中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2024)12－0078－07
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2024.12.018

九味肝泰胶囊的化学成分鉴定及 10 种指标成分含量测定

谢　雪，朱　平，吕　磊，凌水花，鲍蕾蕾△

（中国人民解放军海军军医大学第三附属医院，上海　200438）

摘要：目的　鉴定九味肝泰胶囊的化学成分，同时测定制剂中 10 种指标成分的含量。**方法**　查阅 TCMSP、ChemSpider、中国知网、PubMed 等数据库中的相关文献，收集制剂的核心化学成分 181 个，采用 Agilent “formula－database generator”软件建立化学成分数据库，采用高效液相色谱－飞行时间质谱联用法鉴定制剂的化学成分；采用超高效液相色谱串联质谱法测定制剂中 10 种指标成分的含量。**结果**　共鉴定出 45 种化学成分。姜黄素在 1～50 ng/mL，大黄酚、大黄素、吉马酮、五味子醇甲、五味子甲素在 200～10 000 ng/mL，尿囊素、黄芩苷、人参皂苷 Rg_1、三七皂苷 R_1 在 1 000～50 000 ng/mL 质量浓度范围内与待测成分和内标峰面积比值线性关系良好（r 均大于 0.999 0），定量限分别为 0.05，10，0.5，10，0.05，0.05，0.05，0.5，0.5，5，10 ng/mL，检测限分别为 0.01，1，0.25，1，0.01，0.01，0.01，0.1，0.1，1 ng/mL；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 5.0%；平均加样回收率为 98.13%～102.64%，*RSD* 为 0.54%～4.10%（$n=6$）。**结论**　该方法快速简便，可用于九味肝泰胶囊的化学成分鉴定和指标成分含量测定。

关键词：九味肝泰胶囊；成分鉴定；含量测定；质量控制；高效液相色谱－飞行时间质谱联用法；超高效液相色谱串联质谱法

Chemical Component Identification in Jiuwei Gantai Capsules and Content Determination of 10 Indicator Components

XIE Xue, ZHU Ping, LYU Lei, LING Shuihua, BAO Leilei

(The Third Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai, China　200438)

Abstract: Objective　To identify the chemical components of Jiuwei Gantai Capsules and determine the contents of 10 indicator components in the preparation. **Methods**　Based on the TCMSP, ChemSpider, CNKI and PubMed databases, 181 core chemical components of the preparation were collected, and a chemical component database was established by the Agilent "formula－database generator" software. The chemical components of the preparation were identified by the high－performance liquid chromatography time－of－flight tandem mass spectrometry (HPLC－TOF/MS) method, the contents of 10 indicator components in the preparation were determined by the ultra－high－performance liquid chromatography－tandem mass spectrometry (UPLC－MS/

第一作者：谢雪，女，大学本科，中药师，研究方向为药事管理、中药成分鉴定，（电子信箱）xx_1374@163.com。
△**通信作者：**鲍蕾蕾，女，博士，副主任药师，研究方向为个体化给药及肿瘤临床新药研发，（电子信箱）annabao212@126.com。

[2] 裴　彤，郜　丹，王春华，等. 吲达帕胺片的药动学和生物等效性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学，2019，24(9)：1009－1014.
[3] 张政军，马永付，朱　慧，等. HPLC 法同时测定吲达帕胺中 11 种有关物质的含量[J]. 沈阳药科大学学报，2022，39(4)：380－386.
[4] 周　婕，刘　倩，闫　振，等. 纤维素键合手型柱拆分分析吲达帕胺对映体[J]. 郑州大学学报(理学版)，2013，45(2)：95－97.
[5] DU B, PANG L, LI HY, et al. Chiral liquid chromatography resolution and stereoselective pharmacokinetic study of indapamide enantiomers inrats[J]. Journal of Chromatography B, 2013, 932: 88－91.
[6] 张少敏，金　蕨，张晨晗，等. 超临界流体色谱法拆分阿托伐他汀钙及其对映异构体杂质[J]. 中国药学杂志，2018，53(21)：1856－1860.
[7] 张晨晗，金　蕨，张少敏，等. 超临界流体色谱法分析桂利嗪中的有关物质[J]. 中国药学杂志，2018，53(18)：1603－1607.
[8] 唐登峰，马临科，龚　青，等. CO_2 超临界流体色谱法同时测定莪术油中 3 个倍半萜类成分的含量[J]. 中国现代应用药学，2019，36(20)：2539－2542.
[9] 唐登峰，黄琴伟，周　颖，等. CO_2 超临界流体色谱法建立片姜黄指纹图谱检查方法的研究[J]. 中国现代应用药学，2019，36(18)：2285－2289.
[10] 陈　瀚，庾莉菊，周露妮，等. 超临界流体色谱法快速测定甲酚皂溶液中 3 个甲酚异构体含量[J]. 药物分析杂志，2022，42(5)：789－794.
[11] 李依璠，刘龙婵，李林楠，等. 手性分离方法及在中药手性成分研究中的应用[J]. 药学学报，2023，58(6)：1566－1576.
[12] 邓巧玉，江　姗，陈誉丹，等. 超临界二氧化碳萃取技术在中药领域的应用进展[J]. 中国药业，2020，29(17)：1－5.
[13] YANG WZ, ZHANG YB. Supercritical fluid chromatography for separation and preparation of tautomeric 7－epimeric spiro oxindole alkaloids from uncariamacrophylla [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 134: 352－360.
[14] 滕怀凤，李尚颖，张　迪，等. 羧甲基－β－环糊精为手性剂拆分 3 种碱性药物对映体[J]. 中国药师，2012，15(6)：772－774.
[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：589.

（收稿日期：2023－09－25；修回日期：2024－01－27）

MS) method. **Results** A total of 45 chemical components were identified. The linear range of curcumin was 1 - 50 ng / mL, that of chrysophanol, emodin, germacrone, schisandrin and deoxyschizandrin was 200 - 10 000 ng / mL, that of allantoin, baicalin, ginsenoside Rg_1 and notoginsenoside R_1 was 1 000 - 50 000 ng / mL (r > 0.999 0). The limits of quantification of the above 10 components were 0.05, 10, 0.5, 10, 0.05, 0.05, 0.05, 0.5, 0.5, 10 ng / mL respectively, and their limits of detection were 0.01, 1, 0.25, 1, 0.01, 0.01, 0.01, 0.1, 0.1, 1 ng / mL respectively. The *RSD*s of precision, stability and repeatability tests were all lower than 5.0%. The recovery rates of the above 10 components were in the range of 98.13% to 102.64%, with the *RSD*s in the range of 0.54% to 4.10% (n = 6). **Conclusion** This method is fast and simple, which can be used for the identification of chemical components and content determination of indicator components in Jiuwei Gantai Capsules.

Key words: Jiuwei Gantai Capsules; component identification; content determination; quality control; HPLC - TOF / MS; UPLC - MS / MS

九味肝泰胶囊由三七、郁金、蒺藜、姜黄、大黄、黄芩、蜈蚣、山药、五味子9味中药组方[1]，收录于2020年版《中国药典(一部)》，有化瘀通络、疏肝健脾功效，可用于治疗气滞血瘀兼肝郁脾虚所致胁肋痛或刺痛、抑郁烦闷、食欲不振、食后腹胀脘痞、大便不调、或胁下痞块等证。该药为临床常用肝病治疗药物，单用可改善肝功能，能较好地改善慢性乙型肝炎引起的乙型肝炎病毒(HBV)标志物水平升高[1]；与其他药物联用时，可降低HBV DNA定量水平，从而减缓慢性乙型肝炎向肝纤维化和肝硬化转化，且安全性良好[2-4]。该制剂现有标准仅包括大黄素、大黄酚、五味子醇甲的高效液相色谱含量测定[5]，相对于其他保肝中药，指标较少。高效液相色谱-飞行时间质谱联用(HPLC-TOF/MS)法在中药研究领域具有分析时间短、专属性强、灵敏度高的优势。为此，本研究中运用该技术快速鉴别出九味肝泰胶囊中45种化学成分，并用超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定了其中10种指标性成分的含量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1100型高效液相色谱仪、Agilent 1290型超高效液相色谱仪、Agilent 6220型高分辨飞行时间质谱仪、Agilent 6470型三重四极杆质谱仪(美国Agilent公司)；125D-1CN型电子天平(德国Sartorius公司，精度为0.1 mg)；ST-40R型低温离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司)；Vortex-5型涡旋仪(海门其林贝尔仪器制造有限公司)；PW-UV/VF型超纯水系统(力康生物医疗科技控股有限公司)；SB3200-T型超声机(必能信超声上海有限公司)。

1.2 试药

九味肝泰胶囊(湖南新汇制药股份有限公司，批号分别为211207112，221002000，221103033)；对照品尿囊素(批号为S10A6G1)、三七皂苷R_1(批号为M29GB150096)、人参皂苷Rg_1(批号为C27N11Q132589)、黄芩苷(批号为N15GB167969)、五味子醇甲(批号为J10GB151241)、姜黄素(批号为M13GB148382)、大黄素(批号为T17011F127680)、大黄酚(批号为T12N11F130577)、吉马酮(批号为D02D11S132892)、五味子甲素(批号为J10GB151096)，均购自上海源叶生物科技有限公司，含量均大于98.0%；对照品甲苯磺丁脲(IS，上海阿拉丁生化科技股份有限公司，批号为I1820190，含量大于99%)；乙腈、甲酸为质谱纯，甲醇为色谱纯，水为实验室自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件：色谱柱为Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C_{18}柱(50 mm×2.1 mm，1.9 μm)；流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)，梯度洗脱(成分鉴定，0~5 min时5%A → 15%A，5~15 min时15%A → 35%A，15~30 min时35%A → 70%A，30~40 min时70%A；含量测定，0~3.5 min时10%A → 90%A，3.5~5 min时90%A)；流速为0.4 mL/min；柱温为25 ℃；进样量为2 μL。

质谱条件：1)成分鉴定。采用电喷雾离子源(ESI)，正负离子模式，毛细管电压为4 000 V(+)/3 500 V(-)，干燥气温度为350 ℃，干燥气流速为10 L/min，雾化器压力为40 psi，碎片电压为180 V，扫描范围为m/z 100~1 100。2)含量测定。采用带有安捷伦喷射流技术的电喷雾离子源(AJS-ESI)，正负离子模式，毛细管电压为4 000 V(+)/3 500 V(-)，干燥气温度为350 ℃，干燥气流速为10 L/min，雾化器压力为40 psi，鞘气温度为350 ℃，鞘气流速为11 L/min。多反应监测(MRM)模式，参数见表1。

2.2 溶液制备

对照品溶液：取尿囊素、三七皂苷R_1、人参皂苷Rg_1、黄芩苷、五味子醇甲、姜黄素、大黄素、大黄酚、吉马酮、五味子甲素对照品各2.0 mg，精密称定，分别置2 mL容量瓶中，加甲醇溶解，涡旋混匀，制成质量浓度为1.0 mg/mL的单一对照品贮备液；各取适量，混合，稀释至1，2.5，5，10，25，50倍，即得姜黄素质量浓度为50，20，10，5，2，1 ng/mL，大黄酚、大黄素、吉马酮、五味子醇甲、五味子甲素质量浓度为10 000，4 000，2 000，1 000，400，200 ng/mL，尿囊素、黄芩苷、三七皂苷R_1、人参皂苷Rg_1质量浓度为50，20，10，5，2，1 μg/mL的系列混合对照品溶液。取甲

表 1 质谱多反应监测参数

Tab. 1 Parameters of mass spectrometry with multiple reaction monitoring mode

化学成分	质荷比(m/z)	碎片电压(V)	碰撞能(eV)	化学成分	质荷比(m/z)	碎片电压(V)	碰撞能(eV)
尿囊素	159.0→79.0	60	9	IS(正)	271.0→91.0	90	37
黄芩苷	447.0→271.1	132	29	三七皂苷R_1	931.5→637.5	195	41
五味子醇甲	433.2→415.2	98	9	人参皂苷Rg_1	845.4→799.5	200	25
姜黄素	369.1→177.0	127	25	大黄素	269.0→225.0	175	29
吉马酮	219.1→91.1	94	45	大黄酚	253.0→225.0	185	33
五味子甲素	417.2→316.2	136	25	IS(负)	269.0→169.9	108	17

苯磺丁脲对照品适量，精密称定，加甲醇溶解，制成质量浓度为 1 μg / mL 的 IS 溶液。

供试品溶液：取样品内容物 1 g（过 40 目筛），精密称定，置 100 mL 烧瓶中，加 50% 甲醇 50 mL，超声（功率 2.0 kW、频率 50 kHz）处理 30 min，冷却至室温，用 50% 甲醇补足减失的质量，摇匀，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，加 50% 甲醇稀释至 10 倍，即得供试品溶液。

2.3 成分鉴定

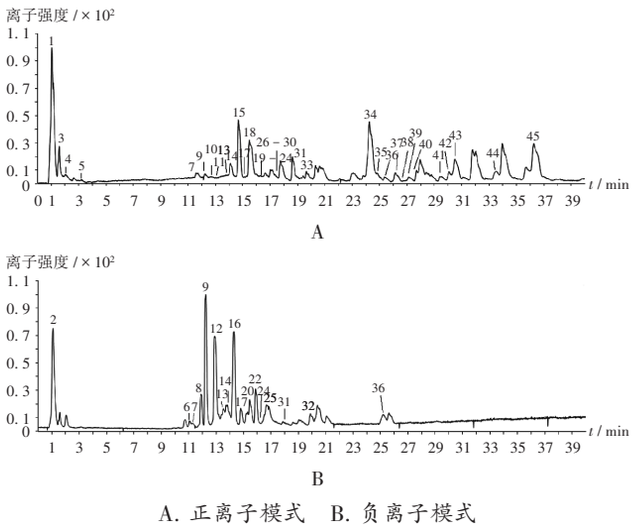
化学成分数据库建立：查阅 TCMSP 数据库（https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）、ChemSpider 数据库（http://www.chemspider.com/），并结合中国知网、PubMed 等数据库相关文献，收集九味肝泰胶囊核心化学成分共 181 个。采用 Agilent “formula-database generator”软件，建立了包括化学成分名称、分子式、相对分子量、准分子离子峰相对分子量的数据库。

九味肝泰胶囊总离子流图：取 2.2 项下供试品溶液适量，按 2.1 项下试验条件进样测定，得制剂总离子流图。详见图 1。

化学成分鉴定：以 14 号峰原薯蓣皂苷为例说明。保留时间为 14.5 min 的色谱图中，正负离子模式下的准分子离子分别为 1 049.552 7，1 047.538 1，在 2 种模式下分别对应$[M+H]^+$和$[M-H]^-$。利用 Qualiative Analysis 数据分析软件的计算工具（calculator）计算精确质量数的可能元素组成（误差 $<5\times10^{-6}$），推算分子式为 $C_{51}H_{84}O_{22}$，与数据库中已知化学成分对比，故确定此峰为原薯蓣皂苷。详见图 2。

化学成分验证：以 14 号峰原薯蓣皂苷为例说明。色谱图中保留时间为 14.5 min 的色谱峰，其推算元素组成为 $C_{51}H_{84}O_{22}$，计算其正负 2 种模式下的同位素分布情况，与实际情况进行比对（见图 3），同位素分布的理论值（方框所示）与实际值（方框内峰所示）吻合良好，故确定此峰为原薯蓣皂苷。

鉴定结果：根据测得的精确分子量，比对所建数据库，应用 Qualiative Analysis 质谱分析软件计算分子组成及同位素分布，将理论值与实测值进行比对，结合上述同分异构体鉴定结果，对九味肝泰胶囊在正离子和负离子模式下所得色谱图中色谱峰进行分析，初步鉴定出 45 个化学成分，结果见表 2。

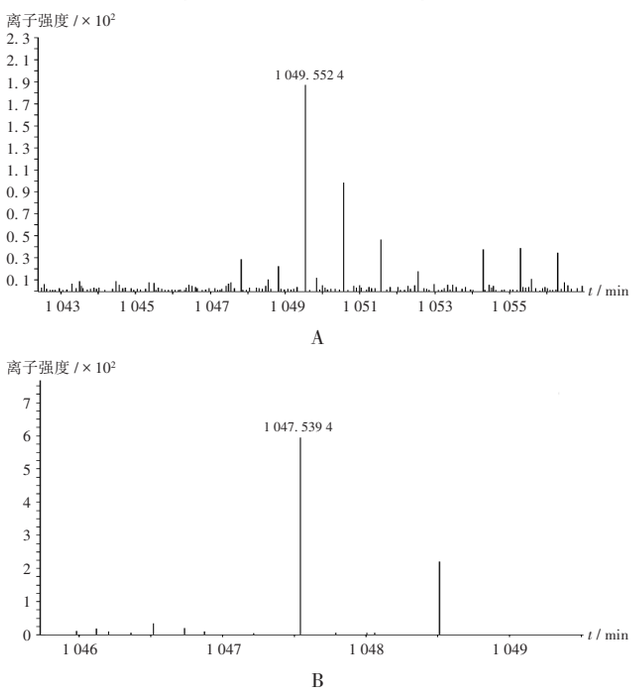


A. 正离子模式 B. 负离子模式

图 1 总离子流图

A. Positive ion mode B. Negative ion mode

Fig. 1 Total ion chromatograms



A. 正离子模式 B. 负离子模式

图 2 14 号峰的精确质量数棒图

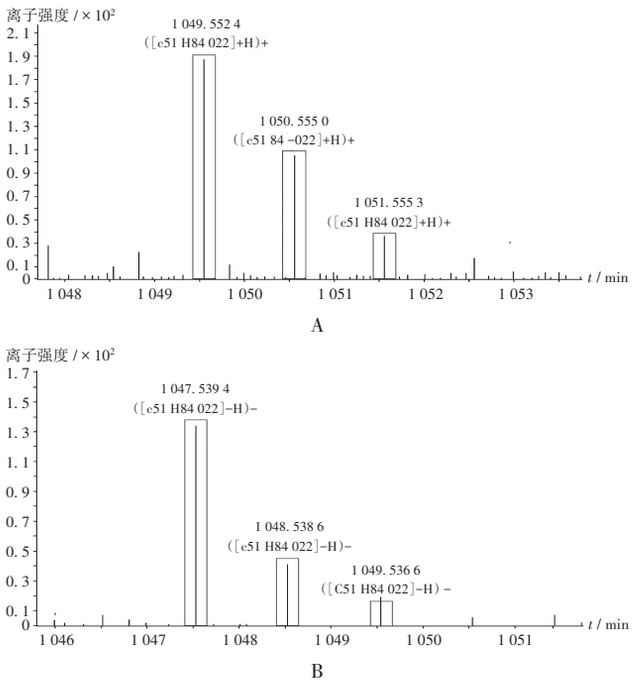
A. Positive ion mode B. Negative ion mode

Fig. 2 Bar graph of peak 14 based on accurate mass

2.4 含量测定

2.4.1 方法学考察

专属性考察与系统适用性试验：取 2.2 项下系列混合对照品溶液（各成分最低质量浓度）及供试品溶液各适量，按 2.1 项下试验条件进样测定，记录色谱图。按出峰顺序，九味肝泰胶囊中 10 种指标成分尿囊素、三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1、黄芩苷、五味子醇甲、姜黄素、大黄素、大黄



A. 正离子模式 B. 负离子模式

图3 14号峰的同位素分布图

A. Positive ion mode B. Negative ion mode

Fig. 3 Distribution of isotopes of peak 14

酚、吉马酮、五味子甲素和IS(负离子模式)、IS(正离子模式)的保留时间分别为0. 5,1. 5,1. 6,1. 7,2. 6,2. 7,3. 0,3. 4,3. 6,3. 7,2. 4,2. 4 min,出峰位置无杂峰干扰,专属性良好。根据色谱图中10个峰的相关参数检验系统适用性,其理论板数均大于8 000,相邻峰的分离度均大于1. 5,拖尾因子在0. 95~1. 05范围内。详见图4。

线性关系考察:取2. 2项下系列混合对照品溶液适量,按2. 1项下试验条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(*X*,ng / mL)为横坐标、待测成分峰面积与内标峰面积比值(*Y*)为纵坐标进行线性回归。结果见表3。

定量限和检测限考察:取2. 2项下单一对照品贮备液适量,逐级稀释,按2. 1项下试验条件进样测定,以信噪比为10∶1、3∶1时的质量浓度分别记作定量限、检测限。结果见表3。

精密度试验:取2. 2项下系列混合对照品溶液中的第4个点作为质控点,按2. 1项下试验条件在1 d内连续进样6次,以及连续3 d分别进样,记录峰面积。结果10种指标成分峰面积的*RSD*均小于5. 0%,表明日间和日内精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液(批号为211207112)适量,分别于室温下放置0,2,4,8,12,24 h时按2. 1项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果尿囊素、三七皂苷R_1、人参皂苷Rg_1、黄芩苷、五味子醇甲、姜黄素、大黄素、大黄酚、吉马酮、五味子甲素的峰面积的*RSD*分别为3. 80%,2. 12%,1. 13%,0. 53%,1. 77%,3. 13%,3. 04%,3. 24%,2. 07%,2. 85%(*n* = 6),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品(批号为211207112)1 g,精密称定,共6份,按2. 2项下方法分别制备供试品溶液,再按2. 1项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果尿囊素、三七皂苷R_1、人参皂苷Rg_1、黄芩苷、五味子醇甲、姜黄素、大黄素、大黄酚、吉马酮、五味子甲素的平均含量分别为4. 31 mg / g(*RSD* = 3. 80%),4. 25 mg / g(*RSD* = 1. 67%),15. 30 mg / g(*RSD* = 1. 91%),14. 65 mg / g(*RSD* = 0. 93%),2. 26 mg / g(*RSD* = 1. 24%),0. 54 mg / g(*RSD* = 3. 63%),0. 37 mg / g(*RSD* = 3. 04%),0. 37 mg / g(*RSD* = 3. 21%),0. 72 mg / g(*RSD* = 2. 36%),0. 83 mg / g(*RSD* = 1. 54%),表明方法重复性良好(*n* = 6)。

加样回收试验:取已知含量的同一批九味肝泰胶囊样品(批号为211207112)适量,精密称定,共6份,分别加入一定量对照品的样品,按2. 2项下方法制备供试品溶液,按2. 1项下试验条件进样测定。结果见表3。

耐用性试验:考察流速(0. 29,0. 30,0. 31 mL / min),流动相中乙腈初始比例(9%,10%,11%),柱温(24,25,26 ℃)微小改变对试验结果的影响。结果显示,10种成分的峰面积及保留时间的*RSD*均小于10%,分离度和拖尾因子等系统适用性参数均符合方法学要求,证明方法耐用性良好。

2. 4. 2 样品含量测定

取3批样品各适量,按2. 2项下方法制备供试品溶液,按2. 1项下试验条件进样测定,计算样品中10种化学成分的含量。结果见表4。

3 讨论

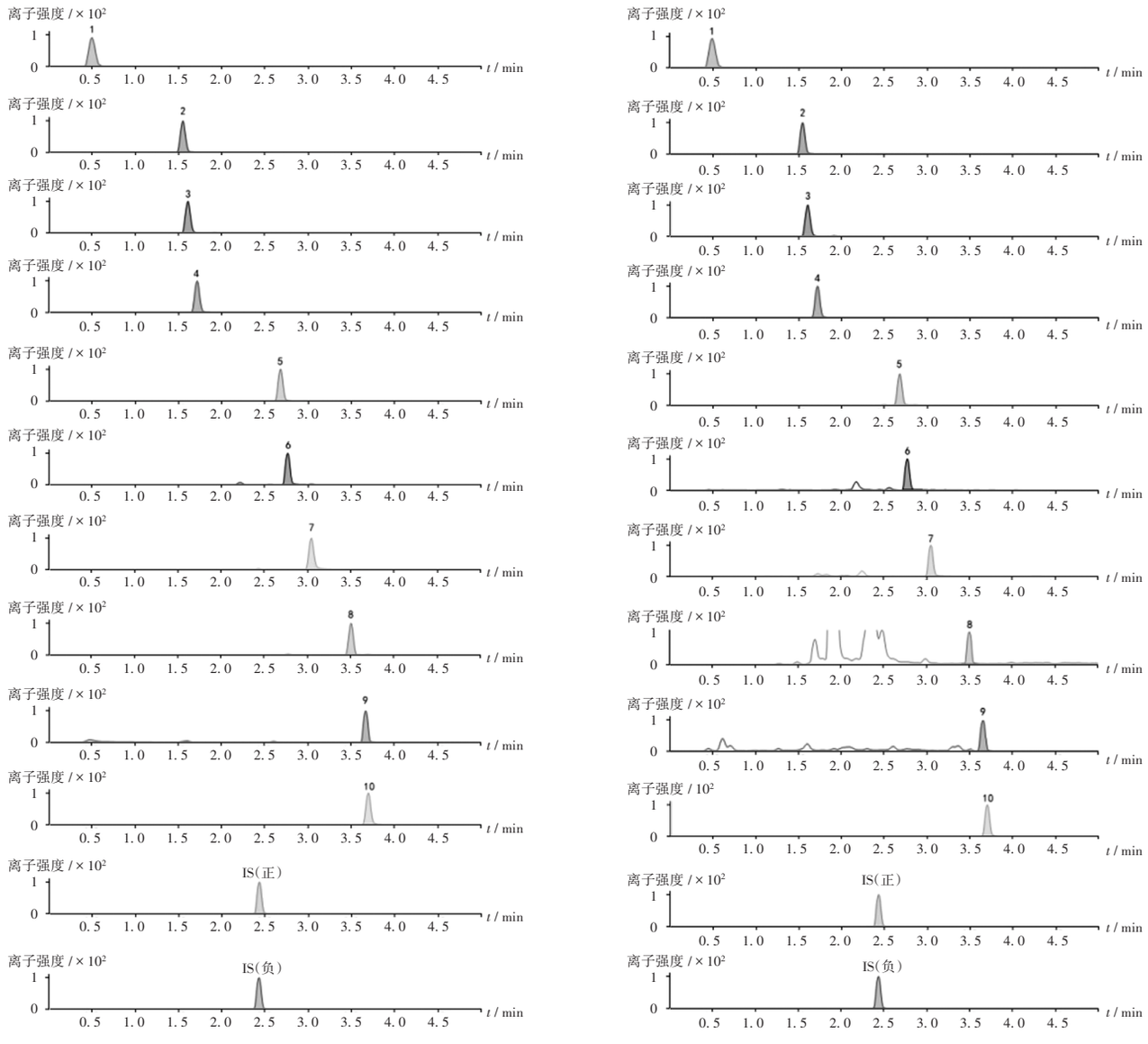
3. 1 指标性成分选择

为了更加全面控制九味肝泰胶囊质量,本研究中参考了药典与文献,确定10种化学成分作为其指标成分。山药中的尿囊素能修复上皮组织,促进皮肤溃疡和伤口愈合,具有生肌作用[6],三七中的三七皂苷R_1和人参皂苷Rg_1具有防治心脑血管系统疾病、抗肿瘤、调节新陈代谢和生理功能、抗老防衰、保护机体肝肾等功能[7],黄芩中的黄芩苷具有抗病毒、抗炎、保护脑神经及保肝等作用[8],五味子中的五味子醇甲能促进神经功能恢复[9],五味子甲素具有抗炎作用[10],郁金与姜黄中的吉马酮可抑制肺癌细胞的增殖、诱导细胞凋亡[11],姜黄素可抗肿瘤、抗氧化与抗炎[12],大黄中的大黄酚具有抗肿瘤、保护神经、改善学习认知功能障碍、保护心肌等多种药理作用[13],大黄素具有抗肿瘤、镇痛、消炎、器官保护等多重生物活性[14]。

表 2 九味肝泰胶囊化学成分鉴定结果

Tab. 2 Results of chemical component identification of Jiuwei Gantai Capsules

序号	t_R (min)	化学成分 名称	药材归属	分子式	准分子离子峰	分子量 理论值(m/z)	实测值(m/z)	误差($\times 10^{-6}$)
1	1.07	腺氨酸	蜈蚣	$C_5H_9NO_2$	M+Na	138.052 5	138.052 1	-3.14
					M-H	114.056 1		
2	1.10	三裂鼠尾草素	黄芩	$C_{18}H_{16}O_6$	M+H	329.102 0		
					M-H	327.087 4	327.087 9	3.39
3	1.14	姜黄素	姜黄	$C_{21}H_{20}O_6$	M+NH_4	386.159 8	386.158 9	-2.33
					M-H	367.118 7		
4	1.62	尿囊素	山药	$C_4H_6N_4O_3$	M+H	159.050 0	159.050 0	-2.51
					M-H	157.040 0		
5	3.50	β-榄香烯	郁金	$C_{15}H_{24}$	M+Na	227.177 0	227.176 1	-4.89
					M-H	203.180 5		
6	11.86	伪原薯蓣皂苷	山药	$C_{51}H_{82}O_{21}$	M+H	1 031.542 1		
					M+COOH	1 075.533 1	1 075.529 6	-1.56
7	11.91	三七皂苷R_1	三七	$C_{47}H_{80}O_{18}$	M+Na	955.523 7	955.523 3	-0.42
					M+COOH	977.532 7	977.532 4	-0.31
8	12.25	薯蓣皂苷	蒺藜	$C_{45}H_{72}O_{16}$	M+H	869.489 3		
					M+COOH	913.480 2	913.476 4	-4.17
9	12.40	人参皂苷Rc	三七	$C_{53}H_{90}O_{22}$	M+Na	1 101.581 6	1 101.580 5	-0.43
					M+COOH	1 123.590 6	1 123.587 9	-2.82
10	12.72	野黄芩苷	黄芩	$C_{21}H_{18}O_{12}$	M+H	463.087 1	463.086 9	0.47
					M-H	461.072 5		
11	13.00	金丝桃苷	五味子	$C_{21}H_{20}O_{12}$	M+H	465.102 8	465.103 8	4.08
					M-H	463.088 2		
12	13.88	番泻苷B	酒大黄	$C_{42}H_{38}O_{20}$	M+H	863.202 9		
					M-H	861.188 4	861.187 0	-3.22
13	14.31	人参皂苷Rb_1	三七	$C_{54}H_{92}O_{23}$	M+Na	1 131.592 2	1 131.591 8	-0.35
					M-H	1 107.595 7	1 107.594 8	-0.7
14	14.48	原薯蓣皂苷	蒺藜	$C_{51}H_{84}O_{22}$	M+H	1 049.552 7	1 049.556 1	3.23
					M-H	1 047.538 1	1 047.538 1	-0.51
15	14.74	缬氨酸	蜈蚣	$C_5H_{11}NO_2$	M+NH_4	135.112 8	135.112 4	-3.65
					M-H	116.071 7		
16	14.80	纤细薯蓣皂苷	蒺藜	$C_{45}H_{72}O_{17}$	M+H	885.484 2		
					M-H	883.469 7	883.466 3	-3.47
17	15.18	人参皂苷Rg_2	三七	$C_{42}H_{72}O_{13}$	M+H	785.504 6	785.503 4	-1.37
					M+Cl	819.466 7	819.466 6	-1.65
18	15.41	黄芩苷	黄芩	$C_{21}H_{18}O_{11}$	M+H	447.092 2	447.092 4	0.44
					M-H	445.077 6		
19	15.49	黄芩素	黄芩	$C_{15}H_{10}O_5$	M+H	271.060 1	271.060 8	2.46
					M-H	269.045 5		
20	15.88	人参皂苷Re	三七	$C_{48}H_{82}O_{18}$	M+Na	969.539 3	969.539 6	0.01
					M+Cl	981.519 5	981.520 0	0.08
21	16.00	粘毛黄芩素Ⅲ	黄芩	$C_{17}H_{14}O_8$	M+H	347.076 1	347.074 5	-4.5
					M-H	345.061 6		
22	16.31	二氢黄芩苷	黄芩	$C_{21}H_{20}O_{11}$	M+H	449.107 8	449.107 6	-0.41
					M+Cl	483.070 0	483.070 1	0.20
23	16.32	柚皮素	郁金	$C_{15}H_{12}O_5$	M+H	273.075 7	273.075 3	-0.71
					M-H	271.068 5		
24	16.55	人参皂苷Rh_2	三七	$C_{36}H_{62}O_8$	M+Na	645.433 7	645.435 4	3.66
					M-H	621.437 2	621.436 0	-1.93
25	16.60	大黄酚	酒大黄	$C_{15}H_{10}O_4$	M+H	255.065 2		
					M+COOH	299.056 1	299.056 8	-2.34
26	16.63	黄芩素	黄芩	$C_{15}H_{10}O_5$	M+H	271.060 1	271.060 9	3.29
					M-H	269.045 5		
27	17.03	大黄素甲醚	酒大黄	$C_{16}H_{12}O_5$	M+H	285.075 7	285.076 4	2.29
					M-H	283.061 2		
28	17.06	汉黄芩苷	黄芩	$C_{22}H_{20}O_{11}$	M+H	461.107 8	461.109 1	2.58
					M-H	459.093 3		
29	17.19	白杨素	黄芩	$C_{15}H_{10}O_4$	M+H	255.065 2	255.064 1	-3.63
					M-H	253.050 6		
30	17.87	吉马酮	郁金	$C_{15}H_{22}O$	M+H	219.174 3	219.175 1	3.65
					M-H	217.159 8		
31	18.04	人参皂苷Rg_1	三七	$C_{42}H_{72}O_{14}$	M+Na	823.481 4	823.481 4	0.19
					M-H	845.490 4	845.490 7	0.35
32	20.08	大黄酸	酒大黄	$C_{15}H_8O_6$	M+H	285.039 4		
					M-H	283.024 8	283.026 4	4.74
33	20.57	苜蓿素	蒺藜	$C_{17}H_{14}O_7$	M+H	331.081 2	331.081 5	1.70
					M-H	329.066 7		
34	24.24	五味子醇甲	五味子	$C_{24}H_{32}O_7$	M+NH_4	450.248 6	450.249 7	-2.28
					M-H	431.207 5		
35	24.41	黄芩黄酮Ⅱ	黄芩	$C_{19}H_{18}O_8$	M+H	375.107 4	375.107 5	0.75
					M-H	373.092 9		
36	25.37	戈米辛D	五味子	$C_{28}H_{34}O_{10}$	M+NH_4	548.249	548.248 0	-0.29
					M+COOH	575.213 4	575.212 7	-1.21
37	26.00	戈米辛J	五味子	$C_{22}H_{28}O_6$	M+H	389.195 9	389.196 5	1.43
					M-H	387.181 3		
38	26.17	五味子醇乙	五味子	$C_{23}H_{28}O_7$	M+NH_4	434.217 3	434.218 3	0.45
					M-H	415.176 2		
39	27.71	五味子乙素	五味子	$C_{23}H_{28}O_6$	M+H	401.195 9	401.196 7	1.89
					M-H	399.181 3		
40	27.95	当归酰戈米辛H	五味子	$C_{28}H_{36}O_8$	M+Na	523.230 2	523.231 8	1.87
					M-H	499.233 7		
41	29.41	戈米辛G	五味子	$C_{30}H_{32}O_9$	M+H	537.211 9	537.211 5	-0.27
					M-H	535.197 4		
42	30.06	五味子酯乙	五味子	$C_{28}H_{34}O_9$	M+NH_4	532.254 1	532.253 2	-0.31
					M-H	513.213 0		
43	30.07	五味子酚	五味子	$C_{23}H_{30}O_6$	M+H	403.211 5	403.212 2	0.98
					M-H	401.197 0		
44	33.96	五味子甲素	五味子	$C_{24}H_{32}O_6$	M+H	417.227 2	417.227 9	1.71
					M-H	415.212 6		
45	37.91	五味子丙素	五味子	$C_{22}H_{24}O_6$	M+Na	407.146 5	407.148 0	1.12
					M-H	383.150 0		



A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

1. 尿囊素 2. 三七皂苷 R_1 3. 人参皂苷 Rg_1 4. 黄芩苷 5. 五味子醇甲 6. 姜黄素 7. 大黄素 8. 大黄酚 9. 吉马酮 10. 五味子甲素 IS. 甲苯磺丁脲

图 4 超高效液相色谱串联质谱图

A. Mixed reference solution B. Test solution

1. Allantoin 2. Notoginsenoside R_1 3. Ginsenoside Rg_1 4. Baicalin 5. Schisandrin 6. Curcumin 7. Emodin 8. Chrysophanol 9. Germacrone 10. Deoxyschizandrin IS. Tolbutamide

Fig. 4 UPLC - MS / MS spectrum

3.2 样品前处理条件优化

预试验中在考察了水、甲醇和乙醇等溶剂后，最终选择 50% 甲醇作为提取溶剂提取样品中各化学成分。对于溶剂体积、提取时间、提取次数，预试验中经正交设计，考察了 1 g 药材中加入 40，50，60 mL 溶剂，提取 15，30，45 min，提取次数为 1，2，3 次，最终选择了 50% 甲醇 50 mL，超声提取 30 min，提取 1 次的最优方法。

3.3 试验条件优化

由于中成药成分复杂，目前的质量研究不仅针对单一成分，更多需对多种成分进行控制。多指标控制的难点是需在同一色谱条件下进行有效分离，本试验中筛选了质谱测定常用的流动相甲醇 - 水和乙腈 - 水体系，水相添加剂甲酸、乙酸、乙酸铵等，结果乙腈 - 0.1% 甲酸水溶液作流动相时分离效果最好，分离度、峰形及理论板数均能达到要求，且出峰时间适中。本研究中选择的 Agilent Poroshell 120 EC - C_{18} 柱，该色谱柱内径较窄和粒径较小，流速为 0.4 mL / min 时柱压相对较低且分离度良好。

表3 线性关系考察及加样回收试验结果

Tab. 3 Results of the linear relation test and the recovery test

指标成分	回归方程	r	线性范围(ng/mL)	定量限(ng/mL)	检测限(ng/mL)	平均回收率(%)	RSD(%)
尿囊素	$Y_1 = 6.899\,4\,X_1 + 0.033\,6$	0.999 5	1 000～50 000	0.05	0.01	100.39	0.54
三七皂苷R_1	$Y_2 = 0.024\,4\,X_2 + 0.007\,1$	0.999 6	1 000～50 000	10	1	102.64	0.61
人参皂苷Rg_1	$Y_3 = 0.102\,3\,X_3 + 0.033\,5$	0.999 5	1 000～50 000	0.5	0.1	99.81	2.38
黄芩苷	$Y_4 = 2.328\,0\,X_4 + 0.441\,7$	0.999 6	1 000～50 000	0.5	0.1	98.13	1.10
五味子醇甲	$Y_5 = 6.774\,5\,X_5 + 0.692\,5$	0.999 5	200～10 000	0.05	0.01	102.04	1.97
姜黄素	$Y_6 = 4.222\,1\,X_6 + 3.023\,6\times10^{-4}$	0.999 8	1～50	0.05	0.01	100.48	4.10
大黄素	$Y_7 = 0.518\,9\,X_7 + 0.097\,5$	0.999 6	200～10 000	0.5	0.25	100.80	2.38
大黄酚	$Y_8 = 0.028\,5\,X_8 + 9.147\,0\times10^{-4}$	0.999 6	200～10 000	10	1	101.67	1.85
吉马酮	$Y_9 = 0.079\,5\,X_9 + 0.003\,7$	0.999 5	200～10 000	10	1	100.55	1.79
五味子甲素	$Y_{10} = 7.883\,4\,X_{10} + 1.323\,7$	0.999 8	200～10 000	0.05	0.01	100.69	1.63

表4 样品中10种指标成分含量测定结果($\overline{X} \pm s$,mg/g,$n=3$)

Tab. 4 Results of content determination of 10 indicator components in samples ($\overline{X} \pm s$, mg/g, $n=3$)

指标成分	211207112	221002000	221103033
尿囊素	4.29±0.007	4.32±0.011	4.33±0.012
三七皂苷R_1	4.21±0.012	4.26±0.007	4.29±0.008
人参皂苷Rg_1	15.19±0.036	15.41±0.028	15.31±0.033
黄芩苷	14.62±0.041	14.69±0.043	14.67±0.040
五味子醇甲	2.24±0.034	2.26±0.036	2.29±0.028
姜黄素	0.52±0.034	0.55±0.018	0.56±0.023
大黄素	0.36±0.026	0.36±0.035	0.37±0.034
大黄酚	0.37±0.027	0.38±0.018	0.38±0.030
吉马酮	0.68±0.014	0.71±0.011	0.73±0.012
五味子甲素	0.82±0.035	0.83±0.042	0.84±0.046

3.4 鉴定与含量测定结果分析

本研究中鉴定出的45种化学成分中以萜类和黄酮类成分为主。较已有的TOF-MS鉴定,有9种化学成分曾被报道[15-20],分别为姜黄素、黄芩苷、人参皂苷Rg_1、三七皂苷R_1、大黄素、尿囊素、人参皂苷Rb_1、五味子醇甲、大黄酚,该方法在传统植物化学分离提取基础上进一步明确了色谱峰的归属。含量测定方面,不同批号的制剂中各成分的含量略有差异,提示临床在使用中药复方时要充分考虑批号对有效成分含量的影响。

3.5 方法评价

该方法快速简便,可用于九味肝泰胶囊的化学成分鉴定和指标成分含量测定。

参考文献

[1] WS-10161(ZD-0161)-2002,国家药品监督管理局标准[S].
[2] 王洁冰,唐平阳,张晓兰,等. 九味肝泰胶囊联合恩替卡韦抗病毒治疗慢性乙型肝炎肝硬化临床观察[J]. 解放军医药杂志,2020,32(7):89-92.
[3] 何 平,黄 娟. 九味肝泰胶囊联合恩替卡韦对慢性乙型肝炎的疗效及安全性分析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2018,26(6):147-148.
[4] 聂莹莹. 复方鳖甲软肝片联合九味肝泰胶囊治疗肝纤维化的效果及对患者血清肝纤维化指标的影响[J]. 医学理论与实践,2021,34(11):1880-1882.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2020:499.
[6] 刘雪东,杨光明,李伟东,等. 山药道地药材和饮片中尿囊素的含量比较[J]. 中医药信息,2009,26(5):36-37.
[7] 庞丹清,陈 勇,刘玟君,等. 三七药理作用研究进展[J]. 大众科技,2018,20(9):49-51.
[8] 张艳丽,王 聪,朱雷蕾,等. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 河南中医,2019,39(9):1450-1454.
[9] 杨继苹,臧 瑞,李 正,等. 五味子醇甲对脑缺血再灌注损伤大鼠室管膜下区神经干细胞增殖分化的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(3):445-449.
[10] 许 红,陶小军,李若男,等. 五味子甲素对脂多糖诱导小鼠RAW264.7细胞的抗炎作用[J]. 儿科药学杂志,2022,28(8):1-5.
[11] 王 超,张 毅,何 平. 吉马酮对人肺癌A549细胞系增殖、凋亡的影响[J]. 实用药物与临床,2013,16(4):280-281.
[12] 张 冬,闫 军,康 君,等. 姜黄素药理作用及机制研究进展[J]. 临床医学进展,2022,12(9):8195-8201.
[13] 李东辉,王临艳,吴红伟,等. 大黄酚药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊,2021,39(12):66-69.
[14] 马雪萍,石宪铭,张勇洪,等. 大黄素抗肿瘤的表观遗传药理学研究进展[J]. 湖北医药学院学报,2022,41(2):199-203.
[15] 叶优苗,张建方,陈宗良. 高效液相色谱法测定九味肝泰胶囊中姜黄素含量[J]. 中国药业,2013,22(11):41-42.
[16] 郑冰珊,陈晓城. 高效液相色谱法测定九味肝泰胶囊中黄芩苷含量[J]. 浙江中医药大学学报,2008,32(5):677-678.
[17] 文 屏,王建文,蔡珊珊. UPLC法测定九味肝泰胶囊中人参皂苷Rg_1及三七皂苷R_1的含量[J]. 中国当代医药,2014,21(10):9-11.
[18] 熊建文,张 群,吴 灿. 高效液相色谱法测定九味肝泰胶囊中大黄素含量[J]. 中南药学,2003,1(4):234-236.
[19] 杨 帆,傅 琳. HPLC-DAD法同时测定九味肝泰胶囊的9种成分[J]. 中草药,2019,50(5):1117-1121.
[20] 蔡步林,王 艳,丁 野,等. 九味肝泰胶囊质量标准的研究[J]. 中国药师,2012,15(10):1442-1444.

(收稿日期:2023-05-15;修回日期:2023-12-27)