

HPLC-MS/MS 同时测定银花芒果片中 11 种成分的含量

邓俊杰(绍兴市食品药品检验研究院, 浙江 绍兴 312000)

摘要: 目的 建立 HPLC-MS/MS 同时测定银花芒果片中绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷含量的方法。方法 采用 Agilent Porshell SB-C₁₈ 柱 (4.6 mm×50 mm, 2.7 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 流速 0.5 mL·min⁻¹。质谱采用电喷雾离子源, 以多反应监测模式进行定量分析。结果 11 种成分在一定浓度范围内与峰面积呈良好线性关系, 相关系数 r 均>0.999; 平均回收率($n=9$)为 98.15%~98.81%, RSD 均≤0.6%; 4 批样品含量范围分别为 4.97~5.24, 8.51~9.28, 2.97~3.23, 6.31~6.68, 0.26~0.30, 0.80~0.93, 0.22~0.25, 0.33~0.38, 0.95~1.07, 4.08~4.36, 1.93~2.21 mg·g⁻¹。结论 该方法简便、灵敏、准确、可靠, 可用于银花芒果片的质量控制。

关键词: 高效液相-三重四级杆串联质谱法; 银花芒果片; 11 种成分; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)02-0208-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.02.012

引用本文: 邓俊杰. HPLC-MS/MS 同时测定银花芒果片中 11 种成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(2): 208-214.

Simultaneous Determination of 11 Components in Yinhua Mangguo Tablets by HPLC-MS/MS

DENG Junjie(Shaoxing Institute for Food and Drug Control, Shaoxing 312000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the simultaneous determination of chlorogenic acid, macranthoidin B, dipsacoidin B, mangiferin, quercetin, caffeic acid, luteolin-7-*O*-glucoside, ferulic acid, platycodin D, hesperidin and liquiritin in Yinhua Mangguo tablets by HPLC-MS/MS. **METHODS** The separation was performed on an Agilent Porshell SB-C₁₈ column(4.6 mm×50 mm, 2.7 μm). The mobile phase was consisted of acetonitrile-0.1% formic acid by gradient elution at 30 ℃ column temperature. The flow rate was 0.5 mL·min⁻¹. For quantitation, electrospray ionization source was applied and the mass spectrometer was operated in multiple reaction monitoring modes. **RESULTS** Eleven components showed good linearity with correlation coefficient >0.999. The average recoveries($n=9$) ranged from 98.15% to 98.81% with RSD≤0.6%. The contents in 4 batches of samples were 4.97–5.24, 8.51–9.28, 2.97–3.23, 6.31–6.68, 0.26–0.30, 0.80–0.93, 0.22–0.25, 0.33–0.38, 0.95–1.07, 4.08–4.36, 1.93–2.21 mg·g⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The method was simple, sensitive, accurate and reliable for the quality control of Yinhua Mangguo tablets.

KEYWORDS: HPLC-MS/MS; Yinhua Mangguo tablets; 11 components; content determination

银花芒果片现行标准为国家药品监督管理局标准 YBZ05142018, 处方由甘草、陈皮、蒲公英、桔梗、山银花、芒果叶、百部 7 味中药组成, 具有疏风清热、止咳化痰的功效。用于外感风热所致的咽痛、喉痒、咳嗽及上呼吸道感染见有上述症状者的治疗^[1]。中成药的功效是多种活性成分共同作用的结果, 国家标准 YBZ05142018 只检测陈皮中橙皮苷的含量, 缺少对方中其他药材的质控指标。另有文献采用 HPLC 同时测定绿原酸、芒果苷和橙皮苷的含量^[2], 同样未能全面评价药品的整体质量。

依据中国药典 2020 年版^[3]和相关文献报道, 确定甘草的指标成分为甘草苷^[4]; 陈皮的指标成分为橙皮苷^[5]; 蒲公英的指标成分为咖啡酸、木犀草

苷和阿魏酸^[6]; 桔梗的指标成分为桔梗皂苷 D^[7]; 山银花的指标成分为绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙^[8]; 芒果叶的指标成分为芒果苷和槲皮素^[9]。

本实验使用 HPLC-MS/MS, 依托其灵敏度高、准确性好、选择性强的特点, 期望建立同时测定银花芒果片中 11 种有效成分的方法, 简化桔梗皂苷 D 的提取过程, 解决蒸发光散射检测器重复性差的问题, 提升质量控制标准, 也为中成药的多成分含量检测提供方向^[10-15]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260-6470 高效液相-三重四级杆串联质谱(美国 Agilent 公司); XPE26 百万分之一电子

作者简介: 邓俊杰, 男, 硕士, 主管药师 E-mail: 79761822@qq.com

天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); ZM-200 超离心碾磨仪(德国 Retsch 公司); FESCO17 微量离心机(美国 Thermo Fisher 公司); UA22MFD 数控型超声波清洗器(德国 Wiggins 公司)。

1.2 试药

绿原酸(批号: 110753-201817; 含量: 96.8%)、灰毡毛忍冬皂苷乙(批号: 111814-202005; 含量: 97.2%)、川续断皂苷乙(批号: 111813-201804; 含量: 96.8%)、芒果苷(批号: 111607-201704; 含量: 98.1%)、槲皮素(批号: 100081-201610; 含量: 99.1%)、咖啡酸(批号: 110885-201703; 含量: 99.7%)、木犀草苷(批号: 111720-201810; 含量: 93.5%)、阿魏酸(批号: 110773-201915; 含量: 99.4%)、桔梗皂苷 D(批号: 111851-201708; 含量: 97.9%)、橙皮苷(批号: 110721-201818; 含量: 96.2%)、甘草苷(批号: 111610-201908; 含量: 95.0%)均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈均为质谱纯, 购自 Merck 公司; 甲酸(质谱纯, CNW 公司); 银花芒果片(广西南珠制药有限公司, 批号: 20200403, 20191211, 20190802, 20190618)。

2 方法与结果

2.1 液相色谱-质谱条件

2.1.1 色谱条件 Agilent Porshell SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×50 mm, 2.7 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱, 0~20 min, 10%→40%A, 20~21 min, 40%→90%A, 21~26 min, 90%A, 柱温 30 °C, 流速 0.5 mL·min⁻¹, 进样量 1 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源; 离子源温度: 300 °C; 干燥气和碰撞气: 氮气(纯度≥99.999%); 负离子扫描模式; 为提高检测灵敏度, 采用分时间段的多反应监测模式, 保留时间、定量离子对、碎裂电压和碰撞能量, 见表 1。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别称取绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、橙皮苷、甘草苷 10.98, 9.76, 10.29, 10.82, 9.63, 10.71 mg, 置同一 25 mL 量瓶中, 加 70%甲醇制得①号储备液; 分别称取槲皮素、木犀草苷、阿魏酸 9.75, 10.17, 10.10 mg, 置同一 250 mL 量瓶中, 加 70%甲醇制得②号储备液; 分别称取咖啡酸、桔梗皂苷 D 10.26, 10.94 mg, 置同一 100 mL 量瓶中, 加 70%甲醇制得③号储备液。精密量取①、②、③号储备液各 1 mL, 置同一 20 mL 量瓶中, 加 70%甲

表 1 11 种成分的保留时间、定量离子对、碎裂电压和碰撞能量

Tab. 1 Retention time, quantitative ions, fragmentor and collision energy of 11 components

成分	保留时间/ min	定量离子对	碎裂 电压/V	碰撞 能量/V
绿原酸	3.600	353.1→191.1	110	15
灰毡毛忍冬皂苷乙	15.213	1 397.7→1 073.5	175	40
川续断皂苷乙	16.246	1 073.6→749.4	175	45
芒果苷	4.866	421.1→331.1	135	22
槲皮素	14.219	301.0→151.0	150	20
咖啡酸	4.913	179.0→135.1	110	15
木犀草苷	8.556	447.1→285.0	175	25
阿魏酸	7.853	193.1→134.1	110	20
桔梗皂苷 D	14.750	1 223.6→681.2	175	60
橙皮苷	10.397	609.2→301.1	150	30
甘草苷	8.109	417.1→255.0	175	20

醇制成混合对照品溶液。绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷的浓度分别为 21.26, 18.97, 19.92, 21.23, 1.93, 5.11, 1.90, 2.01, 5.36, 18.53, 20.35 μg·mL⁻¹。

2.2.2 供试品溶液的制备 取银花芒果片 10 片, 除去包衣, 研细, 混匀, 精密称取 0.25 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 用 70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 超高速离心, 取上清液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性供试品溶液的制备 按处方组成及生产工艺制得缺山银花、芒果叶、蒲公英、桔梗、陈皮和甘草的阴性供试品, 再按供试品溶液制备法制得阴性供试品溶液。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性考察 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 1 μL, 按“2.1”项下条件检测, 记录质谱图。结果供试品显示与对照品保留时间相同的质谱峰, 阴性对照溶液在此保留时间无质谱峰, 表明处方中其他成分对结果无干扰, 该方法系统适应性良好, 见图 1。

2.3.2 线性关系考察 精密量取①、②、③号对照品储备液各 1 mL, 分别置于 5, 10, 20, 50, 100 mL 量瓶中, 加 70%甲醇稀释至刻度, 制得系列混合对照品溶液。按“2.1”项下条件测定, 以浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 计算得线性回归方程, 结果 11 种成分在各自浓度范围内均呈良好线性, 见表 2。

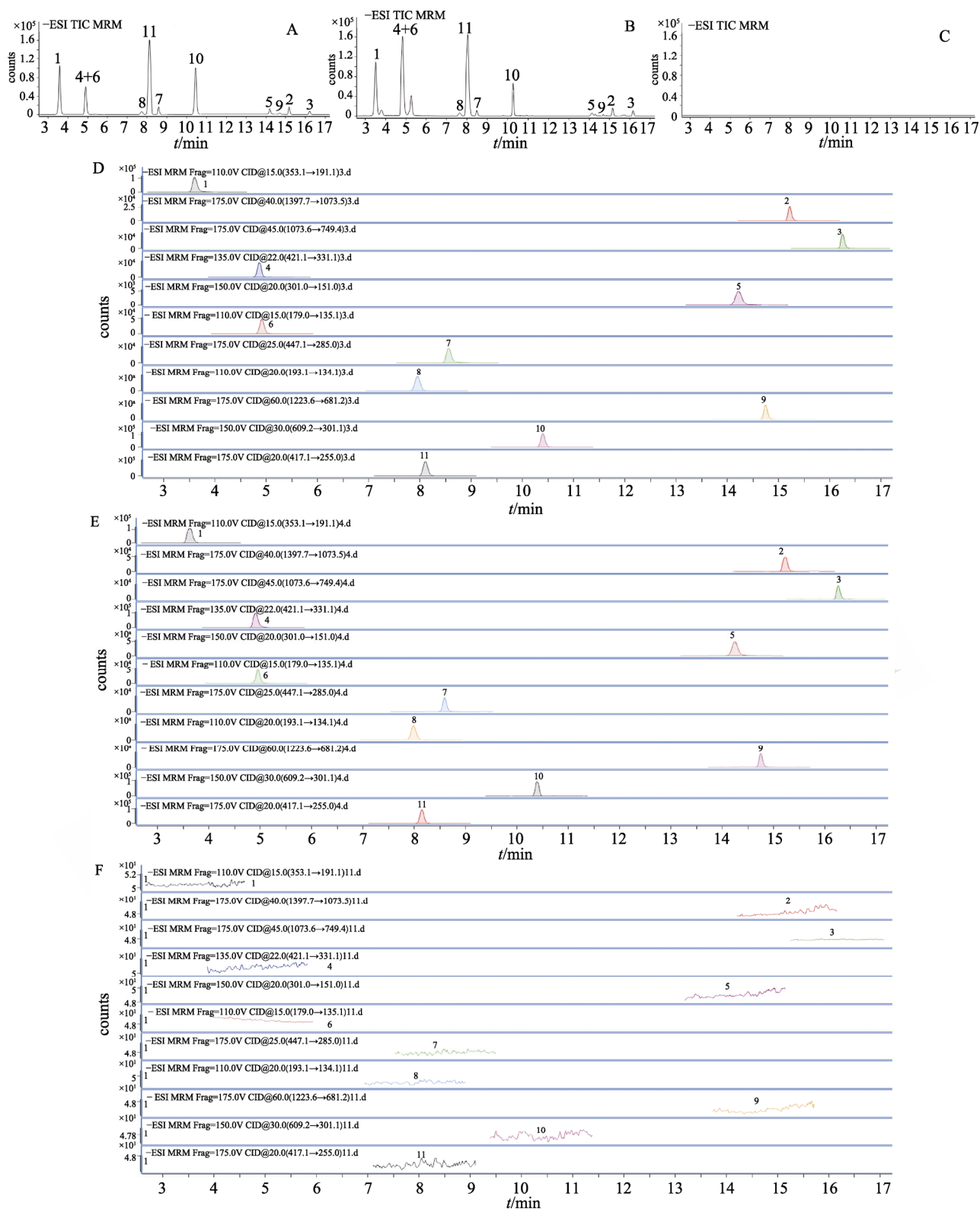


图 1 11 种成分的总离子流图和提取离子流图

A—混合对照品(总离子流图); B—供试品(总离子流图); C—阴性供试品(总离子流图); D—混合对照品(提取离子流图); E—供试品(提取离子流图); F—阴性供试品(提取离子流图); 1—绿原酸; 2—灰毡毛忍冬皂苷乙; 3—川续断皂苷乙; 4—芒果苷; 5—槲皮素; 6—咖啡酸; 7—木犀草苷; 8—阿魏酸; 9—桔梗皂苷 D; 10—橙皮苷; 11—甘草苷。

Fig. 1 Total ions chromatogram and extracting ions chromatogram of 11 components

A—mixed reference substances(total ions chromatogram); B—sample(total ions chromatogram); C—negative sample(total ions chromatogram); D—mixed reference substances(extracting ions chromatogram); E—sample(extracting ions chromatogram); F—negative sample(extracting ions chromatogram); 1—chlorogenic acid; 2—macranthoidin B; 3—dipsacoidin B; 4—mangiferin; 5—quercetin; 6—caffeic acid; 7—luteolin-7-O-glucoside; 8—ferulic acid; 9—platycodin D; 10—hesperidin; 11—liquiritin.

表 2 11 种成分的回归方程、线性范围、定量限和检出限

Tab. 2 Regression equation, linear range, LOQ and LOD of 11 components

成分	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	相关系数/ r^2	定量限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	检出限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
绿原酸	$Y=6\,373X+440\,162$	4.25~85.03	0.999 2	1.06	0.27
灰毡毛忍冬皂苷乙	$Y=1\,680X+72\,211$	3.79~75.89	0.999 7	1.90	0.63
川续断皂苷乙	$Y=800X+45\,062$	3.98~79.69	0.999 1	2.39	0.80
芒果苷	$Y=2\,660X+359\,518$	4.25~84.92	0.999 2	1.06	0.35
槲皮素	$Y=6\,138X+30\,183$	0.39~7.73	0.999 7	0.48	0.10
咖啡酸	$Y=11\,324X+179\,502$	1.02~20.46	0.999 3	0.51	0.13
木犀草苷	$Y=8\,760X+80\,580$	0.38~7.61	0.999 8	0.48	0.10
阿魏酸	$Y=5\,204X+7\,683$	0.40~8.03	0.999 5	1.01	0.25
桔梗皂苷 D	$Y=255X+4\,485$	1.07~21.42	0.999 4	2.78	0.93
橙皮苷	$Y=6\,834X+431\,958$	3.71~74.11	0.999 0	0.37	0.12
甘草苷	$Y=12\,921X+549\,668$	4.07~81.40	0.999 5	0.41	0.08

2.3.3 定量限试验 取“2.2.1”项下混合对照品溶液,逐级稀释,按“2.1”项下条件测定,以信噪比 10:1 和 3:1 对应的浓度为定量限和检出限,结果见表 3。

2.3.4 仪器精密度试验 取“2.2.1”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下条件连续进样 6 次,测定峰面积并计算 RSD,结果绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷峰面积的 RSD 分别为 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.2%, 1.2%, 0.8%, 1.4%, 0.9%, 0.5%, 0.2%, 0.3%, 表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取 6 份同一样品粉末(批号: 20200403),以“2.2.2”项下供试品溶液制备法制备,按“2.1”项下条件测定并计算 RSD,结果绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷峰面积的 RSD 分别为 0.2%, 0.3%, 0.6%, 0.4%, 0.7%, 0.9%, 1.6%, 1.1%, 0.5%, 0.6%, 0.4%, 表明重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: 20200403),分别在 0, 4, 8, 12, 24, 48 h,按“2.1”项下条件测定并计算,结果绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 0.5%, 1.0%, 0.4%, 1.5%, 0.7%, 1.3%, 0.8%, 0.6%, 0.7%, 0.5%, 表明稳定性良好。

2.3.7 回收率试验 取 9 份同一样品粉末(批号:

20200403),每份约 0.125 g,精密称定,分置具塞锥形瓶中,3 份为一组,分别加入相当于样品含量 50%, 100%, 150% 的对照品,以供试品溶液制备法制备,按“2.1”项下条件测定并计算回收率,结果绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、芒果苷、槲皮素、咖啡酸、木犀草苷、阿魏酸、桔梗皂苷 D、橙皮苷和甘草苷的平均回收率分别为 98.70%, 98.64%, 98.80%, 98.59%, 98.45%, 98.38%, 98.23%, 98.15%, 98.76%, 98.55%, 98.81%, RSD 分别为 0.5%, 0.5%, 0.4%, 0.6%, 0.3%, 0.4%, 0.2%, 0.2%, 0.3%, 0.5%, 0.4%, 表明回收率良好,结果见表 3。

2.4 样品测定

取 4 批样品粉末各约 0.25 g,同批次平行测定 3 份,精密称定,按供试品溶液制备法制备,精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 1 μL ,按“2.1”项下条件测定,计算各成分含量,结果见表 4。

3 讨论

3.1 检测方法的优化

灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙和桔梗皂苷 D 分子结构相近,均只含 1 个共轭双键,紫外吸收极低,需用灵敏度低、重复性差的蒸发光散射检测器检测。11 种成分同时测定,需要串联紫外和蒸发光散射检测器,增加了检测难度。同时,由于液相色谱在多成分检测中存在前处理复杂、杂质干扰大、基线分离难的问题。最终选用质谱检测器,以多反应监测模式进行含量测定,确保检测的高效和结果的准确。

表3 加样回收率试验测定结果(n=9)

Tab. 3 Results of recovery test(n=9)

成分	取样量/ g	样品含 量/mg	对照品加 入量/mg	测定结 果/mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %	成分	取样量/ g	样品含 量/mg	对照品加 入量/mg	测定结 果/mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
绿 原 酸	0.125 1	0.655 5	0.326 1	0.976 2	99.45	99.37	0.1	木 犀 草 苷	0.125 1	0.031 3	0.015 9	0.046 5	98.52	98.37	0.1
	0.124 8	0.654 0	0.326 1	0.972 8	99.26				0.124 8	0.031 2	0.015 9	0.046 3	98.30		
	0.122 5	0.641 9	0.326 1	0.962 1	99.39				0.122 5	0.030 6	0.015 9	0.045 7	98.28		
	0.126 8	0.664 4	0.652 2	1.294 2	98.30	98.47	0.2		0.126 8	0.031 7	0.031 8	0.062 4	98.27	98.09	0.3
	0.121 3	0.635 6	0.652 2	1.271 3	98.72				0.121 3	0.030 3	0.031 8	0.061 0	98.23		
	0.124 5	0.652 4	0.652 2	1.283 8	98.41				0.124 5	0.031 1	0.031 8	0.061 5	97.77		
	0.126 6	0.663 4	0.978 3	1.611 7	98.17	98.24	0.2		0.126 6	0.031 7	0.047 7	0.078 1	98.36	98.23	0.2
	0.125 7	0.658 7	0.978 3	1.612 4	98.50				0.125 7	0.031 4	0.047 7	0.077 8	98.36		
	0.123 9	0.649 2	0.978 3	1.595 9	98.06				0.123 9	0.031 0	0.047 7	0.077 1	97.97		
灰 毡 毛 忍 冬 皂 苷 乙	0.125 1	1.160 9	0.573 9	1.720 3	99.16	99.17	0.3	阿 魏 酸	0.125 1	0.047 5	0.024 4	0.070 6	98.19	98.14	0.1
	0.124 8	1.158 1	0.573 9	1.712 9	98.90				0.124 8	0.047 4	0.024 4	0.070 4	98.05		
	0.122 5	1.136 8	0.573 9	1.701 4	99.46				0.122 5	0.046 6	0.024 4	0.069 7	98.17		
	0.126 8	1.176 7	1.147 8	2.290 7	98.55	98.69	0.2		0.126 8	0.048 2	0.048 8	0.094 9	97.84	97.99	0.1
	0.121 3	1.125 7	1.147 8	2.249 1	98.93				0.121 3	0.046 1	0.048 8	0.093 0	98.00		
	0.124 5	1.155 4	1.147 8	2.270 7	98.59				0.124 5	0.047 3	0.048 8	0.094 3	98.13		
	0.126 6	1.174 8	1.721 7	2.839 3	98.03	98.05	0.2		0.126 6	0.048 1	0.073 2	0.119 1	98.19	98.32	0.2
	0.125 7	1.166 5	1.721 7	2.837 1	98.23				0.125 7	0.047 8	0.073 2	0.119 3	98.60		
	0.123 9	1.149 8	1.721 7	2.810 6	97.88				0.123 9	0.047 1	0.073 2	0.118 1	98.17		
川 续 断 皂 苷 乙	0.125 1	0.404 1	0.203 8	0.605 1	99.54	99.26	0.3	桔 梗 皂 苷 D	0.125 1	0.133 9	0.065 6	0.197 4	98.95	99.16	0.2
	0.124 8	0.403 1	0.203 8	0.602 1	99.21				0.124 8	0.133 5	0.065 6	0.197 7	99.30		
	0.122 5	0.395 7	0.203 8	0.593 7	99.03				0.122 5	0.131 1	0.065 6	0.195 2	99.24		
	0.126 8	0.409 6	0.407 6	0.809 4	99.05	98.79	0.2		0.126 8	0.135 7	0.131 2	0.263 2	98.61	98.52	0.1
	0.121 3	0.391 8	0.407 6	0.789 0	98.70				0.121 3	0.129 8	0.131 2	0.257 3	98.58		
	0.124 5	0.402 1	0.407 6	0.798 6	98.63				0.124 5	0.133 2	0.131 2	0.260 1	98.37		
	0.126 6	0.408 9	0.611 4	1.005 3	98.53	98.34	0.2		0.126 6	0.135 5	0.196 8	0.328 3	98.80	98.61	0.2
	0.125 7	0.406 0	0.611 4	1.000 1	98.30				0.125 7	0.134 5	0.196 8	0.326 0	98.40		
	0.123 9	0.400 2	0.611 4	0.993 3	98.19				0.123 9	0.132 6	0.196 8	0.324 9	98.63		
芒 果 苷	0.125 1	0.835 7	0.425 3	1.253 1	99.37	99.25	0.1	橙 皮 苷	0.125 1	0.545 4	0.271 1	0.809 9	99.19	99.08	0.2
	0.124 8	0.833 7	0.425 3	1.249 3	99.23				0.124 8	0.544 1	0.271 1	0.805 4	98.80		
	0.122 5	0.818 3	0.425 3	1.232 9	99.14				0.122 5	0.534 1	0.271 1	0.799 1	99.24		
	0.126 8	0.847 0	0.850 6	1.675 6	98.70	98.53	0.2		0.126 8	0.552 8	0.542 2	1.074 4	98.12	98.26	0.3
	0.121 3	0.810 3	0.850 6	1.633 8	98.37				0.121 3	0.528 9	0.542 2	1.050 3	98.06		
	0.124 5	0.831 7	0.850 6	1.657 4	98.52				0.124 5	0.542 8	0.542 2	1.069 7	98.59		
	0.126 6	0.845 7	1.275 9	2.075 9	97.85	97.99	0.2		0.126 6	0.552 0	0.813 3	1.344 2	98.45	98.33	0.3
	0.125 7	0.839 7	1.275 9	2.073 0	97.99				0.125 7	0.548 1	0.813 3	1.340 8	98.49		
	0.123 9	0.827 7	1.275 9	2.064 6	98.15				0.123 9	0.540 2	0.813 3	1.326 9	98.03		
槲 皮 素	0.125 1	0.037 5	0.019 0	0.055 6	98.41	98.76	0.4	甘 草 苷	0.125 1	0.276 5	0.132 3	0.404 8	99.02	99.28	0.2
	0.124 8	0.037 4	0.019 0	0.055 9	99.11				0.124 8	0.275 8	0.132 3	0.406 1	99.51		
	0.122 5	0.036 8	0.019 0	0.055 1	98.75				0.122 5	0.270 7	0.132 3	0.400 2	99.31		
	0.126 8	0.038 0	0.038 0	0.074 9	98.55	98.32	0.2		0.126 8	0.280 2	0.264 6	0.537 8	98.72	98.68	0.1
	0.121 3	0.036 4	0.038 0	0.073 0	98.12				0.121 3	0.268 1	0.264 6	0.526 1	98.76		
	0.124 5	0.037 4	0.038 0	0.074 1	98.28				0.124 5	0.275 1	0.264 6	0.531 9	98.55		
	0.126 6	0.038 0	0.057 0	0.093 6	98.53	98.27	0.2		0.126 6	0.279 8	0.396 9	0.667 3	98.61	98.49	0.2
	0.125 7	0.037 7	0.057 0	0.093 0	98.20				0.125 7	0.277 8	0.396 9	0.663 2	98.30		
	0.123 9	0.037 2	0.057 0	0.092 4	98.09				0.123 9	0.273 8	0.396 9	0.661 0	98.55		
咖 啡 酸	0.125 1	0.116 3	0.056 7	0.171 0	98.84	98.78	0.3								
	0.124 8	0.116 1	0.056 7	0.170 2	98.50										
	0.122 5	0.113 9	0.056 7	0.168 9	99.00										
	0.126 8	0.117 9	0.113 4	0.228 0	98.57	98.22	0.4								
	0.121 3	0.112 8	0.113 4	0.222 4	98.32										
	0.124 5	0.115 8	0.113 4	0.224 1	97.77										
	0.126 6	0.117 7	0.170 1	0.282 1	98.02	98.13	0.1								
	0.125 7	0.116 9	0.170 1	0.281 9	98.22										
	0.123 9	0.115 2	0.170 1	0.280 0	98.14										

表 4 样品含量测定结果($n=4$)
Tab. 4 Results of sample determination($n=4$)

成分	批号: 20200403		批号: 20191211		批号: 20190802		批号: 20190618	
	含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
绿原酸	5.24	1.0	5.18	0.8	4.97	0.3	5.06	0.6
灰毡毛忍冬皂苷乙	9.28	0.4	8.97	0.3	8.75	0.3	8.51	0.5
川续断皂苷乙	3.23	0.8	3.09	1.0	3.11	0.3	2.97	0.5
芒果苷	6.68	0.3	6.31	0.2	6.47	0.5	6.35	0.7
槲皮素	0.30	1.5	0.28	1.0	0.28	0.7	0.26	1.1
咖啡酸	0.93	0.7	0.88	0.6	0.87	1.2	0.80	0.9
木犀草苷	0.25	1.0	0.24	1.6	0.22	1.3	0.22	0.8
阿魏酸	0.38	0.6	0.37	0.9	0.38	0.9	0.33	0.7
桔梗皂苷 D	1.07	0.6	1.02	1.1	0.99	0.7	0.95	0.3
橙皮苷	4.36	0.4	4.22	0.3	4.25	0.2	4.08	0.5
甘草苷	2.21	0.4	2.08	0.7	2.00	0.9	1.93	0.5

3.2 监测离子对的选择

质谱多反应监测模式以特征离子为目标,选择合适的母离子和子离子是检测的根本。实验先以全扫描模式确定母离子,再优化碎裂能量和碰撞能量,确定信号响应最强的子离子,最终为 11 种成分各确定 1 对定量离子。

3.3 供试品溶液制备方法的优化

比较了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液、甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液作为流动相的检测结果,发现乙腈和甲醇分离度相近,乙腈较甲醇洗脱能力更强,洗脱压力更低。同时,少量甲酸的加入既改善了峰型,又提高了响应,最终选用乙腈-0.1%甲酸水溶液作为流动相。

待测成分多为酚酸和皂苷,在水和甲醇中溶解度高,比较甲醇、70%甲醇、50%甲醇的提取效果,发现70%甲醇的提取效果最好,干扰较少,最终选用 70%甲醇作为提取溶剂。

比较超声和回流 2 种提取方法,发现相同提取时间,含量基本一致。考虑超声提取时溶剂挥发更少,结果重复性更好,最终选用超声提取法。

比较超声提取 15, 30, 45, 60 min 的结果,发现 30 min 后,各成分含量基本一致,最终选择提取时间为 30 min。

3.4 样品含量结果分析

调查发现,市售银花芒果片虽有“真环珠”“双龙出海”“宗药师”等多个商品名,但均为同一企业生产,比较“真环珠”4 批样品间含量,发现波动较小,后续将考察不同商品名的产品,并

对含量结果进行大数据分析,以制定更为严谨的质量控制标准。

本研究使用 HPLC-MS/MS 对银花芒果片中 11 种成分进行含量测定,方法简便快速、全面准确、灵敏度高、选择性好,可以为银花芒果片质量控制提供重要参考。同时,随着中国药典 2020 年版 0212 药材和饮片检定通则中新增质谱检测 33 种禁用农药,质谱检测技术必将更广泛地应用到多指标含量测定中。

REFERENCES

- [1] YBZ05142018, 国家食品药品监督管理局标准[S]. 2018.
- [2] TANG D Z. Determination of chlorogenic acid, mangiferin and hesperidin in Yinhuo Mangguo tablets by HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(11): 1373-1376.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2020: 附录 32, 88, 199, 289.
- [4] DUAN W P, LI Y, ZHENG Y F, et al. Analysis of water-soluble components in raw and honey-roasted licorice based on LC-MS/MS[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2020, 42(5): 1237-1243.
- [5] ZHANG K, XU X, LI T, et al. Chemome profiling of Citri Reticulatae Pericarpium using UHPLC-IT-TOF-MS[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2020, 45(4): 899-909.
- [6] YUAN Q, ZHANG F, SANG Y X, et al. Simultaneous determination of four effective components in Taraxaci Herba by UPLC-MS/MS[J]. J Int Pharm Res(国际药学研究杂志), 2019, 46(7): 552-556.
- [7] XIE X X, ZHANG C, ZENG J X, et al. Antitussive and expectorant activities and saponin components of Various extract Fractions from Platycodon grandiflorum (Jacq.) A.DC [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(13): 1647-1653.

- [8] WANG Y D, HE Y, DAI Z, et al. Simultaneous determination of seven organic acids in Lonicerae Flos using HPLC-MS/MS[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2016, 36(6): 998-1005.
- [9] XIE Z W, LI Q, LIU S. Simultaneous content determination of rutin and quercetin in folium mangiferae by HPLC[J]. Chin Pharm(中国药业), 2016, 25(21): 34-36.
- [10] ZHANG H B, WANG L. Simultaneous determination of 11 components in Fenghan Ganmao granules by UPLC-Q-Orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2019, 39(10): 1828-1835.
- [11] ZHANG D D, DONG J J, YU H B, et al. Simultaneous determination of six components in lanqin oral solution by LC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(23): 2899-2902.
- [12] SONG S, GUO H L, KANG J P. Simultaneous determination of nine bioactive components in Bazhen Yimu Pills by HPLC-ESI-MS/MS[J]. Chin Traditl Herbal Drugs(中草药), 2019, 50(2): 402-407.
- [13] ZHENG T S, LIU Q H, WANG W T. Simultaneous determination of 6 components in compound Jingchuan tablets by UHPLC-ESI-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(11): 1627-1631.
- [14] CUI A S, WANG M M, JIA S S, et al. Determination of five components in Sangju Ganmao tablets by HPLC-MS/MS[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2018, 38(7): 1254-1261.
- [15] GAO H M, HU Z L, ZHENG P, et al. Simultaneous determination of eight components in Xiaoer Anshen Bunao Granule by HPLC-MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(19): 73-78.

收稿日期: 2020-11-25

(本文责编: 曹粤锋)

中国现代应用药理学
http://www.chinjmap.com