

中图分类号:R917;R927 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2023)10-0071-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.10.018



超高效液相色谱串联质谱法同时测定当归补血汤中6种成分含量

胡燕梨,谭丽盈,卢秋桃,赖燕芬

(广州中医药大学第一附属医院,广东 广州 510400)

摘要:目的 建立同时测定当归补血汤中6种成分含量的超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法。方法 色谱条件,色谱柱为Waters BEH C₁₈柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm),流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,柱温为40℃,进样量为2 μL;质谱条件,电喷雾离子源(ESI),正负离子模式同时采集,多反应检测模式(MRM),碰撞气为氦气,离子源温度为150℃,毛细管电压为3.0 kV,去溶剂气流量为700 L/h,去溶剂气温度为350℃。结果 阿魏酸、蒙本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷质量浓度分别在0.52~50.62 μg/mL($R^2=0.9993$)、0.82~80.34 μg/mL($R^2=0.9992$)、0.31~30.06 μg/mL($R^2=0.9996$)、0.62~60.23 μg/mL($R^2=0.9998$)、0.34~33.65 μg/mL($R^2=0.9995$)和1.05~102.38 μg/mL($R^2=0.9996$)范围内与峰面积线性关系良好;检测限分别为0.155,0.247,0.092,0.185,0.103,0.315 μg/kg,定量限分别为0.518,0.823,0.308,0.617,0.344,1.050 μg/kg;精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于5.0%;平均加样回收率分别为96.85%,100.08%,97.69%,95.84%,98.83%,101.68%,RSD分别为2.20%,0.74%,0.75%,0.79%,1.50%,0.95%($n=6$);样品含量均在均值的±30%之间。结论 该方法操作简单、灵敏度高、专属性强,可为当归补血汤的质量标准提升提供参考。

关键词:当归补血汤;超高效液相色谱串联质谱法;含量测定;质量控制

Simultaneous Determination of Six Components in Danggui Buxue Decoction by UPLC-MS/MS

HU Yanli, TAN Liying, LU Qiutao, LAI Yanfen

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510400)

Abstract: Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of six components in Danggui Buxue Decoction. **Methods** The chromatographic conditions were as follows: the chromatographic column was Waters BEH C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 40℃, and the injection volume was 2 μL. The mass spectrometry conditions were as follows: the multiple-reaction monitoring (MRM) mode was adopted with electrospray ionization (ESI, positive and negative ions polarity model), the collision gas was argon, the ion source temperature was 150℃, the capillary voltage was 3.0 kV, the flow rate of dissolvent gas was 700 L/h, and the dissolvent gas temperature was 350℃. **Results** The linear ranges of ferulic acid, ligustilide, formononetin, calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside, calycosin and astragaloside IV were 0.52-50.62 μg/mL ($R^2=0.9993$), 0.82-80.34 μg/mL ($R^2=0.9992$), 0.31-30.06 μg/mL ($R^2=0.9996$), 0.62-60.23 μg/mL ($R^2=0.9998$), 0.34-33.65 μg/mL ($R^2=0.9995$) and 1.05-102.38 μg/mL ($R^2=0.9996$), respectively. The limits of detection (LOD) of the six components were 0.155, 0.247, 0.092, 0.185, 0.103, 0.315 μg/kg, respectively. The limits of quantitation (LOQ) of the six components were 0.518, 0.823, 0.308, 0.617, 0.344, 1.050 μg/kg, respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 5.0%. The average recoveries of six components were 96.85%, 100.08%, 97.69%, 95.84%, 98.83% and 101.68% with RSDs of 2.20%, 0.74%, 0.75%, 0.79%, 1.50%, 0.95%.

第一作者:胡燕梨,女,大学本科,中药师,研究方向为中药的质量标准及其鉴定,(电子信箱)hyl08188@163.com。

- 黄芪甲苷的含量[J]. 海峡药学,2014,26(12):59-61.
- [11] 孙豪栋,庞晓斌,李继扬. 黄芪甲苷生物活性研究进展[J]. 中国药房,2011,22(7):657-661.
- [12] 丁丽玉,王浣清,吴飞,等. 高效液相色谱法测定藿苏养胃口服液黄芪甲苷的含量[J]. 现代生物医学进展,2015,15(27):5216-5220.
- [13] 彭玲娜,李劲平,蒋秋桃,等. HPLC-ELSD测定柏子养心片中黄芪甲苷含量[J]. 海峡药学,2017,29(7):63-66.
- [14] 刘浩文,刘嘉仪,杨妙荣,等. 黄芪药材中黄芪甲苷含量测定的两种方法比较研究[J]. 中药制药与临床药理,2011,22(6):659-663.
- [15] 杜茂波,张敏,沈硕,等. 黄芪中黄芪甲苷含量测定的新方法探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(6):132-137.
- [16] 赖先荣,吴秦西,向永臣. 黄芪总皂苷的纯化工艺[J]. 现代生物医学进展,2009,9(2):301-304.
- [17] 贾晓斌,陈彦,蔡宝昌,等. 黄芪皂苷纯化工艺研究[J]. 中成药,2004,25(11):866-868.
- [18] 姜勇,金芳,鲍忠,等. 不同来源黄芪药材中黄芪甲苷的定量分析[J]. 中国中药杂志,2006,31(11):930-933.
- [19] 赵灵芝,朱丹妮,严永清. HPLC-ELSD法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志,1999,19(6):403-405.
- [20] 司晶晶,赵霞,赵鲲鹏,等. 黄芪主要化学成分及光谱技术在其质量评价中的应用研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报,2022,39(3):98-105.

(收稿日期:2022-09-09;修回日期:2022-11-03)

1.50% and 0.95% ($n = 6$), respectively. The content of six components in the samples was within $\pm 30\%$ of the mean value.
Conclusion This method is simple, sensitive and specific, which can provide a reference for improving the quality standard of Danggui Buxue Decoction.

Key words: Danggui Buxue Decoction; UPLC-MS/MS; content determination; quality control

近年来,随着国家对中医药产业支持力度的逐渐加大,中药新药研发展现出蓬勃生机,尤其在2021年,中药新药批准文件达12个,创6年来新高,且含3个按古代经典名方加减组方的中药复方制剂。可见,中药经典名方也是目前中药新药研究的热点。目前对经典名方当归补血汤的研究多集中在临床配伍、药理、临床数据统计、网络药理学等方面^[1-4],涉及质量控制的报道较少,为此,本研究中参考文献^[5-7],建立了同时测定当归补血汤中当归和黄芪药材中阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷含量的超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法,为提高其质量标准提供依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ACQUITY H-Class 型超高效液相色谱仪, Xevo TQD 型三重四级杆质谱仪, 含FTN全自动进样器、QSM 四元溶剂管理器(美国 Waters 公司); KQ-500DB 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); ML204T 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.1 mg); 100 μL 、200 μL 、1 mL 可调式移液枪(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试剂

阿魏酸对照品(批号为 110773-201915, 含量 99.4%), 毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(批号为 111920-201503, 含量 98.3%), 黄芪甲苷对照品(批号为 110781-201717, 含量 96.9%), 均购自中国食品药品检定研究院; 藁本内酯对照品(成都曼斯特公司, 批号为 Must-17041012, 含量 99.50%); 芒柄花素对照品(批号为 DST190501-011, 含量 98.9%), 毛蕊异黄酮对照品(批号为 DST200915-012, 含量 98.0%), 均购自成都乐美天医药科技有限公司; 乙腈、甲醇(液质联用级)均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。黄芪药材的批号与产地分别为 191201(内蒙古), 200301(甘肃), 200501(陕西), 当归药材的批号与产地分别为 200201(甘肃<岷县>), 200601(四川), D200802(云南), 两者分别经医院梁文能副主任药师鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 及豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao。将不同批2种药材分别组方, 得9批样品(表1)。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件: 色谱柱为 Waters BEH C_{18} 柱(100 mm $\times$

表1 样品及药材批号

Tab. 1 Batch numbers of samples and medicinal materials

当归补血汤	黄芪	当归	当归补血汤	黄芪	当归
210701	191201	200201	210706	200301	D200802
210702	191201	200601	210707	200501	200201
210703	191201	D200802	210708	200501	200601
210704	200301	200201	210709	200501	D200802
210705	200301	200601			

2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min 时 28%A $\rightarrow$ 38%A, 10~13 min 时 38%A $\rightarrow$ 60%A, 13~14 min 时 60%A $\rightarrow$ 28%A, 14~16 min 时 28%A); 流速为 0.3 mL/min; 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 2 μL 。

质谱条件: 电喷雾离子源(ESI); 多反应监测模式(MRM)采集; 正负离子模式监测扫描(仅阿魏酸为负离子模式)采集; 碰撞气为氩气; 离子源温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压 3.0 kV; 去溶剂气流量 700 L/h; 去溶剂气温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 。6种成分质谱采集参数见表2。

表2 各成分的质谱采集参数

Tab. 2 Mass spectrum parameters of each component

待测成分	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能量(V)
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	447.2	285.3 [*] 270.1	30	25
毛蕊异黄酮	285.1	270.2 [*] 179.1	30	30
阿魏酸	193.1	134.2 [*] 175.1	30	20
芒柄花素	269.1	254.2 [*] 197.1	30	25
黄芪甲苷	807.4	627.3 [*] 587.4	30	26
藁本内酯	191.3	145.1 [*] 161.1	40	30

注: * 为定量离子。

Note: * refers to the quantitative ion.

2.2 溶液制备

取阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷对照品各适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 50.62, 80.34, 30.06, 60.23, 33.65, 102.38 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。取当归药材样品 8 g, 黄芪药材样品 40 g, 精密称定, 加 8 倍量水(约 400 mL), 浸泡 30 min, 煎煮 40 min, 趁热过滤, 定容至 200 mL, 冷冻保存, 作为基准样品; 取 1 g, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。按当归补血汤的处方及工艺, 分别制备不含当归和黄芪的单一阴性样品, 冷冻保存, 使用时按供试品溶液制备方法制得 2 种阴性对照品溶液。

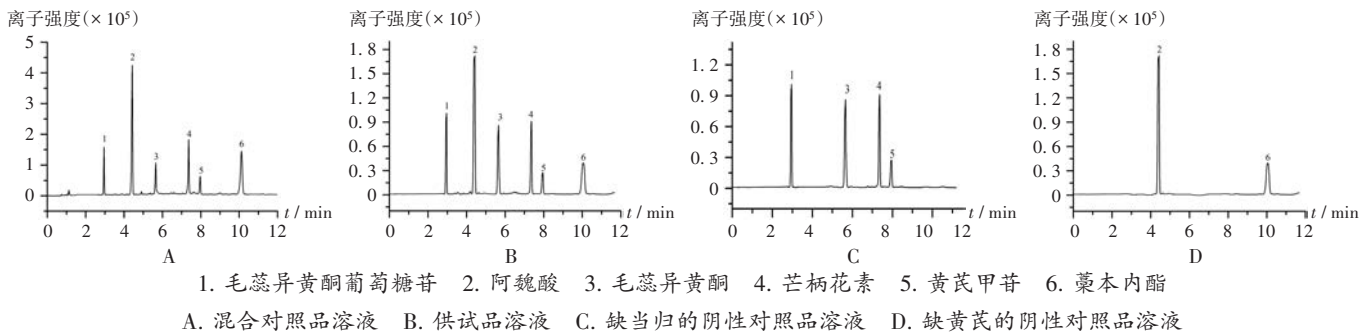


图1 总离子流图

1. Calycosin 7-*O*- β -*D*-glucopyranoside 2. Ferulic acid 3. Calycosin 4. Formononetin 5. Astragaloside IV 6. Ligustilide
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution lacking *Angelicae Radix* D. Negative reference solution lacking *Astragali Radix*

Fig. 1 Total ion chromatograms

2.3 方法学考察

系统适用性试验与专属性试验:分别取2.2项下4种溶液,按2.1项下试验条件进样测定,结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处出现相应色谱峰,理论板数按各成分峰计均应不低于3 000,分离度均大于1.5,基线分离良好,且阴性对照无干扰,表明方法的专属性良好。详见图1。

线性关系考察:精密吸取2.2项下混合对照品溶液适量,加甲醇逐级稀释,得系列混合对照品溶液。精密量取2 μ L,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 , μ g/mL)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。回归方程与线性范围见表3。

表3 线性关系考察结果

Tab. 3 Results of the linear relation test

待测成分	回归方程	R^2	线性范围(μ g/mL)
阿魏酸	$Y_1 = 15.696X_1 - 5.0737$	0.999 3	0.52~50.62
藁本内酯	$Y_2 = 84.043X_2 + 29.713$	0.999 2	0.82~80.34
芒柄花素	$Y_3 = 1\,316.1X_3 - 80.015$	0.999 6	0.31~30.06
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y_4 = 333.29X_4 - 38.294$	0.999 8	0.62~60.23
毛蕊异黄酮	$Y_5 = 212.16X_5 + 20.302$	0.999 5	0.34~33.65
黄芪甲苷	$Y_6 = 183.79X_6 + 23.854$	0.999 6	1.05~102.38

检测限与定量限考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.1项下试验条件进样测定,以信噪比(S/N)分别为3:1和10:1时各待测成分质量浓度作为检测限和定量限,结果阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷的检测限分别为0.155,0.247,0.092,0.185,0.103,0.315 μ g/kg,定量限分别为0.518,0.823,0.308,0.617,0.344,1.050 μ g/kg。

精密度试验:取同一混合对照品溶液适量,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄

酮、黄芪甲苷峰面积的 RSD 分别为2.32%,3.87%,2.68%,3.52%,1.43%,3.05%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,室温下分别于0,1,2,4,8,12,16,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷峰面积的 RSD 分别为4.01%,3.52%,2.78%,3.35%,2.69%,4.15%($n=8$),表明供试品溶液室温下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取2.2项下基准样品1 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,共6份,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,记录峰面积,并计算含量。结果样品中阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷的含量分别为0.705 2,11.325 5,1.722 1,1.538 2,1.240 4,2.128 6 μ g/g, RSD 分别为2.51%,1.68%,1.27%,2.38%,2.97%,3.18%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量基准样品,共6份,分别加入阿魏酸、藁本内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷对照品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表4。

2.4 样品含量测定

取各批样品适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下试验条件进样测定,平行3次,记录峰面积,并计算样品含量。结果见表5。

3 讨论

3.1 研究背景

2018年,国家中医药管理局公布了《古代经典名方目录(第一批)》,共100首,当归补血汤为第51首,该方源于《内外伤辨惑论》,由黄芪和当归两味药按5:1(m/m)组方,为益气补血养阴名方^[8],原方记载:“黄芪一两,

表4 加样回收试验结果($n=6$)
Tab. 4 Results of the recovery test ($n=6$)

待测成分	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
阿魏酸	0.352 6	0.355	0.692 3	95.69	96.85	2.20
	0.352 6	0.355	0.687 5	94.34		
	0.352 6	0.355	0.690 1	95.07		
	0.352 6	0.355	0.698 9	97.55		
	0.352 6	0.355	0.703 5	98.85		
	0.352 6	0.355	0.706 1	99.58		
藁本内酯	5.662 8	5.60	11.345 2	101.47	100.08	0.74
	5.662 8	5.60	11.223 6	99.30		
	5.662 8	5.60	11.265 8	100.05		
	5.662 8	5.60	11.247 8	99.73		
	5.662 8	5.60	11.269 8	100.12		
	5.662 8	5.60	11.252 3	99.81		
芒柄花素	0.861	0.852	1.700 6	98.54	97.69	0.75
	0.861	0.852	1.689 8	97.28		
	0.861	0.852	1.691 5	97.48		
	0.861	0.852	1.683 7	96.56		
	0.861	0.852	1.698 7	98.32		
	0.861	0.852	1.695 8	97.98		
毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	0.769 1	0.774	1.512 5	96.05	95.84	0.79
	0.769 1	0.774	1.509 6	95.67		
	0.769 1	0.774	1.512 4	96.03		
	0.769 1	0.774	1.500 8	94.53		
	0.769 1	0.774	1.511 6	95.93		
	0.769 1	0.774	1.518 7	96.85		
毛蕊异黄酮	0.620 2	0.606	1.202 5	96.09	98.83	1.50
	0.620 2	0.606	1.221 2	99.17		
	0.620 2	0.606	1.215 8	98.28		
	0.620 2	0.606	1.226 9	100.12		
	0.620 2	0.606	1.224 3	99.69		
	0.620 2	0.606	1.223 8	99.60		
黄芪甲苷	1.064 3	1.050	2.123 6	100.89	101.68	0.95
	1.064 3	1.050	2.148 9	103.30		
	1.064 3	1.050	2.122 8	100.81		
	1.064 3	1.050	2.125 7	101.09		
	1.064 3	1.050	2.132 9	101.77		
	1.064 3	1.050	2.137 6	102.22		

当归二钱(酒洗),上件咀,都作已服,水二盏煎至一盏,去渣,温服,空心食前。治肌热,燥热,困渴引饮,目赤面红,昼夜不息。其脉洪大而虚,重按全无。”由于古代的计量工具及饮片的炮制规格、剂量及煎煮方式均与现代有差异,故明确处方中的关键信息,对于开发当归补血汤具有重要意义。当归中主要含有机酸、萜类、挥发油等^[9-11],其中阿魏酸能抑制血小板聚集^[12],藁本内酯

表5 样品含量测定结果($\mu\text{g/g}, n=3$)
Tab. 5 Results of the content determination of six components in the samples ($\mu\text{g/g}, n=3$)

批号	阿魏酸	藁本内酯	芒柄花素	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
210701	0.705 2	11.325 5	1.722 1	1.538 2	1.240 4	2.128 6
210702	0.683 5	10.685 9	1.706 8	1.520 6	1.223 1	2.100 6
210703	0.712 8	11.036 8	1.732 5	1.563 9	1.351 6	2.153 8
210704	0.653 6	9.687 5	1.586 2	1.358 7	1.065 7	1.976 5
210705	0.720 8	13.068 2	1.763 4	1.662 9	1.421 6	2.386 2
210706	0.713 3	11.553 6	1.736 5	1.610 7	1.402 8	2.376 1
210707	0.678 4	10.683 5	1.656 2	1.582 1	1.386 7	2.352 5
210708	0.733 1	11.425 7	1.632 8	1.593 4	1.389 2	2.346 8
210709	0.706 7	11.322 1	1.665 3	1.620 5	1.425 3	2.433 7

有抑制子宫平滑肌收缩等作用^[13];黄芪主要成分为黄芪皂苷类、黄酮及其苷类化合物,此外还有有机酸和多糖类成分,这些成分均具有调节免疫、抗肿瘤和保护心血管的作用^[14-17]。

目前主要有当归补血汤中单一或两三种成分含量测定、指纹图谱、化学成分和微量元素的研究^[18-20],未见多种成分同时测定方法的报道,由于古代经典名方主要为水提液,传统的液相色谱在水提液分离方面效果不佳,干扰较大,且黄芪甲苷在紫外吸收中属末端吸收,测定时干扰较大,响应较低,故与其他成分同时测定时只能采用液质联用法,液相色谱串联质谱可采用独特的MRM扫描方式,对目标化合物进行定性和定量分析,选择性强,灵敏度高,多用于此类研究。

3.2 指标成分选择

阿魏酸、藁本内酯是当归药材发挥药效的主要活性成分,阿魏酸具有扩张血管、抗肿瘤和增强免疫的作用,藁本内酯可抑制子宫平滑肌收缩,芒柄花素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷是黄芪药材中的主要黄酮及其苷类化合物,是其质量控制的关键指标。芒柄花素具有改善动脉粥样硬化病变,毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮同时具有清除氧自由基/抑制血管平滑肌细胞增殖的作用,黄芪甲苷具有抗炎、抗衰老、抗氧化和保护心脑血管的药理作用,其作用均与当归补血汤的药理作用密切相关。由于中药发挥作用是多靶点多作用机制的综合表现,因此同时测定当归补血汤中多种成分含量更利于对其进行质量控制和全面评价。

3.3 试验条件选择

组分成分测定中常采用梯度洗脱进行分离。预试验中考察流动相时首先分有机相(甲醇和乙腈)与水相(0.1%甲酸溶液和0.1%乙酸铵溶液)进行考察,发现0.1%乙酸铵溶液-甲醇(或乙腈)在正离子模式采集下阿魏酸、芒柄花素的色谱峰形拖尾,当采用甲醇(或

乙腈)-0.1%甲酸水溶液时,当归补血汤中6个成分的色谱峰均可良好分离,乙腈-0.1%甲酸水溶液出峰时间较短,且响应值较高,故以此为流动相。色谱柱分别考察了Agilent SB C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), Waters BEH C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)和Shimadzu Shim-pack GIST C₁₈ AQ HP柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm),结果各成分色谱峰均分离良好,可以准确进行定量,表明该方法的耐用性良好。其后根据6个成分的前体离子在正(或负)离子模式下确定毛细管和锥孔的电压,脱溶剂气的流速及温度,再优化碰撞能量,通过调整碰撞电压,共优化2个子离子,选择响应强度最高、稳定性好的离子作为定量离子,另一个作为定性离子,可保证测定结果的准确性。

3.4 结果分析

本研究结果显示,9批样品中6种成分的含量波动范围均符合《古代经典名方中药复方制剂物质基准的申报资料要求(征求意见稿)》要求的均值±30%之间。但本试验中所测样品均为实验室小试样品,且所制备样品批数较少,黄芪和当归药材的产地及信息偏少,样品为随机组方制备,测定值不能全面反映2种药材的质量信息。对于经典名方的研究至少应包含道地产区和主产区的药材,本研究在选择时也遵循了上述原则,采用了甘肃当归和内蒙古黄芪进行试验,结果显示,采用不同产地黄芪、当归组方制备时,当归补血汤中6种成分的含量具有一定差异,因此,样品制备中应考虑药材的产地信息,进行多批次多产地药材的收集,从而保证样本的代表性,同时应结合临床药效结果,优选最佳药材产地组方,从而保证当归补血汤的质量可控,为制剂的进一步开发提供参考。

3.5 小结

在古代经典名方的开发研究中,一定要在遵循古代的制法基础上用历史和创新的思维对其剂量、炮制、基源等进行考证。本研究中所建UPLC-MS/MS法操作简单,专属性、重复性、稳定性和回收率均符合要求。相比目前报道的液相色谱法,具有灵敏度更高,分析速度快的优点,并且9批样品各成分含量基本符合中药经典名方含量波动的规定范围。然而,经典名方及其制剂的开发要建立全过程(药材-饮片-基准样品-中间体-复方制剂)质量控制体系,应适时建立指纹图谱(或特征图谱)并结合含量测定方法对其进行控制和监测,从而保证其质量的可控性和稳定性,但目前对当归补血汤物质基础成分与作用机理的研究较少,下一步需进行飞行时间(Q-TOF)或离子阱(Q-Trap)质谱及药理实验研究,从而为更好地提升当归补血汤的质量标准及其相关制剂的后续研究开发提供依据。

参考文献

- [1] 李 蕾,潘 志. 当归补血汤药理作用及抗类风湿性关节炎相关性研究[J]. 食品与营养科学, 2017, 6(1): 17-22.
- [2] 龚伟玲,王 乐,刘 峰,等. 基于文献计量法和内容分析法的当归补血汤研究进展分析[J]. 中南药学, 2021, 19(3): 522-527.
- [3] 梁 栋,杨洪涛. 基于网络药理学的当归补血汤治疗慢性肾脏病作用机制研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(1): 242-244.
- [4] 李 杨,郝俊杰. 基于网络药理学的当归补血汤治疗贫血的作用机制研究[J]. 大理学院学报, 2018, 3(10): 1-6.
- [5] 谭丽盈,胡国辉. UPLC-MS/MS同时测定经典名方泽泻汤中6个成分的含量[J]. 中国现代中药, 2022, 24(4): 696-700.
- [6] 靳如娜,齐晓甜,孙 蓉,等. 经典名方当归补血汤的药效物质基础和质量控制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(16): 220-228.
- [7] 胡 静,李 科,李爱平,等. 当归补血汤物质基础研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(21): 5658-5663.
- [8] 金·李东垣. 内外伤辨惑论[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2011: 24.
- [9] 汪群红,张京红. 当归补血汤的药理作用与临床应用[J]. 海峡药学, 2011, 23(4): 128-130.
- [10] 杨飞霞,王 玉,夏鹏飞,等. 当归补血汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2677-2685.
- [11] 董 晴,陈明苍. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(2): 32-34.
- [12] 赵奎君,钟 萌,谢俊大. 不同产地当归中阿魏酸、藜本内酯及总多糖含量比较[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(12): 37-38.
- [13] 陈振鹤,吴国泰,孙 敏,等. 当归中藜本内酯研究概况[J]. 甘肃中医学院学报, 2018, 35(2): 102-105.
- [14] 陈国辉,黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1482-1485.
- [15] 王 谦,赖 慧,陈 立,等. 高效液相色谱法测定3种剂型黄芪中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量[J]. 中国药业, 2019, 28(6): 23-26.
- [16] 胡燕梨,谭丽盈,胡国辉. UPLC-MS/MS法同时测定黄芪水提液中3种成分的含量[J]. 海峡药学, 2022, 34(2): 66-69.
- [17] 张 蕾,高文远,满淑丽. 黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3203-3207.
- [18] 潘自皓,崔梦迪,潘立群,等. 当归补血汤中三种指标性成分的HPLC-DAD/ELSD法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 547-550.
- [19] 姚 静,施钧瀚,桂新景,等. 基于HPLC指纹图谱评价的当归补血汤传统汤剂与配方颗粒汤剂的成分差异分析[J]. 中草药, 2019, 50(11): 2567-2574.
- [20] 万益群,柳英霞,郭 岚,等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定当归补血汤中多种微量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(1): 160-164.

(收稿日期:2022-08-01;修回日期:2022-12-29)