

消核糖浆的指纹图谱及含量测定研究[△]

李娜*, 汪潇潇, 夏婕妤, 刘宇, 邓剑泠, 陈万一[#](重庆大学附属肿瘤医院药学部, 重庆 400030)

中图分类号 R283;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)12-1457-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.12.08



摘要 **目的** 建立消核糖浆的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并测定其中10个有效成分的含量。**方法** 以12批消核糖浆为对象,采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法,以Athena C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为210 nm。色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)》建立消核糖浆指纹图谱并进行相似度评价。采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱,以0.01%甲酸乙腈-0.01%甲酸水为流动相进行梯度洗脱,流速为0.4 mL/min,结合高分辨质谱仪,以电喷雾离子源进行正负离子扫描,测定12批消核糖浆中各主要成分的含量。**结果** 12批样品共标定33个共有峰,相似度均大于0.97;确认其中10个色谱峰,分别为王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、丹酚酸B、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D;含量测定结果显示,上述10个成分在各自的质量浓度范围内线性关系良好($R^2 > 0.999$),其含量分别为0.35~0.64、3.15~5.61、0.11~0.17、1.68~3.17、1.59~1.90、1.15~1.64、0.78~1.48、0.11~0.26、0.06~0.13、0.33~0.61 mg/mL。**结论** 12批消核糖浆的主要成分相似但含量有所差异;本研究建立的HPLC指纹图谱和UPLC-MS/MS含量测定方法可用于消核糖浆的全面质量评价。

关键词 消核糖浆;指纹图谱;质量控制;含量测定;超高效液相色谱-串联质谱

Study on the fingerprint and content determination of Xiaohe syrup

LI Na, WANG Xiaoxiao, XIA Jieyu, LIU Yu, DENG Jianling, CHEN Wanyi (Dept. of Pharmacy, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of Xiaohe syrup and determine the contents of 10 effective ingredients in them. **METHODS** With 12 batches of Xiaohe syrup as samples, ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was adopted with Athena C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) as the chromatographic column, acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase for gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min, and the detection wavelength was 210 nm. *Similarity Evaluation System for Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint (2012A version)* was imported to establish the fingerprint of Xiaohe syrup and evaluate the similarity. The content determination was performed on ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) chromatographic column, with 0.01% formic acid acetonitrile-0.01% formic acid water as mobile phase for gradient elution at a flow rate of 0.4 mL/min; combined with high-resolution mass spectrometer, positive and negative ions were scanned with an electric spray ion source to determine the content of each main component in 12 batches of Xiaohe syrup. **RESULTS** A total of 33 common peaks were calibrated in 12 batches of samples, with similarities greater than 0.97; 10 chromatographic peaks were confirmed, namely flavonoid glycosides, paeoniflorin, ferulic acid, naringin, rosmarinic acid, neohesperidin, salvianolic acid B, tetrahydropalmatine, saikosaponin A, and saikosaponin D. The results of content determination showed that the above 10 components had good linear relationships within their respective mass concentration ranges (all $R^2 > 0.999$), with contents ranging from 0.35 to 0.64, 3.15 to 5.61, 0.11 to 0.17, 1.68 to 3.17, 1.59 to 1.90, 1.15 to 1.64, 0.78 to 1.48, 0.11 to 0.26, 0.06 to 0.13, and 0.33 to 0.61 mg/mL, respectively. **CONCLUSIONS** The main components of 12 batches of Xiaohe syrup are similar, but the contents vary; HPLC fingerprint and UPLC-MS/MS content determination method established in this study can be used for comprehensive quality evaluation of Xiaohe syrup.

KEYWORDS Xiaohe syrup; fingerprint; quality control; content determination; UPLC-MS/MS

[△] 基金项目 重庆市自然科学基金面上项目(No. cstc2020jcyj-msxmX0938)

* 第一作者 中药师, 硕士。研究方向: 中药药物分析。E-mail: 2433898677@qq.com

[#] 通信作者 副主任药师, 硕士生导师, 硕士。研究方向: 医院药学。E-mail: chenwanyi@cqu.edu.cn

近年来,国家高度重视传统医药的传承创新与发展,随着一系列政策的落实,中医药行业得以更好地践行惠民利民之举^[1-2]。在此背景下,医疗机构中药制剂发展势头良好。我院消核糖浆源自临床经验方,是按照传统中药制剂的制备要求研制的医疗机构制剂(备案文

号:渝药制备字Z20210006000),由夏枯草、牡蛎、昆布、丹参、莪术、枳壳、川芎、路路通、王不留行、白芍、延胡索、柴胡12味中药材组成,具有活血疏肝、散结止痛的功效,可用于治疗乳房疼痛、乳腺增生等乳腺疾病,在我院使用已有40余年,疗效确切,作用明显,患者需求量大。

在国家大力扶持和促进中医药事业发展的新形势下,医疗机构制剂的质量和稳定性也愈加受到关注。药效物质是中药发挥疗效的关键,对有效成分进行质量控制是确保中药制剂安全有效的重要环节。目前,消核糖浆质量标准仅对川芎和丹参2味中药材进行过薄层色谱鉴别及《中国药典》糖浆剂项下的常规检查,未进行系统的化学成分分析,亦未进行相关成分的含量测定,不能全面、准确地评价其质量。为保证消核糖浆质量的可控性和稳定性,亟须建立一种合理的、能全面评估其有效成分的质量评价方式,以确保其产品质量的可控性及一致性。液相色谱-质谱联用仪具有强大的数据分析和处理能力,以及精确的定性和定量分析能力,被广泛用于各种中药及制剂的研究^[3]。指纹图谱能够对中药复方制剂的化学成分进行整体表征,可以更加全面科学地反映中药制剂的质量^[4]。因此,本研究采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法建立12批消核糖浆的指纹图谱,并通过超高效液相色谱-串联质谱(ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)法测定消核糖浆中主要成分的含量,以期为消核糖浆的质量控制提供参考,为进一步完善其质量标准提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

LC-2030C型HPLC仪购自日本岛津公司(配备DAD二极管阵列检测器);ACQUITY UPLC系统、Xevo G2-XS QToF型高分辨质谱仪、UNIFI型数据处理软件、ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱均购自美国Waters公司;Athena C₁₈色谱柱购自上海安谱实验科技股份有限公司;ME204型分析天平购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 主要药品与试剂

王不留行黄酮苷、阿魏酸、新橙皮苷、丹酚酸B、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D对照品(批号分别为D1229C、D1223CS、N1103AS、O1011BS、A0407D、A1159A,纯度均≥98%)均购自大连美仑生物技术有限公司;芍药苷、柚皮苷、延胡索乙素、迷迭香酸对照品(批号分别为2230817001、2230818001、A826B021、A923E021,纯度均≥98%)均购自北京索莱宝科技有限公司;消核糖浆(编号S1~S12,批号分别为230301、230302、230303、230501、230502、230503、230504、230601、230602、221002、230901、230902,规格为每瓶250 mL)由我院制剂室提供;甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯)均购自上海麦克林

生化科技股份有限公司;磷酸为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液

精密量取消核糖浆样品(编号S11)1 mL,用甲醇稀释至2 mL,涡旋处理3 min,经0.22 μmol/L微孔滤膜滤过,取续滤液,即得指纹图谱供试品溶液。精密量取消核糖浆样品1 mL,用甲醇精密稀释至1 000 mL,经0.22 μmol/L微孔滤膜滤过,取续滤液,即得含量测定供试品溶液。

2.1.2 混合对照品溶液

精密称取王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、延胡索乙素、新橙皮苷、迷迭香酸、丹酚酸B、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D对照品各适量,加甲醇制得质量浓度分别为1.10、1.70、1.07、1.60、1.81、0.93、0.97、1.03、1.07、1.31 mg/mL的单一对照品储备液。精密量取各单一对照品储备液适量置于同一容量瓶中,定容,即得质量浓度为0.10 mg/mL的混合对照品贮备液。

2.2 消核糖浆HPLC指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件

采用Athena C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)为流动相进行梯度洗脱(0~2 min, 3%A; 2~17 min, 3%A→25%A; 17~37 min, 25%A→35%A; 37~46 min, 35%A→60%A; 46~50 min, 60%A→85%A; 50~60 min, 85%A→100%A);检测波长为210 nm;柱温为40 °C;流速为1.0 mL/min;进样量为10 μL。

2.2.2 精密度试验

取样品(编号S11),按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次测定,记录各共有峰的保留时间和峰面积。以21号峰(新橙皮苷)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.31%(n=6)和2.45%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验

取样品(编号S11),按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件于室温放置0、2、4、6、8、12、24、48 h时进样分析,记录各共有峰的保留时间和峰面积。以21号峰(新橙皮苷)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.38%(n=8)和2.81%(n=8),表明样品在48 h内稳定性良好。

2.2.4 重复性试验

取样品(编号S11)6份,分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录各共有峰的保留时间和峰面积。以21号峰(新橙皮苷)为参照峰,考察各共有峰的相对保留时间与相对峰

面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.45% ($n=6$)和2.45% ($n=6$),表明方法重复性良好。

2.2.5 指纹图谱的建立及相似度评价

取样品(编号S1~S12),按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录HPLC色谱图。将所得色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)》进行分析,以编号S11的样品图谱为参照图谱,时间窗宽度为0.2 min,采用中位数法结合多点校正,进行色谱峰匹配,生成对照指纹图谱R(图1)。结果,共标定出33个共有峰,指出其中10个色谱峰,分别为王不留行黄酮苷(8号峰)、芍药苷(11号峰)、阿魏酸(16号峰)、柚皮苷(18号峰)、延胡索乙素(19号峰)、新橙皮苷(21号峰)、迷迭香酸(23号峰)、丹酚酸B(24号峰)、柴胡皂苷A(31号峰)、柴胡皂苷D(33号峰)。以对照指纹图谱为参照,进行相似度评价(表1),结果显示,12批消核糖浆样品的相似度均大于0.97,表明各批样品所含化学成分相似,一致性较高。

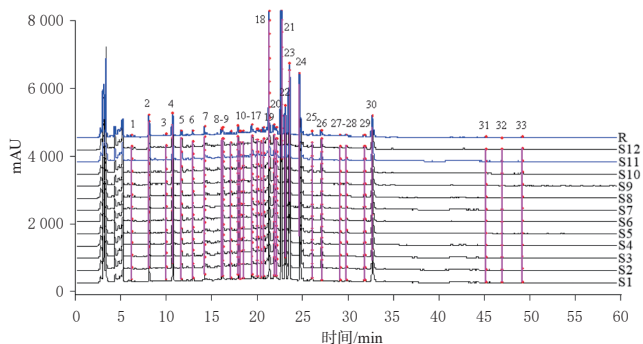
2.3 消核糖浆多指标含量测定

根据“2.2.5”项下指纹图谱结果,通过UPLC-MS/MS法对指认出的10个成分进行多成分含量测定。

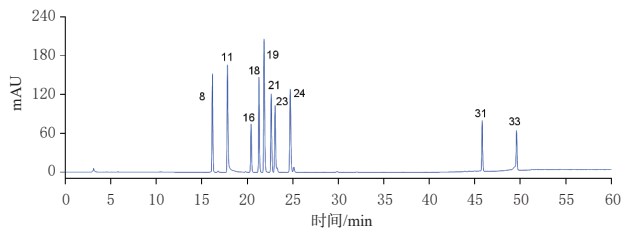
2.3.1 色谱和质谱条件

采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),以0.01%甲酸乙腈(A)-0.01%甲酸水(B)为流动相进行梯度洗脱(0~4.3 min, 5%A→30%A; 4.3~7.2 min, 30%A→80%A; 7.2~9.0 min, 80%A→95%A);柱温为50℃;流速为0.4 mL/min;进样量为2 μL。

采用Xevo G2-XS QToF型高分辨质谱仪,分别以电喷雾离子源正离子和负离子模式采集数据,毛细管电压为±3.0 kV,锥孔电压为±40 V,离子源温度为110℃,加热器温度为550℃,脱溶剂气流量为900 L/h,扫描范围 m/z 100~900,以亮氨酸脑啡肽为内标进行实时校正。



A. 12批消核糖浆的指纹图谱及对照图谱(R)



B. 混合对照品色谱图

图1 消核糖浆的HPLC色谱图

对母离子进行定量,具体信息为:王不留行黄酮苷($[M-H]^-$, $t_R=2.72$ min, m/z 725.193 4)、芍药苷($[M+HCOO]^-$, $t_R=3.09$ min, m/z 525.160 3)、阿魏酸($[M-H]^-$, $t_R=3.41$ min, m/z 193.050 6)、柚皮苷($[M-H]^-$, $t_R=3.97$ min, m/z 579.171 9)、延胡索乙素($[M-H]^-$, $t_R=4.51$ min, m/z 417.140 2)、新橙皮苷($[M-H]^-$, $t_R=4.27$ min, m/z 609.182 4)、迷迭香酸($[M-H]^-$, $t_R=3.99$ min, m/z 359.077 2)、丹酚酸B($[M-H]^-$, $t_R=4.28$ min, m/z 717.146 1)、柴胡皂苷A($[M-H]^-$, $t_R=6.38$ min, m/z 825.463 1)、柴胡皂苷D($[M-H]^-$, $t_R=6.96$ min, m/z 825.463 1),其中 t_R 为各离子的保留时间, m/z 为质荷比。

2.3.2 专属性试验

分别量取混合对照品溶液和消核糖浆供试品溶液(编号S11),按“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样测定。结果显示,供试品溶液和混合对照品溶液中10个主要成分的保留时间一致,待测成分无其他干扰,分离效果与峰形良好。部分待测成分结果见图2。

表1 12批消核糖浆样品相似度评价结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	R
S1	1	0.986	0.986	0.991	0.988	0.988	0.988	0.991	0.988	0.977	0.979	0.987	0.991
S2	0.986	1	0.999	0.994	0.993	0.993	0.992	0.993	0.993	0.988	0.982	0.990	0.996
S3	0.986	0.999	1	0.993	0.991	0.992	0.991	0.993	0.992	0.993	0.980	0.990	0.996
S4	0.991	0.994	0.993	1	0.998	0.999	0.998	0.999	0.998	0.986	0.991	0.997	0.999
S5	0.988	0.993	0.991	0.998	1	0.999	1	0.999	1	0.979	0.989	0.997	0.998
S6	0.988	0.993	0.992	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.984	0.988	0.997	0.999
S7	0.988	0.992	0.991	0.998	1	0.999	1	0.999	1	0.979	0.990	0.997	0.998
S8	0.991	0.993	0.993	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.985	0.991	0.998	0.999
S9	0.988	0.993	0.992	0.998	1	0.999	1	0.999	1	0.980	0.991	0.998	0.999
S10	0.977	0.988	0.993	0.986	0.979	0.984	0.979	0.985	0.980	1	0.970	0.984	0.988
S11	0.979	0.982	0.980	0.991	0.989	0.988	0.990	0.991	0.991	0.970	1	0.990	0.991
S12	0.987	0.990	0.990	0.997	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	0.984	0.990	1	0.998
R	0.991	0.996	0.996	0.999	0.998	0.999	0.998	0.999	0.999	0.988	0.991	0.998	1

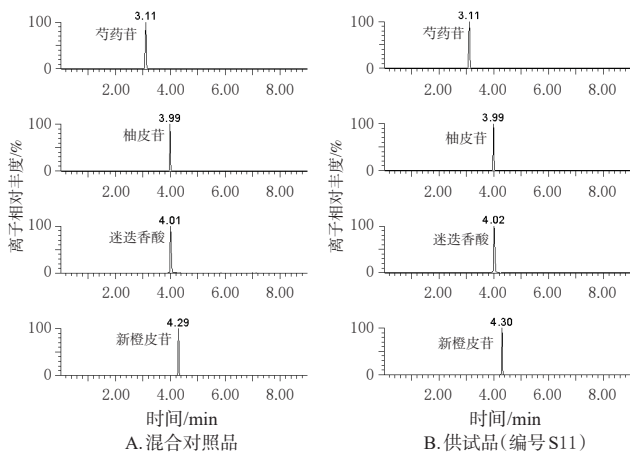


图2 部分待测成分在混合对照品和供试品(编号S11)中的提取离子流图

2.3.3 线性关系考察及定量限测定

精密量取适量的混合对照品溶液,用甲醇依次稀释得到各成分质量浓度均分别为8 000、4 000、2 000、1 000、500、250、125、62.5、31.3、15.6、7.8、3.9 ng/mL的标准曲线工作液,按照“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样分析,以各待测成分的质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,以信噪比10:1计算定量下限。结果显示,待测成分在各自的质量浓度范围内线性关系良好,灵敏度较高。结果见表2。

表2 10个待测成分的线性关系与定量限考察结果

成分	回归方程	线性范围/(ng/mL)	R ²	定量下限/(ng/mL)
王不留行黄酮苷	$y=4\,697.8x+5\,056.7$	3.9~8 000	0.999 5	1.5
芍药苷	$y=6\,115.5x-3\,446.9$	3.9~8 000	0.999 8	3.2
阿魏酸	$y=1\,232.3x-822.8$	3.9~8 000	0.999 5	3.2
柚皮苷	$y=5\,834.5x+6\,554.6$	3.9~8 000	0.999 5	2.1
迷迭香酸	$y=681.6x+30.4$	3.9~8 000	0.999 1	2.8
新橙皮苷	$y=6\,450.4x+1\,891.1$	3.9~8 000	0.999 5	2.1
丹酚酸B	$y=3\,106.8x+449.9$	3.9~8 000	0.999 3	2.8
延胡索乙素	$y=8\,840.4x-1\,638.1$	3.9~8 000	0.999 8	1.5
柴胡皂苷A	$y=8\,657.2x-3\,226.4$	3.9~8 000	0.999 5	2.5
柴胡皂苷D	$y=8\,071.5x+34\,317.1$	3.9~8 000	0.999 1	2.5

2.3.4 精密度试验

取“2.3.3”项下标准曲线工作液,按“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样分析,记录各待测成分的峰面积。结果显示,王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、丹酚酸B、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D峰面积的RSD分别为1.87%、1.70%、1.25%、1.90%、1.83%、1.52%、1.59%、1.00%、1.65%、0.45%(n=6),表明仪器的精密度良好。

2.3.5 稳定性试验

量取消核糖浆供试品溶液(编号S11),按“2.3.1”项下色谱和质谱条件于室温放置0、4、8、12、24、48 h时进样分析,记录各待测成分的峰面积,计算王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、丹酚酸B、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D峰面积的RSD分别为1.57%、1.65%、0.99%、1.86%、2.18%、1.52%、

1.97%、1.56%、1.97%、1.27%(n=6),表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验

精密量取消核糖浆(编号S11)6份,分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,按照“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样分析,记录各待测成分的峰面积,根据标准曲线计算王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、丹酚酸B、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D的平均含量分别为0.58、4.04、0.17、3.16、1.81、1.53、0.93、0.26、0.12、0.57 mg/mL,RSD分别为2.70%、1.79%、1.58%、2.10%、0.82%、2.03%、1.04%、2.09%、1.35%、1.94%(n=6),表明方法的重复性良好。

2.3.7 加样回收率试验

精密量取6份已知含量的消核糖浆供试品溶液(编号S11),分别精密加入相当于样品中各待测成分含量85%~115%的各对照品溶液,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样分析,记录各待测成分的峰面积,计算王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、丹酚酸B、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D的平均加样回收率分别为100.08%、102.86%、97.40%、99.60%、101.22%、98.05%、100.39%、97.81%、100.79%、98.75%,RSD分别为1.69%、2.75%、2.86%、2.50%、2.60%、2.47%、2.66%、2.89%、1.41%、2.71%(n=6),表明方法准确度良好。

2.3.8 样品含量测定

取12批消核糖浆,按“2.1.1”项下方法平行制备供试品溶液各2份,再按“2.3.1”项下色谱和质谱条件进样分析,记录各待测成分的峰面积,根据标准曲线计算各成分的含量。结果见表3。

表3 12批消核糖浆中10个成分的含量测定结果(mg/mL, n=2)

编号	王不留行 黄酮苷	芍药苷	阿魏酸	柚皮苷	迷迭香酸	新橙皮苷	丹酚酸B	延胡索 乙素	柴胡皂 苷A	柴胡皂 苷D
S1	0.35	3.15	0.11	1.68	1.66	1.15	0.78	0.11	0.06	0.33
S2	0.57	5.10	0.14	2.44	1.71	1.58	1.32	0.16	0.08	0.50
S3	0.61	5.59	0.15	2.58	1.90	1.64	1.48	0.17	0.09	0.56
S4	0.60	5.58	0.15	2.47	1.84	1.58	1.01	0.17	0.09	0.46
S5	0.54	4.74	0.14	2.26	1.59	1.52	0.89	0.22	0.09	0.45
S6	0.59	5.18	0.15	2.40	1.70	1.56	0.96	0.25	0.09	0.49
S7	0.52	4.77	0.14	2.31	1.61	1.52	0.90	0.22	0.10	0.49
S8	0.55	5.13	0.15	2.47	1.78	1.55	0.98	0.20	0.10	0.49
S9	0.53	4.90	0.14	2.31	1.62	1.52	0.93	0.20	0.09	0.47
S10	0.61	5.41	0.15	2.33	1.79	1.27	1.38	0.21	0.13	0.57
S11	0.58	4.10	0.17	3.17	1.85	1.56	0.93	0.26	0.12	0.57
S12	0.64	5.61	0.17	2.57	1.88	1.61	1.02	0.23	0.13	0.61

3 讨论

3.1 指标成分的选择

消核糖浆中夏枯草清火散结为君;牡蛎、昆布寒咸软坚,丹参、莪术、枳壳、川芎理气行血为臣;路路通、王不留行通络行滞,白芍柔肝,延胡索定痛为佐;柴胡疏肝

为使。12味中药共奏活血舒肝、散结止痛之效。其中，夏枯草主要含多种酚酸，具有抗炎、抗氧化等活性^[5]；丹参主要含脂溶性丹参酮类和水溶性丹参酚酸类成分，具有凉血祛瘀止痛等功效^[6]；莪术主要药效成分为挥发油，能破血行气、消积止痛，具有抗血栓、抗肿瘤、抗纤维化等作用^[7]；枳壳是临床常用理气药，主要含黄酮类和挥发油类成分，具有宽中理气、行滞消胀的作用^[8]；川芎所含酚酸类、生物碱类等成分具有很好的治疗月经不调、偏头痛等作用^[9]；路路通含萜类、挥发油等成分，临床常用于通乳、止痛、利尿^[10]；王不留行含黄酮苷、挥发油、环肽类化合物，具有活血通经、利尿通淋、下乳消肿的功效，临床常用于治疗痛经闭经、乳汁不下、乳痈肿痛等^[11]；白芍含黄酮类化合物，具有养血调经、柔肝止痛的作用，临床多用于治疗血虚萎黄、月经不调等^[12-13]；延胡索主要含生物碱类成分，现代多用于镇痛、抗焦虑、抗肿瘤等^[14]；柴胡主要含皂苷、挥发油、黄酮，能疏肝解郁、升举阳气，临床用于抗肿瘤、抗抑郁、抗纤维化等^[15]。整方在我院用于治疗乳房疼痛、乳腺增生等乳腺疾病，疗效确切。

本研究参考了相关文献中各味中药的有效成分及2020年版《中国药典》(一部)中各药味的含量测定指标成分，选择夏枯草中的迷迭香酸，枳壳中的柚皮苷、新橙皮苷，丹参中的丹参酮Ⅱ_A、丹参酮Ⅰ、丹酚酸B，路路通中的路路通酸，王不留行中的王不留行黄酮苷，川芎中的阿魏酸，白芍中的芍药苷，延胡索中的延胡索乙素，柴胡中的柴胡皂苷A、柴胡皂苷D，莪术中的吉马酮作为参考指标。但作者前期实验发现，在HPLC指纹图谱色谱峰指认时未检测到亲脂性成分丹参酮Ⅱ_A、丹参酮Ⅰ和吉马酮，进一步在UPLC-MS/MS含量测定时发现其含量极低；同时，路路通酸在前期成分定性鉴别时未检测到，故本研究未选择以上4个成分作指标性成分，最终确定迷迭香酸、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸B、王不留行黄酮苷、阿魏酸、芍药苷、延胡索乙素、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D 10个成分作为消核糖浆的指标性成分。由于消核糖浆的提取工艺为水煎煮，丹参酮Ⅱ_A、丹参酮Ⅰ和吉马酮3个成分含量过低可能是在提取过程中亲脂性成分和挥发性成分未被很好地提取和保留^[16-17]，提示本研究团队在后期研究中应进一步优化消核糖浆的传统制备工艺，以疗效为导向，寻求更合理的提取方式，以期更全面地提高其治疗效果。

3.2 检测波长的选择

本研究采用DAD二极管阵列全扫描，分析各指标成分的最大吸收波长，以期选择指纹图谱色谱峰最多、分离效果最好、基线最平稳的波长，同时兼顾柴胡中指标成分的最适波长范围^[18-19]，最终选择以210 nm作为样品指纹图谱和10个指标成分的采集波长。

3.3 12批样品的指纹图谱分析

本研究通过对12批消核糖浆的HPLC指纹图谱进行分析，共得到33个共有峰，通过比对参照图谱，确认了8、11、16、18、19、21、23、24、31、33号峰共10个色谱峰，分别为王不留行黄酮苷、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、延胡索乙素、新橙皮苷、迷迭香酸、丹酚酸B、柴胡皂苷A、柴胡皂苷D，各色谱峰匹配度较好，相似度均大于0.97，表明消核糖浆生产工艺稳定，成分一致性较好。

3.4 12批样品的指标成分含量分析

消核糖浆作为医疗机构制剂，其现有质量标准项下暂无含量测定要求，难以有效考察制剂的内部质量，限制了制剂的改进与发展。本研究采用UPLC-MS/MS法对12批消核糖浆中的10个指标成分进行了含量测定，结果显示，王不留行黄酮苷含量为0.35~0.64 mg/mL，芍药苷含量为3.15~5.61 mg/mL，阿魏酸含量为0.11~0.17 mg/mL，柚皮苷含量为1.68~3.17 mg/mL，迷迭香酸含量为1.59~1.90 mg/mL，新橙皮苷含量为1.15~1.64 mg/mL，丹酚酸B含量为0.78~1.48 mg/mL，延胡索乙素含量为0.11~0.26 mg/mL，柴胡皂苷A含量为0.06~0.13 mg/mL，柴胡皂苷D含量为0.33~0.61 mg/mL。这表明各批次间相同成分含量存在一定差异，可能因为不同批次的中药饮片原料之间存在一定的质量差异，建议加强中药饮片原料的质量把控。

综上所述，12批消核糖浆的主要成分相似但含量有所差异；本研究建立的HPLC指纹图谱能全面评价消核糖浆的整体质量，建立的UPLC-MS/MS含量测定方法能同时测定消核糖浆指纹图谱中多个指标成分的含量，可用于消核糖浆的全面质量评价。

参考文献

- [1] 黄蓓.《中共中央 国务院关于促进中医药传承创新发展的意见》重点任务分工方案印发[J]. 中医药管理杂志, 2019,27(24):2.
HUANG B. *Opinions of the Central Committee of the Communist Party of China and the State Council on Promoting the Inheritance, Innovation and Development of Traditional Chinese Medicine issued by the key task division plan*[J]. *J Tradit Chin Med Manag*, 2019,27(24):2.
- [2] 王青云.《国家药监局关于促进中药传承创新发展的实施意见》发布[J]. 中医药管理杂志, 2021,29(1):129.
WANG Q Y. *The Implementation Opinions of National Medical Products Administration on Promoting the Inheritance, Innovation and Development of Traditional Chinese Medicine was released*[J]. *J Tradit Chin Med Manag*, 2021,29(1):129.
- [3] 罗国安,王义明. 中药指纹图谱的分类和发展[J]. 中国新药杂志, 2002,11(1):46-51.
LUO G A, WANG Y M. *Classification and development*

- of TCM fingerprint[J]. Chin New Drugs J, 2002, 11(1): 46-51.
- [4] 刘祥东,梁琼麟,罗国安,等.液质联用技术在医药领域中的应用[J].药物分析杂志,2005,25(1):110-116.
LIU X D, LIANG Q L, LUO G A, et al. The application of liquid chromatography-mass spectrometry in the field of medicine[J]. Chin J Pharm Anal, 2005, 25(1): 110-116.
- [5] 武少茹,冯伟红,杨立新,等.夏枯草种子与奇亚籽、兰香子的性状、膨胀度和化学组成比较[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(2):18-26.
WU S R, FENG W H, YANG L X, et al. Comparison of character, turgidity and chemical composition of Prunellae Spica seeds, Chia seeds and Basil seeds[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(2): 18-26.
- [6] 李春霞,余洁,陆远富,等.丹参酮类心脑血管保护作用与机制的研究进展[J].中国新药与临床杂志,2016,35(8):542-546.
LI C X, YU J, LU Y F, et al. Advances in protective effects of tanshinones on cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. Chin J N Drugs Clin Remedies, 2016, 35(8): 542-546.
- [7] 张庆莲,皮凤娟,黄娟,等.三棱-莪术药对在乳腺增生症中的应用进展[J].中医研究,2023,36(4):93-96.
ZHANG Q L, PI F J, HUANG J, et al. Application progress of Sparganii Rhizoma-Curcumae Rhizoma in mammary hyperplasia[J]. Tradit Chin Med Res, 2023, 36(4): 93-96.
- [8] 江宝瑞,丁宏,王跃,等.枳壳的药理研究进展[J].云南中医中药杂志,2022,43(6):70-75.
JIANG B R, DING H, WANG Y, et al. Pharmacological research progress of Fructus Aurantii[J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2022, 43(6): 70-75.
- [9] 金玉青,洪远林,李建蕊,等.川芎的化学成分及药理作用研究进展[J].中药与临床,2013,4(3):44-48.
JIN Y Q, HONG Y L, LI J R, et al. Advancements in the Chemical constituents and pharmacological effects of Chuanxiong[J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2013, 4(3): 44-48.
- [10] 王丹,马晓宁,李艳娟,等.养生中药路路通的研究进展[J].中国疗养医学,2017,26(3):246-248.
WANG D, MA X N, LI Y J, et al. Research progress of health preserving traditional Chinese medicine of Lulutong[J]. Chin J Conval Med, 2017, 26(3): 246-248.
- [11] 金杰,肖湘.王不留行的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].中国药物经济学,2022,17(4):124-128.
JIN J, XIAO X. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of *Semen vaccariae*[J]. China J Pharm Econ, 2022, 17(4): 124-128.
- [12] 高小荣,田庚元.白芍化学成分研究进展[J].中国新药杂志,2006,15(6):416-418.
GAO X R, TIAN G Y. Active principles of *Paeonia lactiflora* Pall[J]. Chin J N Drugs, 2006, 15(6): 416-418.
- [13] 闫雪孟,刘世勇,林诚诚,等.白芍作用机制探究及质量标志物预测[J].中医药信息,2023,40(2):45-52,60.
YAN X M, LIU S Y, LIN C C, et al. Action mechanism of *Paeonia Radix alba* and its Q-marker prediction[J]. Inf Tradit Chin Med, 2023, 40(2): 45-52, 60.
- [14] 陈斯.延胡索化学成分和药理作用研究进展[J].中医药信息,2021,38(7):78-82.
CHEN S. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Corydalis Rhizoma*[J]. Inf Tradit Chin Med, 2021, 38(7): 78-82.
- [15] 李力恒,陈丽萍,胡晓阳,等.柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药学报,2023,51(2):109-112.
LI L H, CHEN L P, HU X Y, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Bupleuri Radix*[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2023, 51(2): 109-112.
- [16] 王蕾萌,龙旭,龚莉,等.丹参总黄酮提取工艺的研究进展[J].当代化工,2023,52(7):1706-1709.
WANG L M, LONG X, GONG L, et al. Research progress in the extraction process of total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza*[J]. Contemp Chem Ind, 2023, 52(7): 1706-1709.
- [17] 吴杰,冯钰,陈伟强,等.星点设计-效应面法优化莪术油中吉马酮的提取工艺[J].天然产物研究与开发,2017,29(3):497-502.
WU J, FENG Y, CHEN W Q, et al. Optimization of extraction process of germacrone from zedoary turmeric oil by central composite design and response surface methodology[J]. Nat Prod Res Dev, 2017, 29(3): 497-502.
- [18] 王永杰.HPLC-DAD同时测定柴胡口服液中2种柴胡皂苷的含量[J].微量元素与健康研究,2021,38(1):57-59.
WANG Y J. Simultaneous determination of two saikosapoinins in Chaihu oral solution by HPLC-DAD[J]. Stud Trace Elem Health, 2021, 38(1): 57-59.
- [19] 赵利军,魏娟,柳漫宇,等.HPLC法评价不同产地柴胡药材的质量[J].湖北医药学院学报,2023,42(2):127-130.
ZHAO L J, WEI J, LIU M Y, et al. Quality evaluation of *Bupleuri Radix* in different origins by HPLC[J]. J Hubei Univ Med, 2023, 42(2): 127-130.

(收稿日期:2024-01-19 修回日期:2024-04-28)

(编辑:舒安琴)