”项下方法制备缺芪玉三龙汤方中诸药的阴性样品溶液, 4 °C 下保存。

2.2 色谱、质谱条件

2.2.1 色谱条件 采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱(0~2 min, 5%B; 2~3 min, 5%B → 45%B; 3~5 min, 45%B → 60%B; 5~5.5 min, 60%B → 67%B; 5.5~6 min, 67%B → 70%B; 6~7.5 min, 70%B → 75%B; 7.5~9 min, 75%B → 80%B; 9~10 min, 80%B → 86%B; 10~12 min, 86%B; 12~14 min, 86%B → 5%B; 14~15 min, 5%B), 流速 0.2 mL·min⁻¹, 进样量 5 μ L, 柱温 35 °C。

2.2.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子源(ESI), 扫描方式为正负离子同时扫描, 监测模式为多反应监测模式(MRM), MassLynx 4.2 软件(Waters)作为质谱工作站对质谱数据进行采集和处理。正负模式下毛细管电压均为 2.0 kV, 离子源温度 500 °C, 脱溶剂气流量 1 000 L·h⁻¹, 数据采集时间 15 min。14 个待测成分质谱参数详见表 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 分别取“2.1”项下供试品溶液、混合对照品溶液和阴性样品溶液适量, 按“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定, 记录各成分 MRM 色谱图(图 1)。样品与对照品中各待测成分的色谱峰保留时间一致, 阴性样品相同保留时间处无色谱峰出现, 表明方法专属性良好。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项配制的混合对照品溶液适量, 用甲醇逐级稀释配制为 10 个系列工作浓度的混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定。以各对照品溶液的质量浓度(X , ng·mL⁻¹)为横坐标, 相应的峰面积 Y 为纵坐标, 进行线性回归, 得线性方程、相关系数和线性范围。以信噪比(S/N)为 3 和 10 时的浓度确定各成分的检测限(LOD)和定量限(LOQ)。结果(表 2)表明, 各成分在相应的浓度范围内线性关系良好($r > 0.9950$)。

表 1 14 个活性成分的质谱参数

Tab. 1 The MS parameters of 14 active components

峰号 (peak No.)	t_R /min	成分 (component)	化学式 (formula)	电离模式 (ionization mode)	母离子 (precursor ion) m/z	子离子 (product ion) m/z	去簇电压 (declustering potential)/V	碰撞能量 (collision energy)/eV
1	1.32	<i>L</i> -精氨酸 (<i>L</i> -arginine)	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	ESI ⁺	175.12	70.10	40	20
2	6.04	水晶兰苷 (monotropein)	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	ESI ⁻	389.11	146.95	30	20
3	6.03	去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	ESI ⁻	389.11	118.93	45	24
4	6.26	芦丁 (rutin)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	ESI ⁻	609.15	300.03	30	34
5	6.34	贝母辛 (peimisine)	C ₂₇ H ₄₁ NO ₃	ESI ⁺	428.32	109.10	50	34
6	6.37	毛蕊异黄酮-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷 (calycosin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside)	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	ESI ⁺	447.13	285.06	10	20
7	6.40	咖啡酸 (caffeic acid)	C ₉ H ₈ O ₄	ESI ⁻	179.03	135.00	30	20
8	6.47	澳洲茄碱 (solasonine)	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₆	ESI ⁺	884.52	85.01	30	54
9	6.57	澳洲茄边碱 (solamargine)	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	ESI ⁺	868.52	85.01	40	58
10	6.75	对香豆酸 (<i>p</i> -coumaric acid)	C ₉ H ₈ O ₃	ESI ⁻	163.03	119.05	50	10
11	6.85	阿魏酸 (ferulic acid)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	ESI ⁻	193.10	134.20	30	20
12	7.29	毛蕊异黄酮 (calycosin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	ESI ⁺	285.07	270.05	30	25
13	7.42	黄芪甲苷 (astragaloside IV)	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	ESI ⁺	785.46	143.01	30	20
14	8.27	黄芪皂苷 I (astragaloside I)	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	ESI ⁻	913.61	913.61	30	10

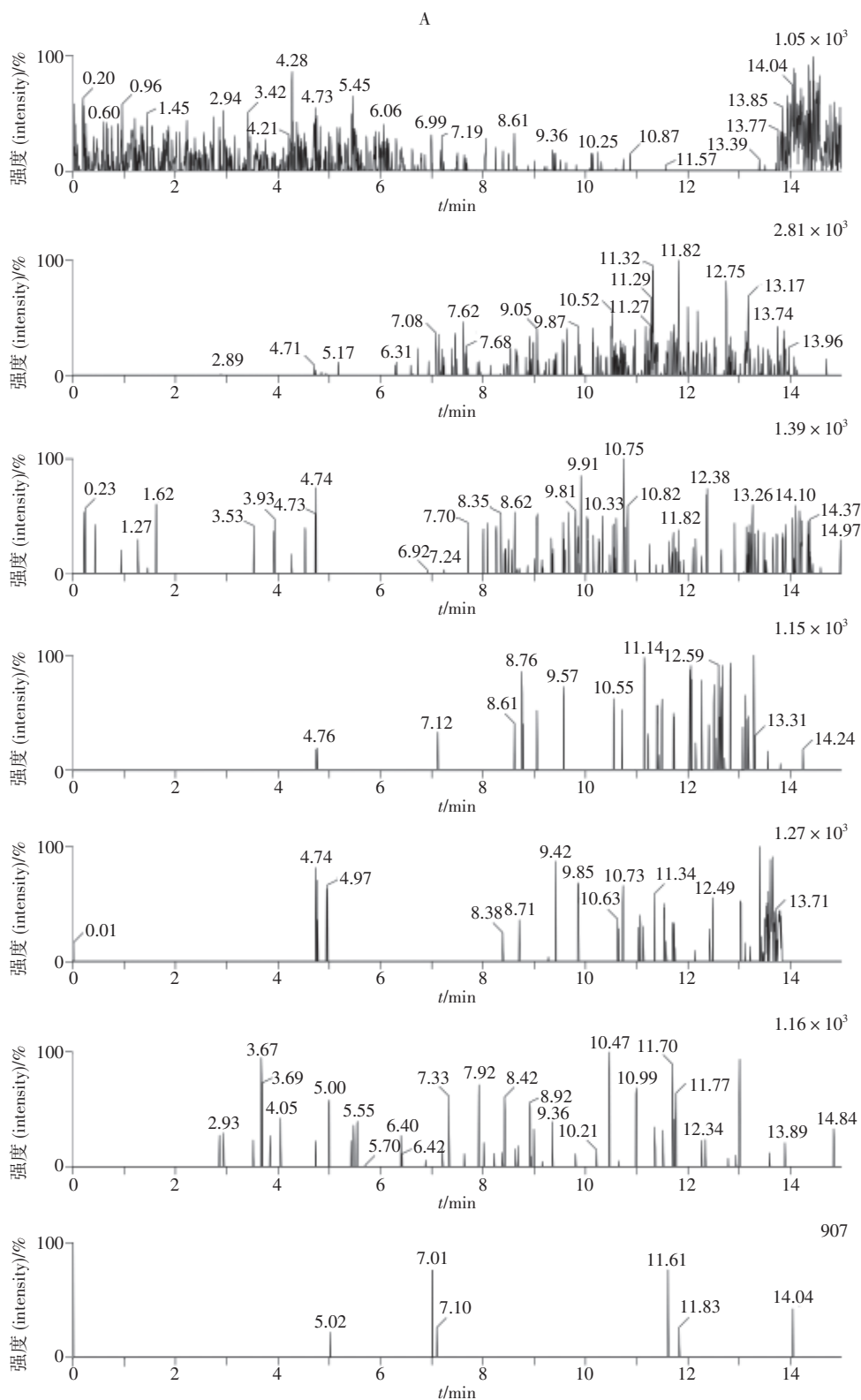
2.3.3 精密度试验 取同一份“2.1.2”项下配制的混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱、质谱条件连续进样。1 d 内连续进样 6 次,记录各成分峰面积并计算 RSD,测定日内精密度,*L*-精氨酸、水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、芦丁、贝母辛、毛蕊异黄酮-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、咖啡酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 峰面积的 RSD 分别为 0.56%、0.58%、0.66%、0.88%、1.0%、0.52%、0.13%、0.91%、0.50%、0.55%、0.51%、0.54%、1.6%、0.96%;连续测定 3 d,每天连续进样 6 次,测得日间精密度,上述 14 个成分峰面积的 RSD 分别为 0.91%、0.62%、0.70%、0.96%、0.81%、0.58%、0.97%、1.4%、0.67%、1.7%、1.2%、0.76%、1.8%、1.2%,均 < 2.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批样品(批号 20230910),按“2.1.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下色谱、质谱条件进样,记录各成分峰面积,计算含量及 RSD。*L*-精氨酸、水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、芦丁、贝母辛、毛蕊异黄酮-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、咖啡酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 的含量分别为 695.48、177.85、284.36、29.08、11.39、366.98、30.98、385.02、394.03、529.17、113.46、59.57、

31.16 和 86.47 μg·g⁻¹,RSD 分别为 0.59%、1.1%、0.88%、1.4%、1.5%、0.92%、1.0%、0.83%、1.1%、1.2%、0.69%、0.19%、1.3%、0.86%,均 < 2.0%,表明方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取“2.1.1”项下供试品溶液(批号 20230910)一份,在室温条件下放置 0、2、4、6、8、10、12、24 h,按“2.2”项下色谱、质谱条件进样,记录 24 h 内不同时间点各成分的峰面积并计算 RSD。结果 *L*-精氨酸、水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、芦丁、贝母辛、毛蕊异黄酮-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、咖啡酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 峰面积的 RSD 分别为 1.6%、1.2%、1.3%、1.8%、1.6%、1.3%、2.6%、1.6%、2.7%、2.1%、2.6%、1.6%、1.3%、1.2%,均 < 3.0%,表明供试品溶液于室温下放置 24 h 稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取 9 份已知含量的芪玉三龙汤冻干粉样品(批号 20230910),以分析方法中样品测定的浓度为 100% 计,按样品测定浓度的 50%、100%、150% 加入一定量的混合对照品,每种浓度分别平行制备 3 份,按“2.2”项下色谱、质谱条件进样检测,记录峰面积,计算含量和回收率。结果见表 3,平均加样回收率为 88.4%~108.5%,RSD 为 0.020%~3.6%,表明该方法准确度良好。



1~14. 同表 1 (same as Tab. 1)

图 1 阴性样品溶液 (A, D)、混合对照品溶液 (B, E) 和芪玉三龙汤供试品溶液 (C, F) 中 14 个活性成分在正离子模式 (A~C)、负离子模式 (D~F) 下各成分 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of 14 active components in negative sample solution (A, D), mixed reference standards solution (B, E) and Qiyu Sanglong decoction sample solution (C, F) in positive ion mode (A~C) and negative ion mode (D~F)

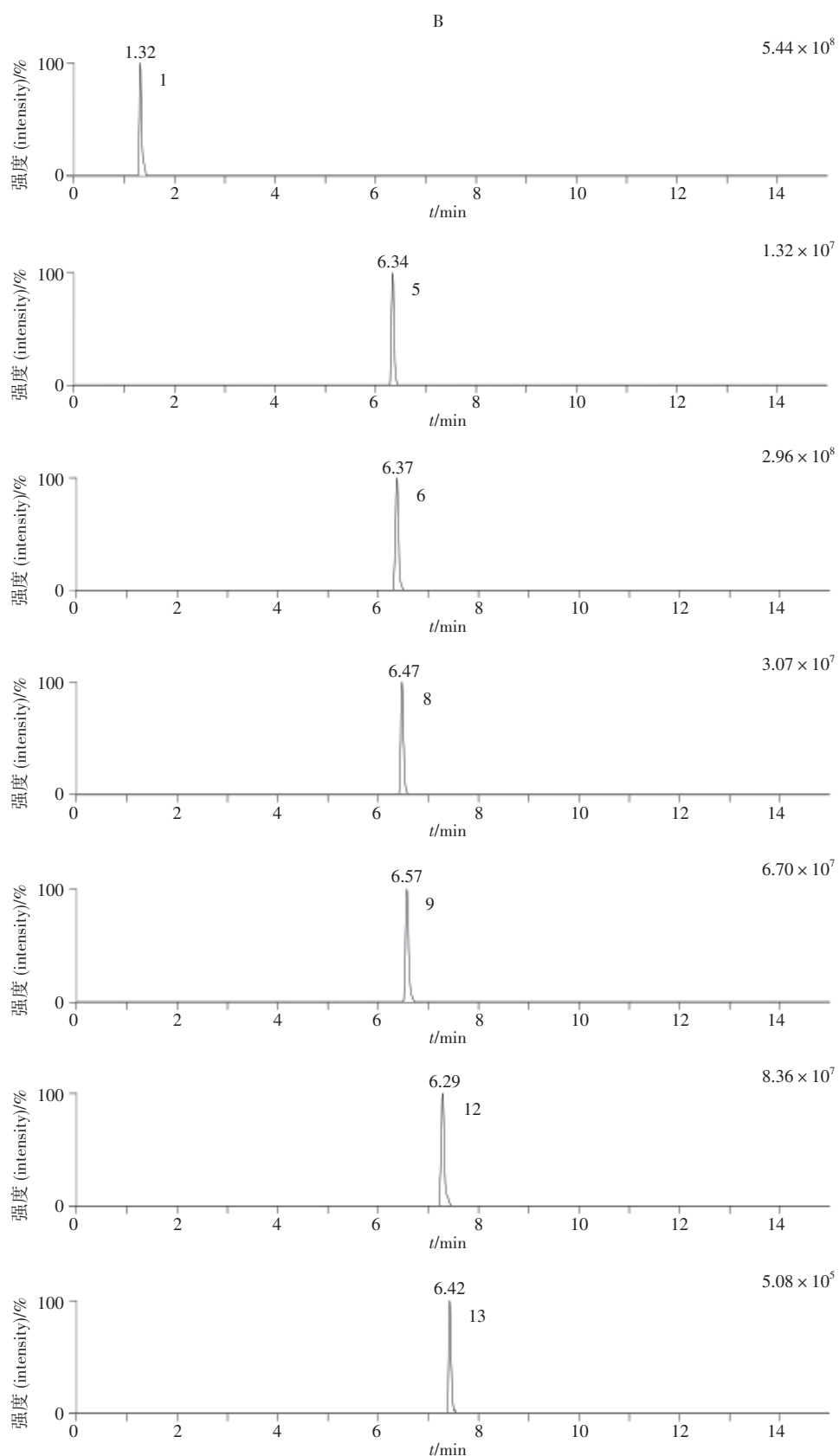


图1(续)

Fig. 1 (continued)

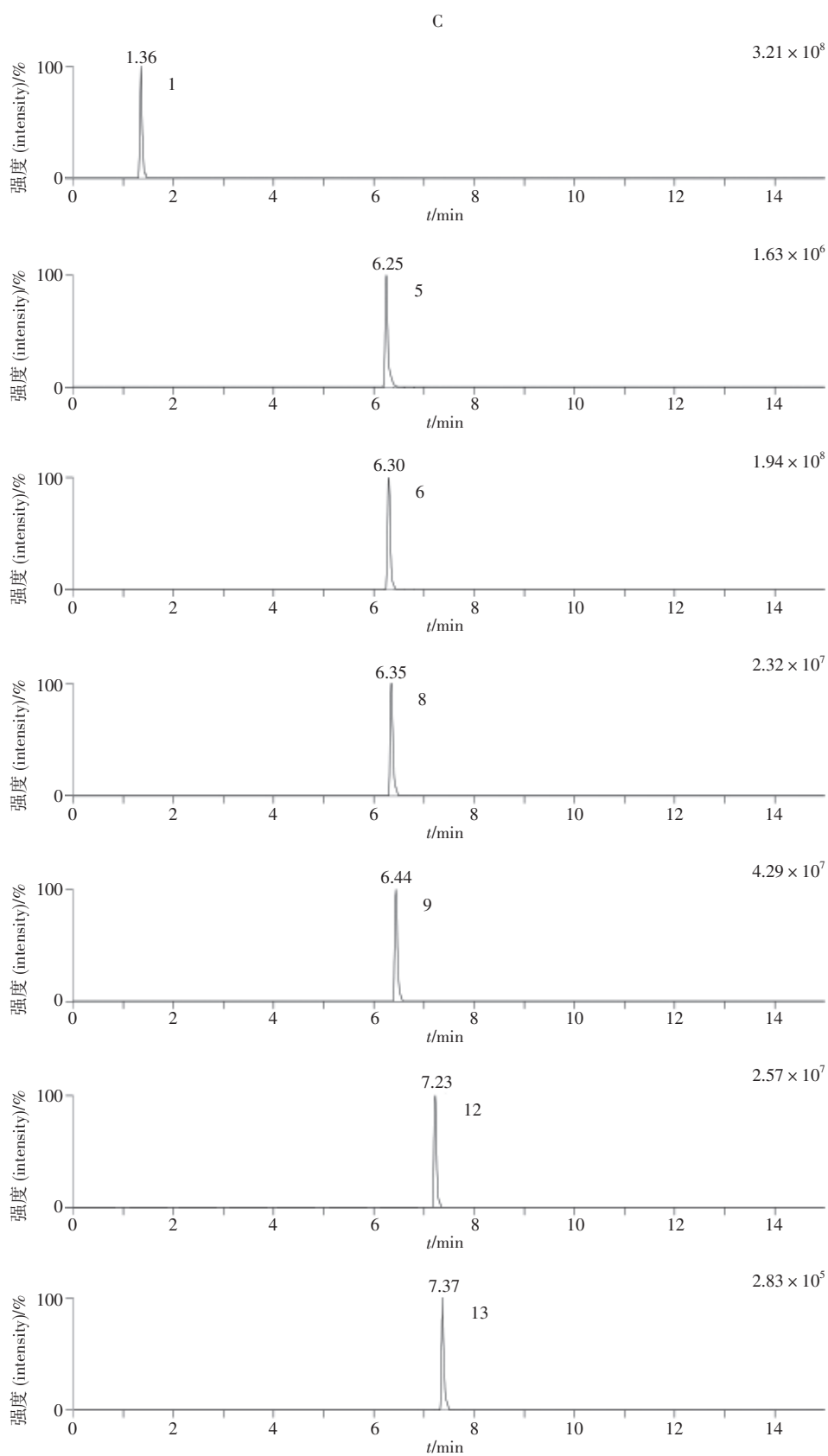


图 1(续)

Fig. 1 (continued)

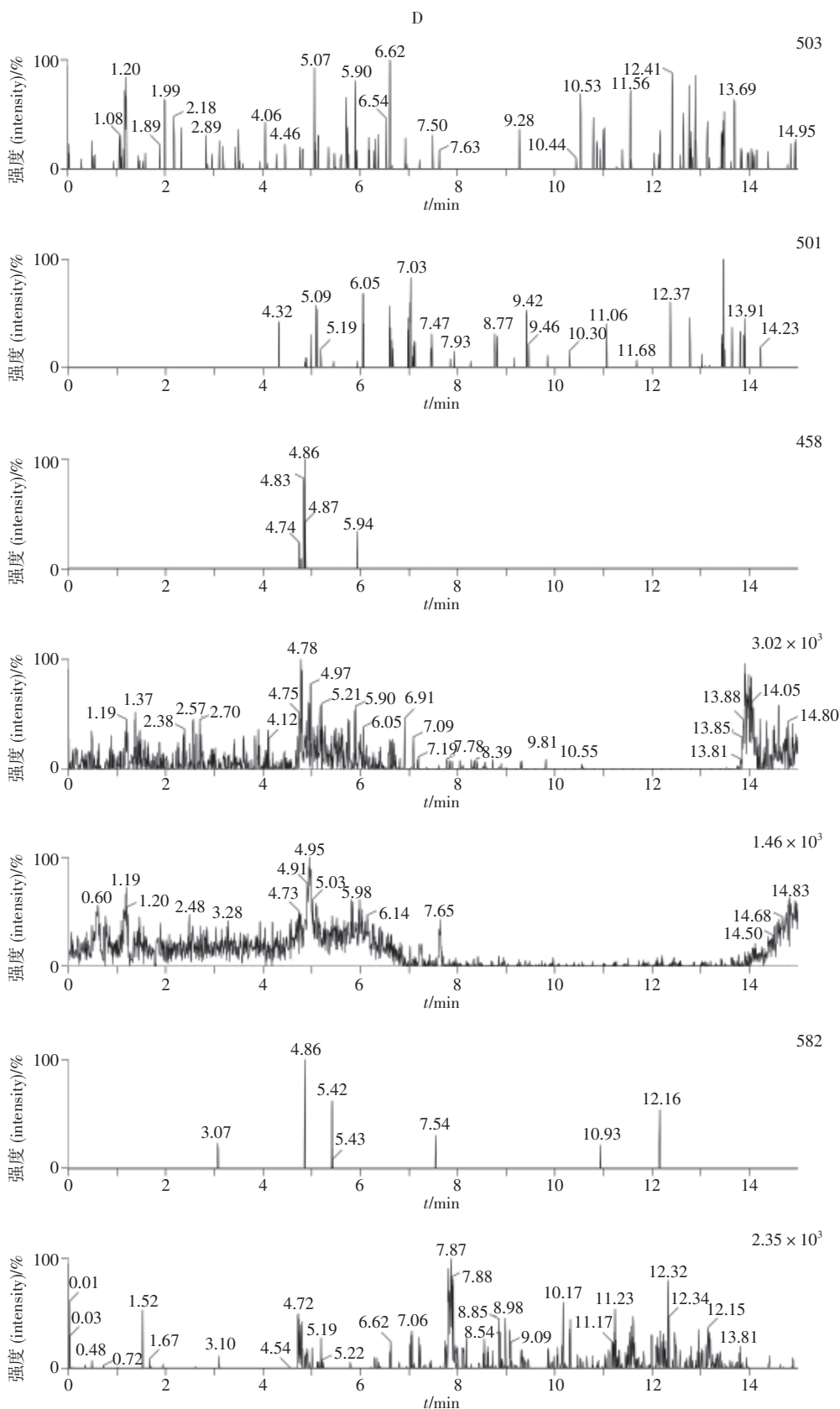


图 1 (续)

Fig. 1 (continued)

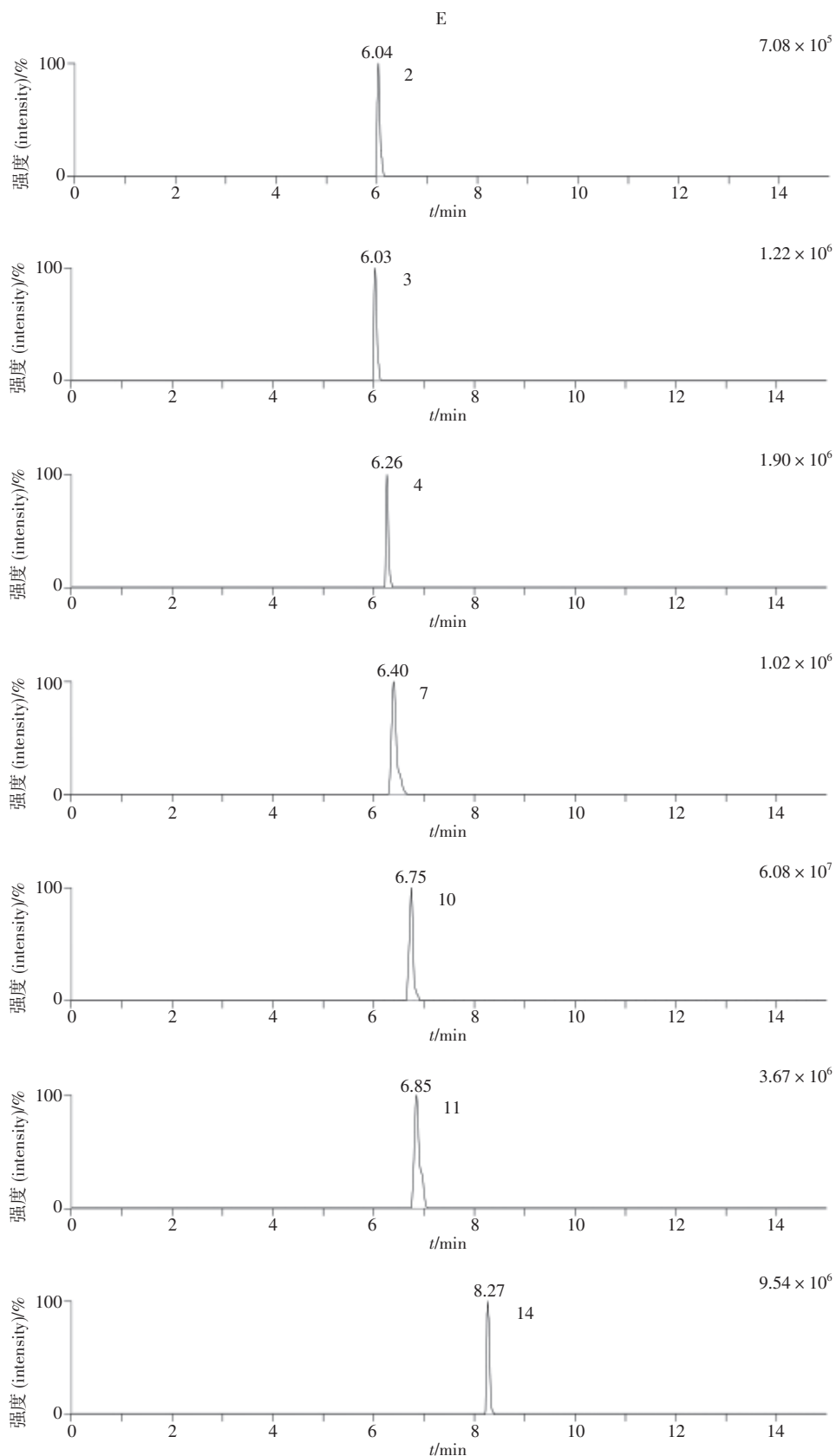


图 1(续)

Fig. 1 (continued)

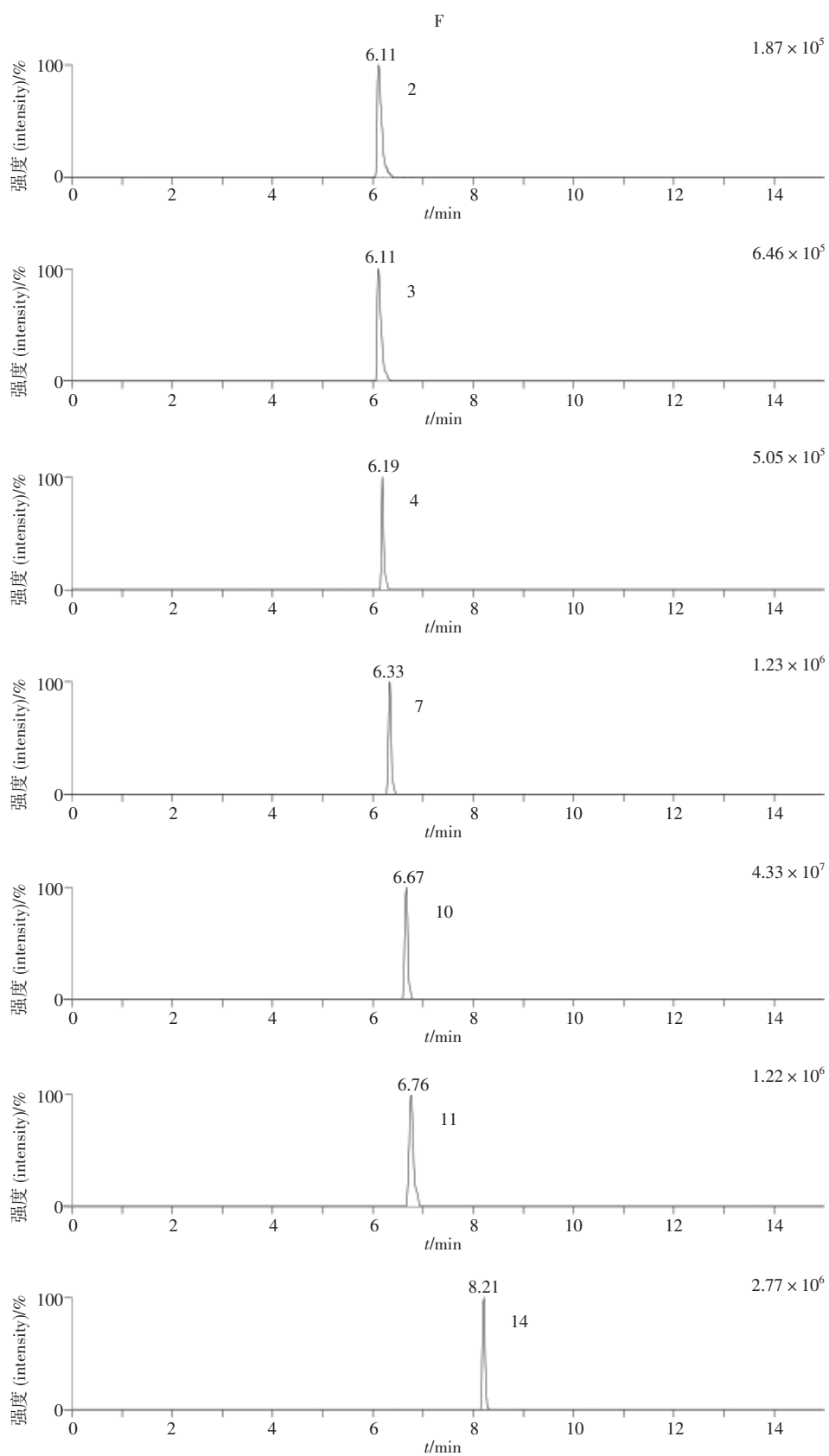


图1(续)

Fig. 1 (continued)

表 2 14 个活性成分的回归方程、相关系数、线性范围、检测限和定量限

Tab. 2 Regression equations, correlation coefficients, linear range, LOD and LOQ of 14 active components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/(ng·mL ⁻¹)	LOD/ (ng·mL ⁻¹)	LOQ/ (ng·mL ⁻¹)
<i>L</i> -精氨酸 (<i>L</i> -arginine)	$Y=1.154 \times 10^4 X - 2.010 \times 10^6$	0.998 3	202.5~4 050.0	0.71	2.35
水晶兰苷 (monotropein)	$Y=57.811 X - 2.193 \times 10^3$	0.998 8	51.0~1 020.0	1.16	3.87
去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	$Y=1.214 \times 10^2 X - 4.551 \times 10^3$	0.998 6	53.3~1 065.0	0.91	3.02
芦丁 (rutin)	$Y=7.684 \times 10^2 X - 7.623 \times 10^3$	0.998 6	10.3~205.0	0.07	0.24
贝母辛 (peimisine)	$Y=5.816 \times 10^3 X - 4.724 \times 10^4$	0.999 3	9.6~192.0	0.30	1.00
毛蕊异黄酮-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 (calycosin-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside)	$Y=1.581 \times 10^4 X - 1.163 \times 10^6$	0.998 9	101.5~2 030.5	0.39	1.29
咖啡酸 (caffeic acid)	$Y=7.802 \times 10^2 X - 1.089 \times 10^3$	0.995 9	11.3~225.0	0.07	0.22
澳洲茄碱 (solasonine)	$Y=1.430 \times 10^3 X - 1.182 \times 10^5$	0.999 1	102.2~2 043.0	0.63	2.10
澳洲茄边碱 (solamargine)	$Y=3.649 \times 10^3 X - 2.625 \times 10^5$	0.998 6	99.3~1 986.0	0.35	1.15
对香豆酸 (<i>p</i> -Coumaric acid)	$Y=1.933 \times 10^3 X - 1.556 \times 10^5$	0.997 3	198.3~3 965.0	0.40	1.32
阿魏酸 (ferulic acid)	$Y=5.184 \times 10^2 X - 1.872 \times 10^4$	0.999 2	48.8~975.5	0.23	0.75
毛蕊异黄酮 (calycosin)	$Y=9.537 \times 10^3 X - 2.452 \times 10^5$	0.997 8	49.5~990.0	0.09	0.30
黄芪甲苷 (astragaloside IV)	$Y=2.082 \times 10^2 X - 1.628 \times 10^3$	0.999 4	10.8~215.0	0.14	0.45
黄芪皂苷 I (astragaloside I)	$Y=9.509 \times 10^2 X - 3.283 \times 10^4$	0.998 7	52.5~1 050.0	0.34	1.15

 表 3 14 个活性成分在 3 个水平下的加样回收率试验结果 (*n*=3)

Tab. 3 Experimental results of recovery rate of 14 active components at 3 levels

成分 (component)	初始量 (original)/ μ g	加入量 (spiked)/ μ g	测得量 (detected)/ μ g	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%	
<i>L</i> -精氨酸 (<i>L</i> -arginine)	72.1	35.9	111.0	108.5	108.4	0.16	
	72.1	35.9	111.1	108.5			
	72.1	35.9	111.0	108.2			
	水晶兰苷 (monotropein)	72.1	71.9	147.9	105.4	105.5	0.10
		72.1	71.9	148.0	105.6		
		72.1	71.9	147.9	105.5		
		72.1	107.9	185.3	104.9	104.8	0.10
		72.1	107.9	185.0	104.7		
		72.1	107.9	185.2	104.8		
去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	17.6	8.7	26.2	99.0	98.4	0.61	
	17.6	8.7	26.1	97.8			
	17.6	8.7	26.1	98.5			
	去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	17.6	17.4	35.1	100.8	100.4	0.44
		17.6	17.4	35.1	100.6		
		17.6	17.4	35.0	99.9		
		17.6	26.2	43.8	100.2	100.1	0.43
		17.6	26.2	43.9	100.5		
		17.6	26.2	43.7	99.6		
去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	19.6	9.6	29.3	100.3	99.0	1.1	
	19.6	9.6	29.1	98.6			
	19.6	9.6	29.1	98.2			
	19.6	19.4	39.1	100.6	100.5	0.25	
	19.6	19.4	39.0	100.2			

表 3(续)

成分 (component)	初始量 (original)/ μg	加入量 (spiked)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
芦丁 (rutin)	19.6	19.4	39.1	100.6	100.3	0.060
	19.6	29.1	48.9	100.4		
	19.6	29.1	48.8	100.3		
	19.6	29.1	48.8	100.3	98.5	3.6
	2.5	1.2	3.8	100.8		
	2.5	1.2	3.8	100.4		
	2.5	1.2	3.7	94.4		
	2.5	2.5	4.9	96.2		
	2.5	2.5	4.9	97.6	96.3	1.4
	2.5	2.5	4.9	95.0		
2.5	3.7	6.3	100.4			
2.5	3.7	6.3	100.1			
贝母辛 (peimisine)	2.5	3.7	6.2	98.0	102.1	3.1
	1.1	0.6	1.7	105.5		
	1.1	0.6	1.6	99.1		
	1.1	0.5	1.7	101.8		
	1.1	1.1	2.2	101.4		
	1.1	1.1	2.2	96.4		
	1.1	1.1	2.2	95.9		
	1.1	1.6	2.8	101.5		
	1.1	1.7	2.8	100.3		
	1.1	1.6	2.8	100.6		
毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷 (calycosin-7-O- β -D-glucopyranoside)	33.0	16.5	49.5	100.1	98.8	2.4
	33.0	16.5	49.6	100.4		
	33.0	16.5	48.9	96.1		
	33.0	33.0	66.0	99.9		
	33.0	33.0	66.1	100.2		
	33.0	33.0	66.0	99.9		
	33.0	49.5	82.6	100.2		
	33.0	49.5	82.6	100.2		
	33.0	49.5	82.7	100.3		
	33.0	49.5	82.7	100.3		
咖啡酸 (caffeic acid)	3.5	1.7	5.4	110.3	108.5	1.5
	3.5	1.7	5.4	107.7		
	3.5	1.7	5.4	107.4		
	3.5	3.5	7.3	107.1		
	3.5	3.5	7.2	105.3		
	3.5	3.5	7.3	107.4		
	3.5	5.2	9.0	105.3		
	3.5	5.2	9.1	106.0		
	3.5	5.2	9.0	104.7		
	3.5	5.2	9.0	104.7		
澳洲茄碱 (solasonine)	38.7	19.9	56.2	88.1	88.4	0.36
	38.7	19.8	56.3	88.7		
	38.7	19.9	56.2	88.3		
	38.7	39.3	75.1	92.4		
	38.7	39.3	75.1	92.5		

表 3(续)

成分 (component)	初始量 (original)/ μg	加入量 (spiked)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%	
澳洲茄边碱 (solamargine)	38.7	39.3	75.1	92.5	93.5	0.020	
	38.7	58.8	93.7	93.4			
	38.7	58.8	93.7	93.4			
	38.7	58.8	93.7	93.5	95.5	1.3	
	35.9	18.1	53.0	94.7			
	35.9	18.1	53.1	94.9			
	35.9	18.1	53.5	97.0			
	35.9	36.1	71.8	99.6			
	35.9	36.1	70.8	96.6			
	对香豆酸 (<i>p</i> -coumaric acid)	35.9	36.1	72.2	100.6	98.9	2.1
		35.9	54.1	89.2	98.4		
		35.9	54.1	88.8	97.7		
35.9		54.1	90.0	99.9	106.8	0.45	
66.1		32.9	101.1	106.4			
66.1		32.9	101.2	106.7			
66.1		32.9	101.4	107.4			
66.1		65.9	135.3	105.0			
66.1		65.9	135.2	104.8			
阿魏酸 (ferulic acid)		66.1	65.9	135.1	104.7	103.8	0.11
		66.1	98.9	168.8	103.9		
		66.1	98.9	168.9	103.9		
	66.1	98.9	168.6	103.7	101.9	3.6	
	10.9	5.6	16.4	98.8			
	10.9	5.6	16.5	100.8			
	10.9	5.6	16.8	105.9			
	10.9	11.1	22.3	102.6			
	10.9	11.1	22.1	100.9			
	毛蕊异黄酮 (calycosin)	10.9	11.1	21.9	99.0	100.9	1.8
		10.9	16.6	27.7	100.9		
		10.9	16.6	27.8	101.6		
10.9		16.6	27.6	100.6	101.1	0.50	
10.9		16.6	27.6	100.6			
5.5		2.7	8.2	98.0			
5.5		2.7	8.3	100.9			
5.5		2.7	8.2	98.9			
5.5		5.5	11.0	99.7			
黄芪甲苷 (astragaloside IV)		5.5	5.5	11.0	100.5	100.1	0.36
		5.5	5.5	11.0	100.2		
		5.5	5.5	11.0	100.2		
	5.5	8.2	13.8	101.1	99.8	1.5	
	5.5	8.2	13.6	98.2			
	5.5	8.2	13.8	100.1			
	3.8	1.8	5.7	104.0			
	3.8	1.8	5.7	102.1			
	3.8	1.8	5.7	105.1			
	黄芪甲苷 (astragaloside IV)	3.8	3.7	7.7	104.7	103.7	0.86
		3.8	3.7	7.6	103.5		
		3.8	3.7	7.6	102.9		

表 3(续)

成分 (component)	初始量 (original)/ μg	加入量 (spiked)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
黄芪皂苷 I (astragaloside I)	3.8	5.5	9.5	101.3	101.2	0.80
	3.8	5.5	9.4	100.3		
	3.8	5.5	9.5	101.9		
	7.6	3.7	11.2	97.7	98.4	0.69
	7.6	3.7	11.2	98.3		
	7.6	3.7	11.2	99.1		
	7.6	7.4	15.1	101.0	100.4	0.83
	7.6	7.4	15.1	100.8		
	7.6	7.4	15.0	99.5		
	7.6	11.2	18.7	99.8	99.9	0.51
	7.6	11.2	18.7	99.5		
	7.6	11.2	18.8	100.5		

2.4 样品含量测定

取 10 批自制芪玉三龙汤冻干粉样品,每批次按“2.1.1”项下方法平行制备 3 份供试品溶液,按“2.2”项下条件进样检测,结果见表 4(单位 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 中的 g 为芪玉三龙汤冻干粉的质量)。结果显示,精氨酸和对香豆酸在芪玉三龙汤中的含量最高,平均含量分别为 $693.98\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $711.12\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,批间 RSD 分别为 5.0% 和 11.7%;水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄

边碱和阿魏酸的含量较高,平均含量分别为 176.97、240.40、325.15、420.96、324.08 和 $105.11\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,批间 RSD 分别为 4.8%、9.1%、9.8%、5.0%、7.8% 和 12.0%;芦丁、贝母辛、咖啡酸、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 的含量较低,平均含量分别为 20.53、6.85、36.51、58.62、28.65 和 $66.56\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,批间 RSD 分别为 14.4%、34.6%、20.4%、8.6%、12.8% 和 10.4%,其中,贝母辛不仅含量最低(平均含量为 $6.85\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),而且批间含量差异大(批间 RSD 为 34.6%)。

表 4 10 批样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab. 4 Results of content determination for 10 batches of samples

成分 (component)	含量 (content) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)									
	20230910	20230912	20230914	20230916	20230918	20230920	20230922	20230924	20230926	20230928
L-精氨酸 (L-arginine)	667.28	690.42	698.02	670.78	785.78	710.28	676.77	684.12	679.97	676.37
水晶兰苷 (monotropein)	197.27	180.62	173.13	176.47	176.05	179.75	177.53	169.87	173.25	165.72
去乙酰基车叶草苷酸 (deacetyl asperulosidic acid)	275.60	251.37	248.42	248.08	196.32	259.85	233.25	239.35	223.70	228.02
芦丁 (rutin)	26.52	18.93	20.25	19.65	18.92	17.60	18.23	18.23	23.33	23.65
贝母辛 (peimisine)	10.68	10.75	4.83	5.07	4.88	9.62	7.68	4.68	5.22	5.05
毛蕊异黄酮-7-O- β -D- 葡萄糖苷 (calycosin-7-O- β - D-glucopyranoside)	350.55	300.13	279.12	293.95	334.65	388.05	329.15	304.25	330.00	341.63
咖啡酸 (caffeic acid)	47.57	40.00	35.58	35.67	28.93	32.37	29.72	26.00	43.48	45.73
澳洲茄碱 (solasonine)	431.00	431.67	440.87	430.62	442.77	435.32	417.17	386.12	385.52	408.55
澳洲茄边碱 (solamargine)	358.82	344.88	341.38	330.92	339.82	339.57	302.12	304.40	290.93	288.00
对香豆酸 (p-coumaric acid)	675.20	632.37	643.52	640.67	673.83	813.88	771.50	791.32	629.88	839.02
阿魏酸 (ferulic acid)	109.90	97.77	108.92	108.75	86.67	103.28	92.00	95.75	122.23	125.83
毛蕊异黄酮 (calycosin)	58.65	51.58	52.93	55.58	60.32	65.83	56.68	55.58	65.38	63.67
黄芪甲苷 (astragaloside IV)	29.13	28.60	25.95	27.75	26.60	26.78	25.50	26.48	37.53	32.13
黄芪皂苷 I (astragaloside I)	76.13	71.30	55.50	55.75	61.25	66.52	68.52	67.68	71.98	70.97

3 讨论与结论

3.1 检测方法的选择

本研究的测定对象为芪玉三龙汤中 14 个化学成分,其主要结构有环烯醚萜类、生物碱类、皂苷类、黄酮类、苯丙素类和氨基酸类等。当采用 LC-UV 检测时,各类待测成分紫外最大吸收波长不同,且皂苷类成分如黄芪甲苷、黄芪皂苷 I 的紫外吸收弱,灵敏度低;当使用蒸发光散射检测器时,其他成分的灵敏度则无法达到要求。由于芪玉三龙汤中含有的化学成分较为复杂,UPLC 需要设计较长的洗脱时间才能完成样品中复杂组分的分离,实验耗时且溶剂消耗量大。UPLC-QQQ MS/MS 选择性好,专属性强,可以有效分离和定量分析芪玉三龙汤中多种化学成分。QQQ-MS/MS 的 MRM 模式通过 2 次质量筛选分别选择待测成分的准分子离子和产物离子,进而精准锁定待测组分进入质量分析器,极大提升了检测灵敏度,且降低了分离的难度,适用于中药(复方)等复杂样品中活性成分的含量测定及药代动力学研究。因此,本研究选择 UPLC-QQQ MS/MS 建立测定芪玉三龙汤中 14 个活性成分含量的方法。

3.2 指标性成分的选择

课题组前期利用 UPLC-Q TOF-MS 对芪玉三龙汤作了体内外的物质基础研究^[5-8],随后建立 10 批芪玉三龙汤的指纹图谱,以共有峰峰面积为“谱”,以抑制 A549 细胞增殖、水平迁移、立体迁移和侵袭能力为“效”,通过灰色关联度分析(GRA)、偏最小二乘回归和反向传播神经网络模型结合平均影响值算法建立谱效关系,筛选出去乙酰基车叶草苷酸、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、咖啡酸、对香豆酸、澳洲茄碱、澳洲茄边碱等为芪玉三龙汤抑制非小细胞肺癌的活性成分群^[9]。进一步以肺腺癌模型大鼠血浆中不同时间点中芪玉三龙汤共有成分为“谱”,以代谢组学获得的内源性生物标志物为“效”,通过 GRA 和典型相关分析建立谱效关系,预测出贝母辛、对香豆酸、咖啡酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮、黄芪皂苷 I 和澳洲茄胺等的代谢物为芪玉三龙汤抑制非小细胞肺癌的药效物质^[10]。

在上述通过谱效关联性分析筛选出的药效物质中,毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、黄芪甲苷、黄芪皂苷 I 来源于君药黄芪,澳洲茄碱和澳洲茄边碱来源于君药龙葵,芦丁来源于臣药泽漆,水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸和对香豆酸来源于佐

药白花蛇舌草,阿魏酸、咖啡酸来源于佐药玉竹,贝母辛来源于使药川贝母。据文献报道,黄芪甲苷通过 AMPK 信号通路诱导 M1 巨噬细胞极化^[14],芦丁阻碍 A549 细胞与胶原蛋白 I、IV 型和纤连蛋白的黏附^[15],毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷增强 p53 基因在细胞质中的表达^[16],对香豆酸、毛蕊异黄酮、澳洲茄碱和澳洲茄边碱调控 Bcl-2、Bax 等与凋亡相关蛋白的表达^[17-20],从而抑制肺癌细胞生长、侵袭、迁移与增殖扩散,诱导其凋亡;去乙酰基车叶草苷酸和水晶兰苷具有抗炎镇痛,缓解氧化应激的作用^[21-22];咖啡酸和阿魏酸具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等活性^[23-24];贝母辛具有明显的抗肿瘤活性及低毒性^[25]。因此,基于课题组前期谱效关系研究结果以及文献调研,选择水晶兰苷、澳洲茄碱、黄芪甲苷等 14 个活性成分进行含量测定,以期合理地控制芪玉三龙汤质量。

3.3 质谱条件的优化

首先分别在正负离子模式下对 14 个待测成分进行全扫描,确定各成分检测模式。实验过程中发现,负离子模式下黄芪皂苷 I 与甲酸结合生成的准分子离子峰 $[M+HCOOH-H]^-$ 比 $[M-H]^-$ 的丰度高且稳定,故选择 $[M+HCOOH-H]^-$ 作为其准分子离子峰,其余化合物选择 $[M-H]^-$ 或 $[M+H]^+$ 。然后调整去簇电压,使各成分的准分子离子峰响应最高,接着进行碰撞诱导解离反应,获得二级碎片离子;最后通过调整碰撞能量,选择信号稳定且强度较高的碎片离子作为产物离子。最终得到 14 个成分的最佳质谱参数,详见表 1。

3.4 含量测定结果分析

由芪玉三龙汤中 14 个活性成分的含量测定结果可知,水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱和阿魏酸的平均含量均达到 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上,RSD 均小于 15%,表明这些成分在复方中含量高,且批间差异小,其含量较高的原因可能是它们为白花蛇舌草、黄芪、龙葵、玉竹的主要化学成分,且上述 4 味药材在复方中的用量占比较高(分别约占芪玉三龙汤的 14.9%、22.4%、14.9% 和 7.5%)。芦丁、咖啡酸、贝母辛、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 的平均含量较低,均低于 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;其中芦丁、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和黄芪皂苷 I 的批间 RSD 均低于 15%,表明批间差异小;而咖啡酸和贝母辛的批间 RSD 分别达到 20.4% 和 34.6%,提示这 2 个成分的批间差异较

大。咖啡酸的批间差异可能与其结构中邻苯二酚结构的强还原性有关,导致其在加工与储存期间易发生氧化反应,进而含量呈现批间差异。贝母辛的批间差异可能更多与川贝母饮片产地、种植采收、加工储存等外部因素有关,通过影响生物碱的生物合成与积累,最终加剧批间含量差异。

3.5 小结

本研究建立的 UPLC-QQQ MS/MS 法快速、准确,其专属性、精密度、重复性、稳定性等均通过方法学验证,能够用于芪玉三龙汤中 14 个活性成分的含量测定,有利于控制芪玉三龙汤质量,为确保芪玉三龙汤临床用药的有效性与安全性提供了数据支撑。

参考文献

- [1] 董佳兵,高雅婷,范春雷,等. 芪玉三龙汤治疗中晚期非小细胞肺癌临床观察[J]. 新中医, 2018, 50(4): 146
TONG JB, GAO YT, FAN CL, *et al.* Clinical observation of Qiyu Sanlong decoction for non-small cell lung cancer in moderate and advanced stages[J]. *New J Tradit Chin Med*, 2018, 50(4): 146
- [2] 高雅婷,王心恒,王小乐,等. 芪玉三龙汤调节 mTOR/Beclin1/LC3 信号轴相关分子的表达诱导肺癌 A549 细胞自噬[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 98
GAO YT, WANG XH, WANG XL, *et al.* Effect of Qiyu Sanlong decoction in inducing autophagy of A549 cells by regulating molecular expression related to signal axis of mTOR-Beclin1-LC3[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2021, 27(1): 98
- [3] 刘桐,王小乐,高雅婷,等. 芪玉三龙汤药物血清对肺癌 A549 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(1): 85
LIU T, WANG XL, GAO YT, *et al.* Effects of Qiyu Sanlong decoction containing serum on proliferation and apoptosis of lung cancer A549 cells[J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2022, 29(1): 85
- [4] 焦安男,吴欢,朱洁,等. 芪玉三龙汤通过 PD-1 信号通路增强 Th1 免疫反应抑制肺癌转移[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(11): 1718
JIAO AN, WU H, ZHU J, *et al.* Qiyu Sanlong decoction enhances Th1 immune response through PD-1 signaling pathway and inhibits metastasis of lung cancer[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2022, 57(11): 1718
- [5] 黄梦文,吴欢,于伟,等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速辨识芪玉三龙汤化学成分[J]. 色谱, 2021, 39(7): 730
HUANG MW, WU H, YU W, *et al.* Rapid identification of chemical components in Qiyu Sanlong decoction by ultra high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Chin J Chromatogr*, 2021, 39(7): 730
- [6] ZHENG T, ZHAO Y, LI RJ, *et al.* The dynamic metabolic profile of Qiyu Sanlong decoction in rat urine using UPLC-QTOF-MS^E coupled with a post-targeted screening strategy[J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12(5): 755
- [7] ZHAO Y, CHEN Y, LI RJ, *et al.* An ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry method based on a four-step analysis strategy to investigate metabolites of Qiyu Sanlong decoction in rat plasma[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2023, 37(1): e9419
- [8] FU XJ, ZHENG T, LI ZG, *et al.* Metabolic profiling of Qiyu Sanlong decoction in rat feces by ultraperformance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with a post-targeted screening strategy[J]. *Biomed Chromatogr*, 2023, 37(12): e5748
- [9] HUANG MW, LI RJ, YANG M, *et al.* Discovering the potential active ingredients of Qiyu Sanlong decoction for anti-oxidation, inhibition of non-small cell lung cancer based on the spectrum-effect relationship combined with chemometric methods[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 989139. doi: 10.3389/fphar.2022.989139
- [10] 赵越. 基于内外源性代谢物关联性分析的芪玉三龙汤抑制肺腺癌药效物质基础研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2023
ZHAO Y. Study on the Pharmacodynamic Substances of Qiyu Sanlong Decoction in Inhibiting Lung Adenocarcinoma Based on the Correlation Analysis of Endogenous and Exogenous Metabolites[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2023
- [11] 张佳颖,尹艺,徐倩倩,等. UPLC-MS/MS 方法同时测定左金丸中 23 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(7): 1110
ZHANG JY, YIN Y, XU QQ, *et al.* Simultaneous determination of content of 23 components in Zuojin pills based on UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(7): 1110
- [12] 李均艳,李舒琪,刘辉,等. UPLC-MS/MS 法同时测定排石合剂中 10 个特征成分含量[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(12): 2090
LI JY, LI SQ, LIU H, *et al.* Simultaneous determination of 10 representative components in Paishi mixture by UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(12): 2090
- [13] LIU F, NONG XJ, QU WH, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of 12 major active components in normal and chronic gastritis rats after oral administration of Weikangling capsules[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 316: 116722. doi: 10.1016/j.jep.2023.116722
- [14] XU F, CUI WQ, WEI Y, *et al.* Astragaloside IV inhibits lung cancer progression and metastasis by modulating macrophage polarization through AMPK signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 1
doi: 10.1186/s13046-018-0878-0
- [15] NOURI Z, FAKHRI S, NOURI K, *et al.* Targeting multiple signaling pathways in cancer: the rutin therapeutic approach[J]. *Cancers*, 2020, 12(8): 2276
- [16] YANG B, YANG N, CHEN Y, *et al.* An integrated strategy for effective-component discovery of Astragali Radix in the treatment of lung cancer[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 580978. doi: 10.3389/fphar.2020.580978
- [17] 彭勇波,李甜甜,祝小峰,等. 对香豆酸抑制肺癌细胞增殖、迁移

- 并诱导其凋亡的机制研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2023, 42(2): 180
- PENG YB, LI TT, ZHU XF, *et al.* The mechanisms of coumaric acid inhibiting proliferation, migration and inducing apoptosis of lung cancer cells[J]. *J South Cent Minzu Univ (Nat Sci Ed)*, 2023, 42(2): 180
- [18] 刘佳芹, 周立霞, 陈文现, 等. 毛蕊异黄酮对肺腺癌 SPC-A1 细胞生长及凋亡的影响[J]. 海南医学, 2023, 34(07): 913
- LIU JQ, ZHOU LX, CHEN WX, *et al.* Effect of calycosin on proliferation and apoptosis of lung adenocarcinoma cell line SPC-A1 in nude mice[J]. *Hainan Med J*, 2023, 34(07): 913
- [19] 李龙妹, 黄锦鹏, 河文峰, 等. 龙葵提取物澳洲茄碱诱导 A549 细胞凋亡的机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(12): 1422
- LI LM, HUANG JP, HE WF, *et al.* Molecular mechanism of apoptosis induced by solasonine extracted from *Solanum nigrum* in A549 cells[J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2020, 31(12): 1422
- [20] 曹春艳, 张家祺, 张立超. 澳洲茄边碱抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(20): 2188
- CAO CY, ZHANG JQ, ZHANG LC. Research progress on antitumor effect and mechanism of solamargine[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2022, 42(20): 2188
- [21] JIANG F, XU XR, LI WM, *et al.* Monotropein alleviates H₂O₂-induced inflammation, oxidative stress and apoptosis via NF- κ B/AP-1 signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 4828
- [22] CAI MM, LIU MY, CHEN PX, *et al.* Iridoids with anti-inflammatory effect from the aerial parts of *Morinda officinalis* How[J]. *Fitoterapia*, 2021, 153: 104991. doi: 10.1016/j.fitote.2021.104991
- [23] KALTHOFF S, PAULUSCH S, RUPP A, *et al.* The coffee ingredients caffeic acid and caffeic acid phenylethyl ester protect against irinotecan-induced leukopenia and oxidative stress response[J]. *Brit J Pharmacol*, 2020, 177(18): 4193
- [24] YUE SJ, ZHANG PX, ZHU Y, *et al.* A ferulic acid derivative FXS-3 inhibits proliferation and metastasis of human lung cancer A549 cells via positive JNK signaling pathway and negative ERK/p38, AKT/mTOR and MEK/ERK signaling pathways[J]. *Molecules*, 2019, 24(11): 2165
- [25] LIN Q, QU M, PATRA HK, *et al.* Mechanistic and therapeutic study of novel anti-tumor function of natural compound imperialine for treating non-small cell lung cancer[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 247: 112283. doi: 10.1016/j.jep.2019.112283
- (本文于 2024 年 10 月 21 日收到)

《药物分析杂志》编辑部声明

本刊采用在线投稿系统, 作者稿件一经本刊审核通过, 确定录用, 可优先数字出版, 同时被中国学术期刊网络出版总库等数据库收录, 进入因特网提供信息服务, 并通过本刊在线系统等实现全文查询。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬, 不再另付。

本刊未委托其他任何机构或个人代理征收稿件, 所有稿件须登录本刊网站 (<http://www.ywfxzz.cn>) 在线投稿, 并须提交加盖公章的单位介绍信。

本刊未委托其他任何机构或个人代收任何费用, 所有收费按本刊缴费通知办理。