中图分类号：R932；R286.0　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)23－0088－05
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.23.019

# 基于特征性成分的肾石通颗粒中金钱草投料真实性考察*

胡　亮[1,2]，周　明[3]，王银红[1]，罗疆南[1]，孙　辉[1]，文　庆[1△]

（1. 湖南省药品检验检测研究院，湖南 长沙　410001；2. 湖南省药品审核查验中心，湖南 长沙　410001；
3. 湖南省药品审评与不良反应监测中心，湖南 长沙　410001）

**摘要：目的**　建立肾石通颗粒中广金钱草的掺伪检测方法。**方法**　以常见混伪品广金钱草中夏佛塔苷为特征性成分，采用高效液相色谱－二极管阵列检测器（HPLC－PDA）法进行筛查与含量测定，色谱柱为 Symmetry $C_{18}$ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－0.1% 磷酸溶液（10∶90，*V*/*V*），流速为 1.0 mL/min，检测波长为 340 nm，柱温为 35 ℃。采用液相色谱串联质谱（HPLC－MS/MS）法进行确证试验，色谱柱为 Ultimate LP－$C_{18}$ 柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），流动相为乙腈－10 mmol/L 乙酸铵溶液（梯度洗脱），流速为 0.2 mL/min，柱温为 30 ℃；电喷雾负离子多反应监测模式，毛细管电压为 3.5 kV，鞘气流速为 11 L/min，辅助气流速为 7 L/min，脱溶剂温度为 300 ℃，离子传输管温度为 350 ℃，以质荷比（*m*/*z*）563.0→353.0 和 563.0→383.0 为特征离子对，碰撞能量为 38 V 和 32 V。**结果**　夏佛塔苷进样量在 0.030 8～0.615 5 μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好（$R^2$=0.999 4，*n*=6）；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均低于 2.0%（*n*=6）；加样回收率为 98.57%，*RSD* 为 1.03%（*n*=6）。222 批次样品中，2 批次样品检出并确证含有夏佛塔苷，含量分别为 40.83，45.62 μg/g。**结论**　该方法重复性和稳定性好、结果准确，可作为肾石通颗粒中广金钱草掺伪投料的检测方法。

**关键词：**肾石通颗粒；金钱草；广金钱草；夏佛塔苷；掺伪；安全监测

## Investigation of the Authenticity of Lysimachiae Herba Feeding in Shenshitong Granules Based on Characteristic Components

*HU Liang[1,2], ZHOU Ming[3], WANG Yinhong[1], LUO Jiangnan[1], SUN Hui[1], WEN Qing[1]*

*(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha, Hunan, China 410001; 2. Hunan Drug Inspection Center, Changsha, Hunan, China 410001; 3. Hunan Drug Evaluation and Adverse Reaction Monitoring Center, Changsha, Hunan, China 410001)*

**Abstract: Objective**　To establish a method for detecting the adulteration of Lysimachiae Herba in Shenshitong granules. **Methods**　With schaftoside as the characteristic component in the common counterfeit product of Lysimachiae Herba, the high－performance liquid chromatography－photo diode array (HPLC－PDA) was used for screening and content determination. The chromatographic column was Symmetry $C_{18}$ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile－0.1% phosphoric acid solution (10∶90, *V*/*V*), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 340 nm, and the column temperature was 35 ℃. The high－performance liquid chromatography－tandem mass spectrometry (HPLC－MS/MS) method was used for confirmation, and the chromatographic column was Ultimate LP－$C_{18}$ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), the mobile phase was acetonitrile－10 mmol/L ammonium acetate solution (gradient elution), the flow rate was 0.2 mL/min, and the column temperature was 30 ℃. Multi reaction monitoring (MRM) mode was adopted with electrospray negative ion ($ESI^-$), the capillary voltage was 3.5 kV, the sheath gas flow rate was 11 L/min, the auxiliary gas flow rate was 7 L/min, the desolvent temperature was 300 ℃, the ion transfer tube temperature was 350 ℃, with mass charge ratio (*m*/*z*) 563.0→353.0 and 563.0→383.0 as the characteristic ion pair, and the collision energies were 38 V and 32 V, respectively. **Results**　The linear range of schaftoside was 0.030 8－0.615 5 μg ($R^2$=0.999 4, *n*=6). The *RSD*s of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0% (*n*=6). The recovery rate of schaftoside was 98.57% with an *RSD* of 1.03% (*n*=6). Among the 222 batches of samples, schaftoside was detected and identified in two batches, with contents of 40.83 μg/g and 45.62 μg/g, respectively. **Conclusion**　This method is reproducible, reliable and accurate, which can be used as the detection method for the adulteration of Lysimachiae Herba in Shenshitong Granules.

**Key words:** Shenshitong Granules; Lysimachiae Herba; Desmodii Styracifolii Herba; schaftoside; adulteration; safety monitoring

肾石通颗粒由金钱草、王不留行、丹参、萹蓄、延胡索、鸡内金、木香、牛膝、瞿麦和海金沙10味中药材组方[1－3]，有清热利湿、活血止痛、化石、排石功效。现行质量标准为《卫生部药品标准：中药成方制剂（第二册）》，

*基金项目：湖南省自然科学基金[2022JJ80008]。

第一作者：胡亮，硕士，主管药师，研究方向为药品质量标准，（电子信箱）530289007@qq.com。

△通信作者：文庆，大学本科，副主任药师，研究方向为药品质量标准，（电子信箱）28129517@qq.com。

包括性状和检查项[4]。方中，金钱草为君药，具有利湿退黄、利尿通淋功效。中药材存在同名异物现象，目前市场上的常见混伪品为广金钱草，其质量标准载于2020年版《中国药典（一部）》。金钱草与广金钱草的功能与主治基本一致，其中金钱草为报春花科植物过路黄 *Lysimachia christinae* Hance 的干燥全草[5]229，广金钱草为豆科植物广金钱草 *Desmodium styracifolium*（Osb.）Merr. 的干燥地上部分[5]46。2020年版《中国药典（一部）》金钱草项下含量测定为其水解产物山柰酚和槲皮素[5]229，金钱草药材主要含酚酸、脂肪酸、黄酮类等化学成分[6-11]，未见相关指标性成分的报道。广金钱草药材主要含黄酮、三萜甾类、多糖类等成分[12-14]，2020年版《中国药典（一部）》广金钱草项下含量测定指标性成分为夏佛塔苷，规定“本品按干燥品计算，含夏佛塔苷（$C_{26}H_{28}O_{14}$）不得少于0.13%”[5]46。本研究中选择广金钱草中的特征性成分夏佛塔苷为指标，考察肾石通颗粒中金钱草药材投料的真实性。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity Ⅱ - 6470 型高效液相色谱 - 质谱联用仪（美国 Agilent 公司）；Waters e2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司），配有 Waters 2998 型光电二极管阵列（PDA）检测器；Mettler AE240 型电子天平（精度为万分之一），XSE205DU 型电子天平（精度为十万分之一），购于瑞士 Mettler Toledo 公司；KQ500DE 型超声仪（昆山市超声仪器有限公司，功率为 500 W，频率为 40 kHz）。

### 1.2 试药

夏佛塔苷对照品（批号为 111912 - 201703，纯度为 95.6 %），金钱草对照药材（批号为 121187 - 201403），广金钱草对照药材（批号为 121248 - 202006），均购于中国食品药品检定研究院；乙腈（色谱纯，赛默飞世尔科技 < 中国 > 有限公司）；其他试剂均为分析纯；肾石通颗粒（共 222 批次，源于国家药品监督管理局肾石通颗粒品种抽验样品，涉及 25 家生产企业共 4 个规格，其中含糖型颗粒 181 批次、无糖型颗粒 41 批次）。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱与质谱条件

#### 2.1.1 色谱条件

筛查与含量测定：色谱柱为 Symmetry $C_{18}$ 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈 - 0.1% 磷酸溶液（10∶90，*V* / *V*）；流速为 1.0 mL / min；检测波长为 340 nm；柱温为 35 ℃；进样量为 10 μL。

确证：色谱柱为 Ultimate LP - $C_{18}$ 柱（100 mm × 2.1 mm，1.8 μm）；流动相为乙腈（A）- 10 mmol / L 乙酸铵溶液（B），梯度洗脱（0 ~ 1.5 min 时 20%A，1.5 ~ 8 min 时 20%A → 90%A，8 ~ 9 min 时 90%A，9 ~ 9.5 min 时 90%A → 20%A）；流速为 0.2 mL / min；柱温为 30 ℃。

#### 2.1.2 质谱条件

离子源：电喷雾电离（ESI）；扫描模式：负离子扫描；检测方式：多重反应监测（MRM）模式；干燥气：氮气；毛细管电压：3.5 kV；鞘气流速：11 L / min；辅助气流速：7 L / min；脱溶剂温度：300 ℃；离子传输管温度：350 ℃；数据采集时间：1 ~ 8 min；定量离子对质荷比（*m* / *z*）563.0 → 353.0，定性离子对 *m* / *z* 563.0 → 383.0；碰撞能量：38 V 和 32 V。

### 2.2 溶液制备

供试品溶液：取样品适量，研细，取 10 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 80% 甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声提取 40 min，放冷，再称定质量，用 80% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

对照品溶液：取夏佛塔苷对照品 10.73 mg，精密称定，置 100 mL 容量瓶中，加 80% 甲醇溶解并定容，摇匀，得对照品贮备溶液（质量浓度为 102.578 8 μg / mL）。精密量取对照品贮备溶液 3 mL，置 10 mL 容量瓶中，加 80% 甲醇定容，摇匀，即得对照品溶液（质量浓度为 30.773 μg / mL）。

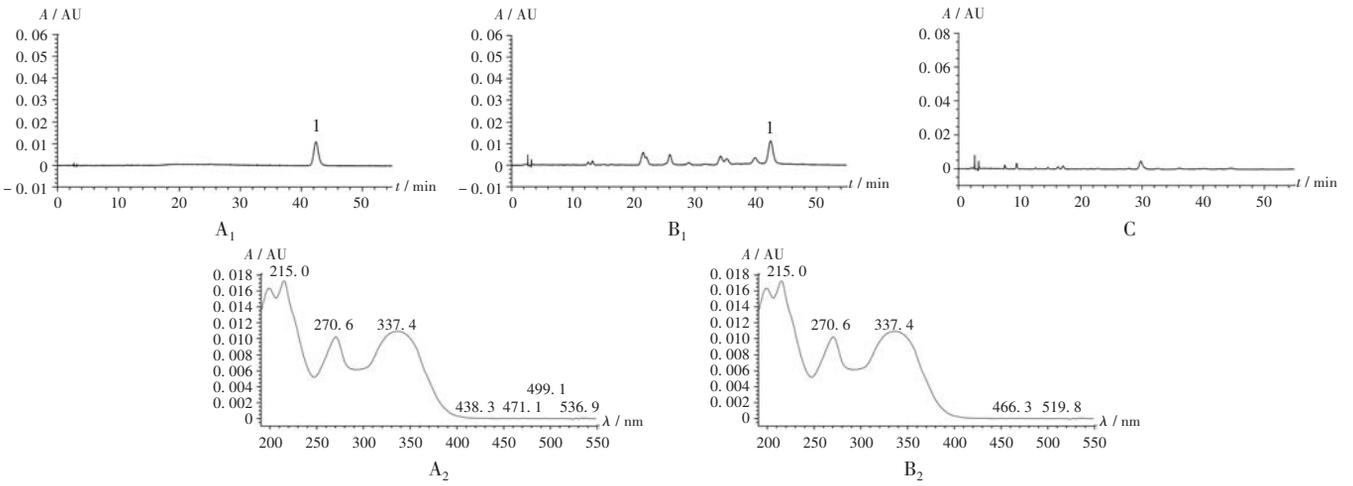
对照药材溶液：取金钱草对照药材和广金钱草对照药材各 2 g，分别加水 50 mL，煎煮 30 min，放冷，滤过，滤液蒸至近干，精密加入 80% 甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声提取 40 min，放冷，再称定质量，用 80% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

阴性对照品溶液：按处方工艺称取除金钱草外的各药材，按工艺提取，同法制备缺金钱草的阴性对照品溶液。

### 2.3 HPLC - PDA 法筛查

取 2.2 项下对照品溶液、对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量，按 2.1 项下液相筛查色谱条件进样测定。结果显示，广金钱草对照药材溶液在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相同色谱峰出现，且其紫外吸收光谱与对照品溶液一致，金钱草对照药材溶液中未检出夏佛塔苷（图 1）；供试品溶液色谱中出现与对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且其紫外吸收光谱一致，阴性对照品溶液中未检出夏佛塔苷（图 2），表明分离度满足试验要求，方法基本可行。

本研究中共筛查 222 批次样品，其中 2 批次样品中检出夏佛塔苷色谱峰，且供试品溶液（批号为 200414）于 200 ~ 550 nm 波长范围内的紫外吸收光谱与对照品溶液基本一致。上述 2 批次样品均集中于一家企业，故收集该企业的 12 批次样品，其中 2 批次检出夏佛塔苷，




1. 夏佛塔苷

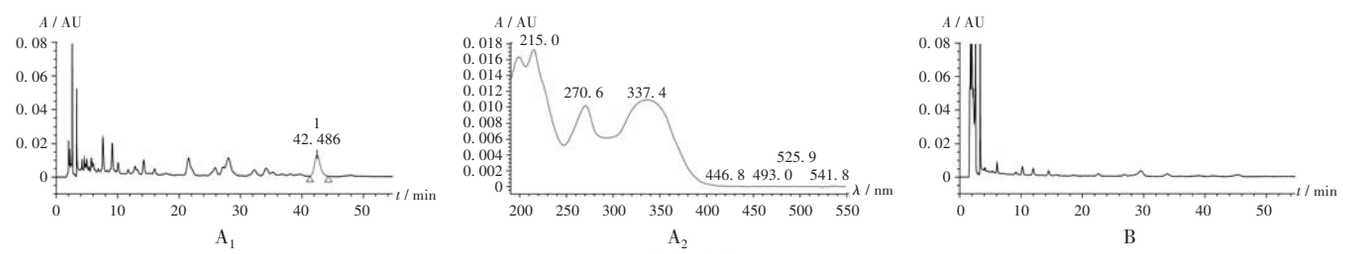
$A_1$, $A_2$. 对照品溶液　$B_1$, $B_2$. 广金钱草对照药材溶液　C. 金钱草对照药材溶液

**图 1　专属性试验高效液相色谱 - 二极管阵列检测器图**

1. Schaftoside

$A_1$, $A_2$. Reference solution　$B_1$, $B_2$. Reference medicinal solution of Desmodii Styracifolii Herba　C. Reference medicinal solution of Lysimachiae Herba

**Fig. 1　HPLC - PDA chromatograms of the specificity test**




1. 夏佛塔苷

$A_1$, $A_2$. 供试品溶液（批号为 200414）　B. 阴性对照品溶液

**图 2　样品筛查高效液相色谱 - 二极管阵列检测器图**

1. Schaftoside

$A_1$, $A_2$. Test solution (batch number: 200414)　B. Negative reference solution

**Fig. 2　HPLC - PDA chromatograms of sample screening**

检出率为 16. 67%。

### 2. 4　高效液相色谱串联质谱（HPLC - MS / MS）法确证

取 2. 2 项下对照品溶液和供试品溶液（批号分别为 200414 和 191001），按 2. 1 项下液质确证色谱条件进样测定。结果 2 批次阳性样品均检出夏佛塔苷，且其相应提取离子流色谱图与对照品溶液一致。详见图 3。

### 2. 5　HPLC 法测定含量

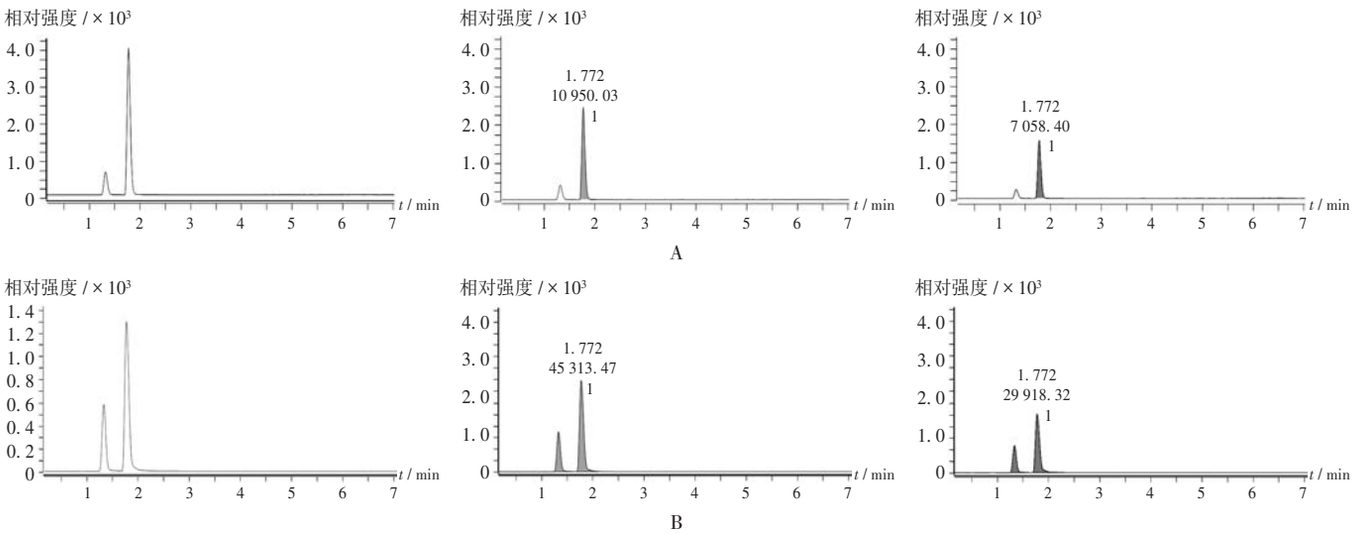
2. 5. 1　*方法学考察*

线性关系考察与检测限和定量限确定：取 2. 2 项下对照品溶液 1 mL，置 10 mL 容量瓶中，加 80% 甲醇定容，摇匀，即得质量浓度为 30. 773 μg / mL 的溶液，精密吸取 1，2，5，10，15，20 μL，注入液相色谱仪，以峰面积积分值（$Y$）为纵坐标、进样量（$X$，μg）为横坐标进行线性回归，得回归方程 $Y = 2\,209.6\,X - 14\,909$（$R^2 = 0.999\,4$，$n = 6$），表明夏佛塔苷进样量在 0. 030 8 ~ 0. 615 5 μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好。取 2. 2 项下对照品溶液，用 80% 甲醇逐级稀释，按 2. 1 项下色谱条件进样测定，分别以信噪比为 3∶1 和 10∶1 的质量浓度计算检测限和定量限，结果分别为 7. 07 ng 和 23. 58 ng。

精密度试验：精密吸取 2. 2 项下对照品溶液（质量浓度为 30. 773 μg / mL），按 2. 1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果的 *RSD* 为 0. 33%（$n = 6$），表明仪器精密度良好。

重复性试验：取样品（批号为 200414）适量，按 2. 2 项下方法制备供试品溶液，平行 6 份，按 2. 1 项下色谱条件进样测定。结果样品中夏佛塔苷平均含量为 40. 83 μg / g，*RSD* 为 1. 72%（$n = 6$），表明方法重复性良好。

稳定性试验：取重复性试验项下供试品溶液，于室温下放置 0，2，8，12，18，24 h 时分别按 2. 1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果的 *RSD* 为 1. 79%（$n = 6$），表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。




1. 夏佛塔苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液（批号为 200414）

**图 3 样品筛查高效液相色谱串联质谱图**

1. Schaftoside

A. Reference solution B Test solution (batch number: 200414)

**Fig. 3 HPLC - MS / MS chromatograms of sample screening**

加样回收试验：取已知含量的样品（批号为 200414，夏佛塔苷含量为 40. 83 μg / g）5 g，精密称定，共 6 份，置容量瓶中，精密加入 2. 2 项下对照品贮备液（质量浓度为 102. 578 8 μg / mL）2 mL，按供试品溶液制备项下“密塞，……”制备溶液。结果见表 1。

**表 1 加样回收试验结果（$n = 6$）**

**Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)**

| 取样量(g) | 样品含量(μg) | 加入量(μg) | 测得量(μg) | 回收率(%) | $\bar{X}$(%) | RSD(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5. 015 9 | 204. 81 | 205. 15 | 409. 70 | 99. 87 | 98. 57 | 1. 03 |
| 5. 012 3 | 204. 66 | 205. 15 | 408. 10 | 99. 17 | | |
| 5. 151 3 | 210. 34 | 205. 15 | 411. 99 | 98. 29 | | |
| 5. 045 9 | 206. 03 | 205. 15 | 406. 66 | 97. 80 | | |
| 5. 182 6 | 211. 61 | 205. 15 | 410. 84 | 97. 11 | | |
| 5. 106 9 | 208. 52 | 205. 15 | 411. 95 | 99. 16 | | |

2. 5. 2 样品含量测定

取样品（批号分别为 200414，191001）适量，按 2. 2 项下方法制备供试品溶液，按 2. 1 项下色谱条件进样测定，结果 2 批样品中夏佛塔苷含量为 40. 83 μg / g 和 45. 62 μg / g。

## 3 讨论

### 3. 1 测定波长选择

精密吸取对照品溶液（质量浓度为 30. 773 μg / mL）10 μL，注入高效液相色谱仪，用 PDA 检测器进行紫外光谱扫描。结果夏佛塔苷于 337. 4 nm 波长处吸收最大，故选择 340 nm 为检测波长。

### 3. 2 样品提取方式考察

考察了不同提取溶剂（甲醇、80% 甲醇、50% 甲醇、乙醇、80% 乙醇、50% 乙醇）的提取率，发现 50% 甲醇和 50% 乙醇中含有较多蔗糖等辅料，且过滤困难，不宜采用；用 80% 甲醇提取时夏佛塔苷含量最高。最终选择 80% 甲醇为提取溶剂。考察了不同提取方式（超声提取、加热回流提取）、不同提取时间（30，40，50 min）对样品的提取效果，最终确定供试品处理方法为 80% 甲醇超声处理 40 min。

### 3. 3 夏佛塔苷指标性成分考察

曾采用薄层色谱（TLC）法对肾石通颗粒中夏佛塔苷成分进行考察。结果不同处理方法得到的供试品溶液与阴性对照均有干扰，未能建立相应的检测方法，可能与本品为中药复方制剂、药味较多、成分复杂、采用水煎煮生产工艺等因素有关。222 批次样品中检出 2 批次阳性样品，且均来自同一企业（含糖型，批号分别为 200414，191001，规格为每袋 15 g），可能存在广金钱草掺伪或以广金钱草替代金钱草投料生产的情况。分析其原因可能为中药材采购与验收人员的专业知识不够全面，导致部分生产企业将广金钱草当作金钱草进行投料，生产企业作为药品质量第一责任人需进一步提高质量控制意识。

### 3. 4 方法评价

本研究中建立了肾石通颗粒中广金钱草的掺伪检测方法，以夏佛塔苷为特征性成分，采用 HPLC - PDA 法进行初步筛查，通过 HPLC - MS / MS 法进行确证。所建立的方法可快速监测成方制剂中掺伪掺假现象，保障人民群众用药安全，为药品监管提供技术支持。