

UHPLC-MS 同时测定蛇胆川贝液中 9 种胆酸类成分

林津晶, 郑燕芳*, 黄鸣清* (福建中医药大学药学院, 福州 350108)

摘要: 目的 采用 UHPLC-MS 同时测定蛇胆川贝液中 9 种胆酸类成分, 分析不同企业、不同批次产品中胆酸类成分的差异。方法 采用 Thermo Fisher Scientific Bremen HYPERSIL GOLD(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm) 为色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-甲醇, 梯度洗脱, 流速 0.2 mL·min⁻¹, 柱温为 40 ℃。加热电喷雾离子源 (HESI) 负离子模式, 质谱测定数据采用 PRM 扫描模式。结果 9 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999\ 2$), 平均加样回收率 (95.5±1.52)%~(103.1±3.81)%, RSD 1.1%~5.5%。从 19 批供试品中共测得牛磺胆酸、牛磺熊去氧胆酸、7-酮-3 α ,12- α -羟基胆烷酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺脱氧胆酸钠、胆酸、牛磺石胆酸钠、鹅去氧胆酸、去氧胆酸 9 种胆酸类成分; 其中, 牛磺胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺脱氧胆酸钠 3 种胆酸类化合物在所有批次供试品中均可测出。结论 该方法简便稳定, 对完善蛇胆川贝液的质量控制和评价方法具有一定参考价值。

关键词: 蛇胆川贝液; 胆酸类成分; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: R927.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2024)06-0805-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20224063

引用本文: 林津晶, 郑燕芳, 黄鸣清. UHPLC-MS 同时测定蛇胆川贝液中 9 种胆酸类成分[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(6): 805-811.

Simultaneous Determination of Nine Bile Acid Components in Shedan Chuanbei Liquid by UHPLC-MS

LIN Jinjing, ZHENG Yanfang*, HUANG Mingqing* (College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an UHPLC-MS method for simultaneous determination of 9 bile acids components in Shedan Chuanbei liquid. To analyze the differences of bile acids components from different manufacturers and different batches of product. **METHODS** Thermo Fisher Scientific Bremen HYPERSIL GOLD(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm) was selected as the chromatographic column. The mobile phase was 0.1% formic acid-water and methanol with gradient elution at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹, and the column temperature was 40 ℃. HESI negative ion mode was used for mass spectrometry, and PRM scanning mode was used for mass spectrometry data. **RESULTS** The calibration curves of 9 biles acids were linear in their own range ($r \geq 0.999\ 2$). The average recoveries ranged from (95.5±1.52)% to (103.1±3.81)%. The RSD ranged from 1.1% to 5.5%. Nine bile acids components including taurocholic acid, taurooursodesoxycholic acid, 7-ketone-3 α ,12- α -hydroxyl cholanic acid, taurochenodeoxycholic acid, sodium taurodeoxycholate, cholic acid, sodium taurocholate, chenodeoxycholic acid and deoxycholic acid were tentatively identified from 19 batches of test samples. Taurocholic acid, taurochenodeoxycholic acid and taurodeoxycholate sodium were detected in all the test batches. **CONCLUSION** This method is simple and stable, and has certain reference value for improving the quality control and evaluation of Shedan Chuanbei liquid.

KEYWORDS: Shedan Chuanbei liquid; bile acid components; UHPLC-MS

蛇胆川贝液的主要成分为蛇胆汁及平贝母, 具祛风止咳、除痰散结的功效。目前, 全国有蛇胆川贝液生产企业 137 家, 同一规格产品的价格相差较大, 最高单支价格约为最低单支价格的 5.3 倍, 提示不同生产企业的蛇胆川贝液原料药质量或生产工艺可能存在一定差异。同时, 近年来蛇胆川贝液多次因含量测定或鉴别检验不合格出现在国家药品质量公告中^[1-5]。

作为蛇胆川贝液的主药之一, 蛇胆汁原料的优劣及投药量直接影响制剂的质量与疗效。但蛇胆汁尚无国家质量标准, 仅在中国药典 2020 年版附录中记载“蛇胆汁为眼镜蛇科、游蛇科或蝰科动物多种蛇的胆汁”, 而以上 3 科属的蛇类在中国约有 200 种, 且目前药用蛇胆的来源复杂, 远超以上科属^[6-8]。蛇胆汁的主要活性成分为胆酸类化合物, 该类物质的分析测定对于蛇胆类制剂的

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973437, 82274080); 福厦泉国家自主创新示范区协同创新平台专项 (2021FX02)

作者简介: 林津晶, 女, 博士, 副教授
yfzheng@fjtc.edu.cn 黄鸣清, 男, 博士, 教授

E-mail: 2007063@fjtc.edu.cn
E-mail: hmq1115@126.com

*通信作者: 郑燕芳, 女, 博士, 副教授 E-mail:

质量控制有重要意义^[9]。有研究显示,部分不同来源的蛇胆汁中胆酸类成分的含量有较大差异,且可能产生药效差异^[10-12]。同时,由于药用价值独特,蛇胆需求量大,自然资源减少且来源复杂,价格昂贵,蛇胆汁掺伪现象时有发生。据文献报道,蛇胆汁中常见的掺伪物有其他动物的胆汁、淀粉糊、青菜汁、明胶液、色素及熟地黄提取液等^[8]。目前,蛇胆川贝液的国家标准以蛇胆汁中牛磺胆酸及杏仁水中氢氰酸含量作为质量控制标准之一^[13]。但有研究显示,牛磺胆酸并非蛇胆汁的特征性成分,鸡、鸭、牛及羊的胆汁中均含有牛磺胆酸;且牛胆汁与羊胆汁中牛磺胆酸的含量占比与蛇胆汁相似,均以牛磺胆酸含量最高^[10-11,14-16]。因此,仅将牛磺胆酸作为蛇胆川贝液的质量控制标准无法有效反映产品的真实质量,要解决这一问题,需对其中胆酸类成分进行更为全面地分析。

近年来,国内外研究人员运用薄层色谱、超高效液相色谱、液质联用、聚合酶链式反应等多种分析方法对蛇胆汁的鉴别、成分和质量控制等进行了研究^[8-12,17-21];亦有文献报道选用薄层色谱、高效液相色谱、液质联用等方法应用于蛇胆川贝液中牛磺胆酸含量测定、鉴别、掺伪筛查^[14-15,22-23];未涉及多厂家多批次产品中胆酸类成分的分析方法研究及含量差异可视化的识别分析。本研究建立超高效液相色谱系统串联四级杆-静电轨道阱质谱分离测定蛇胆川贝液中9种胆酸类化合物的方法,通过探究不同企业不同批次产品中胆酸类成分及其含量,以期完善该类制剂质量标准提供依据。

1 材料

1.1 仪器

DIONEX UHPLC 3000 超高效液相色谱系统串联四级杆-静电轨道阱质谱仪(赛默飞世尔公司),配备 HESI(电喷雾离子源);MILLI-Q Direct16 超纯水制备仪(Millipore 公司);CPA225D 十万分之一电子天平(Sartorius 公司);XM-400UHP 小美静音超声仪(昆山小美超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

牛磺熊去氧胆酸(批号:S10J11K108024)、牛磺鹅去氧胆酸(批号:Y09S8K43540)、胆酸(批号:T16J8Q28663)、鹅去氧胆酸(批号:Z01011

LA14)、7-酮-3 α ,12- α -羟基胆烷酸(批号:N30GB169735)、去氧胆酸(批号:S05N6I5476)、脱氢胆酸(批号:S30J9I64022),经 HPLC 测定,纯度均>98%,牛磺胆酸(批号:B15J11J118403;纯度 $\geq$ 95%),牛磺石胆酸钠(批号:Y06N9K74072;纯度 $\geq$ 97%),以上对照品均购自上海源叶生物科技有限公司;牛磺脱氧胆酸钠(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号:B26J9J53831;纯度 $\geq$ 95%);质谱甲醇为 LC-MS 级(美国赛默飞世尔公司);甲酸为 HPLC 级(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);其余试剂均为分析纯。19 批蛇胆川贝液[广州白云山潘高寿药业股份有限公司,批号分别为 2111011A, 2110015A, 2202031, 2112008, 编号为 S1~S4;江西盛翔制药有限公司,批号分别为 211204, 220204, 210705, 编号为 S5~S7;一力制药(罗定)有限公司,批号分别为 220202, 220201, 编号为 S8~S9;湖北纽兰药业有限公司,批号分别为 20211201, 20220502, 20220204, 20211106, 编号分别为 S10~S13;湖北济安堂药业股份有限公司,批号分别为 211109, 201103, 编号分别为 S14~S15;武汉鑫瑞药业有限公司,批号分别为 20220201, 20211007, 20211202, 20220105, 编号分别为 S16~S19]。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件 Thermo Fisher Scientific Bremen HYPERSIL GOLD(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.9 μ m) 色谱柱,流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~0.5 min, 20%B; 0.5~1.5 min, 20% $\rightarrow$ 70%B; 1.5~7 min, 70% $\rightarrow$ 61%B; 7~8 min, 61%B; 8~14 min, 61% $\rightarrow$ 80%B; 14~15 min, 80% $\rightarrow$ 85%B; 15~16 min, 85% $\rightarrow$ 90%B; 16~17.5 min, 90% $\rightarrow$ 20%B; 17.5~19 min, 20%B);流速 0.2 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温为 40 $^{\circ}$ C,进样量 2 μ L。

2.1.2 质谱条件 采用加热电喷雾离子源(HESI)负离子模式;喷雾电压 3.0 kV(-),毛细管温度 325 $^{\circ}$ C,辅助气加热温度 350 $^{\circ}$ C,鞘气流速 45 Arb,辅助气流速 10 Arb,吹扫气流速 1 Arb,质谱测定数据采用 PRM 扫描模式,各待测成分及内标物的质谱优化参数见表 1,对照品溶液及供试品溶液中的各成分 PRM 色谱图见图 1。

表 1 9 种胆酸类成分及内标物的质谱优化参数

Tab. 1 Mass spectrum conditions of 9 bile acid components and internal standard substance

序号	化合物	t_R/min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
1	牛磺熊去氧胆酸	6.34	498.28	79.95	100
2	牛磺胆酸	7.72	514.28	79.56	124
3	7-酮-3 α ,12- α -羟基胆烷酸	7.92	405.26	123.08	45
4	牛磺鹅去氧胆酸	12.33	498.28	79.95	100
5	牛磺脱氧胆酸钠	13.44	498.29	79.95	100
6	胆酸	14.38	407.28	407.28	37
7	牛磺石胆酸钠	16.04	482.29	79.95	96
8	鹅去氧胆酸	17.04	391.28	391.28	10
9	去氧胆酸	17.28	391.28	391.28	10
10	脱氢胆酸	5.29	401.23	249.14	36

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液及内标溶液的配制 分别精密称取 9 种对照品，加入甲醇后超声溶解，分别配制为 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的单一对照品母液。分别精密称取适量各对照品母液置于量瓶中，用甲醇稀释至刻度线，摇匀，得到质量浓度为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备溶液。精密称取脱氢胆酸对照品适量，用甲醇溶解配制为浓度 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标母液。精密量取适量对照品母液置于量瓶中，用甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，得到浓度为 $20\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取各批次蛇胆川贝液 1 mL ，分别置于 10 mL 量瓶中，加入甲醇

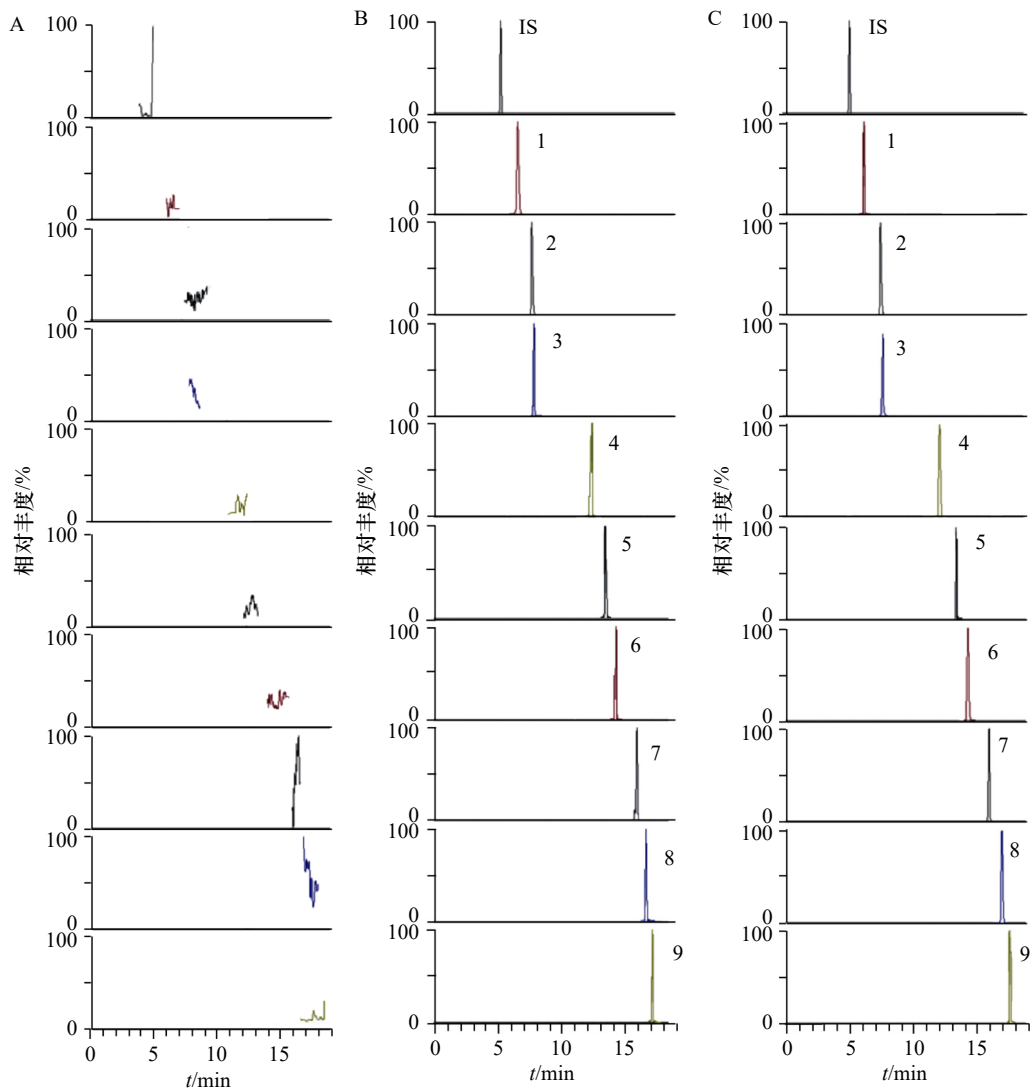


图 1 9 种胆酸类成分及内标物的 PRM 色谱图

A-空白溶液；B-对照品溶液；C-供试品溶液。

Fig. 1 PRM chromatograms of 9 bile acid components and internal standard substance

A-blank solution; B-reference substance solution; C-sample solution.

至刻度，充分摇匀，超声 30 min 后，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液适量，置于量瓶中，再用甲醇稀释至刻度，得供试品溶液。取供试品溶液适量，按 1 : 1 比例加入内标溶液后进样分析。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 以蛇胆川贝液处方配比，取除蛇胆汁外的其他组分，按照“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系、检测限和定量限考察 准确移取各对照品溶液，用甲醇稀释，分别制成系列浓度的混合对照品溶液，按“2.2.2”项下方法制备各浓度的标准曲线待测样品，混匀后进样分析，考察待测物和内标物的峰面积之比 (A/A_s) 与待测物浓度 (C) 的线性关系，用 A/A_s 对待测物的浓度作图，可得标准曲线。以信噪比 3 : 1 和 10 : 1 计算方法的最低检测限和最低定量限，结果见表 2，表明各成分在各自范围内线性关系良好。

2.3.2 仪器精密度试验 取混合对照品母液适量，分别配制低、中、高 3 个浓度梯度，按照“2.1”项下分析条件，当天连续进样 6 次测定其日内精密度；连续测定 3 d，计算日内精密度和日间精密度。结果显示蛇胆川贝液中 9 种胆酸类成分低、中、高 3 个浓度溶液日内及日间 RSD 均 <5%，表明本方法精密度较好。

2.3.3 稳定性试验 取蛇胆川贝液 (S8，批号：220202)，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，分别于制备后 0，2，4，6，8，12，24，48 h 注入仪器中测定，记录各成分峰面积并计算其 RSD 值。结果显示牛磺熊去氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺脱氧胆酸钠、胆酸、牛磺石胆酸钠、鹅去氧胆酸、去氧胆酸峰面积的

RSD 分别为 1.82%、2.25%、2.92%、2.77%、4.19%、1.74%、2.83%、4.39%，表明供试品在 48 h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 取同一批次蛇胆川贝液 (S8，批号：220202)，按照“2.1”项下分析条件测定 9 种待测物的含量 ($n=6$)，计算方法的重复性。结果显示牛磺熊去氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺脱氧胆酸钠、胆酸、牛磺石胆酸钠、鹅去氧胆酸、去氧胆酸含量的 RSD 分别为 2.42%、1.87%、2.74%、2.67%、1.38%、2.25%、2.39%、5.56%，表明本方法重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 采用加标回收率测定法，取蛇胆川贝液 (S8，批号：220202)，分别加入低、中、高 3 个浓度的混标溶液，每个浓度平行制备 3 份，按样品的制备方法制备并测定样品，计算平均回收率，结果见表 3。

2.4 样品含量测定

采用“2.2.2”方法制备供试液，按照“2.1”项下分析条件同时对 19 批蛇胆川贝液样品中 9 种待测成分进行测定，结果见表 4。

3 讨论

3.1 色谱条件分析

胆酸类化合物显弱酸性，降低流动相 pH 值有助于改善胆酸类成分的分离度^[24]。研究中考查了 0.05% 甲酸水溶液-甲醇及 0.1% 甲酸水溶液-甲醇 2 种比例的流动相，结果显示当甲酸浓度为 0.1% 时，胆酸类成分已可达至较理想的离子强度与分离度，因此，以其作为本分析方法中的流动相。柱温提高有利于色谱峰的分离及峰形优化，考虑到柱温过高有可能造成胆酸类成分分解，故本研究设定柱温为 40 ℃。在其他色谱条件不变的

表 2 回归方程、相关系数、线性范围、检测限及定量限

Tab. 2 Regression equations, correlation coefficient, linear ranges, limits of determination and limits of quantification

化合物	回归方程	R^2	线性范围/ng·mL ⁻¹	检测限/ng·mL ⁻¹	定量限/ng·mL ⁻¹
牛磺熊去氧胆酸	$Y=0.0684X-0.1520$	0.9995	0.74~45	0.17	0.51
牛磺胆酸	$Y=0.3900X+6.4900$	0.9995	80.10~8614.39	0.17	0.51
7-酮-3α,12-α-羟基胆烷酸	$Y=0.1480X-0.0549$	0.9996	2.71~108.82	0.72	2.16
牛磺鹅去氧胆酸	$Y=0.5550X-0.3240$	0.9992	5.78~338.27	0.17	0.51
牛磺脱氧胆酸钠	$Y=0.8130X-3.5700$	0.9992	10.06~647.82	0.67	2.01
胆酸	$Y=0.1120X+1.4900$	0.9993	16.06~2460.11	1.06	3.17
牛磺石胆酸钠	$Y=0.9380X-0.1710$	0.9996	0.72~52.41	0.09	0.26
鹅去氧胆酸	$Y=1.4100X+2.0300$	0.9996	1.04~148.64	0.17	0.52
去氧胆酸	$Y=4.6498X+1.2694$	0.9995	0.31~50.76	0.07	0.21

表 3 加样回收率试验结果 (n=9)

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

化合物	原含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	平均回收率/ %	RSD/ %	化合物	原含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	平均回收率/ %	RSD/ %
牛磺熊去氧胆酸	3.38	1.69	5.07±0.06	99.9±3.55	3.6	胆酸	2.56	1.28	3.81±0.046	97.3±3.63	3.7
		3.38	6.62±0.051	95.5±1.52	1.6			2.56	5.12±0.098	99.9±3.81	3.8
		5.08	8.51±0.129	101.0±2.54	2.5			3.84	6.37±0.209	99.1±5.43	5.5
牛磺胆酸	123.10	61.55	181.87±1.13	95.5±1.84	1.9	牛磺石胆酸钠	0.08	0.04	0.12±0.002	97.8±4.25	4.3
		123.10	242.85±4.20	97.3±3.41	3.5			0.08	0.17±0.003	102.3±4.01	3.9
		184.65	301.65±4.265	96.7±2.31	2.4			0.12	0.21±0.004	99.4±2.87	2.9
7-酮-3α,12-α-羟基胆烷酸	0.00	1.00	0.97±0.051	96.6±5.10	5.3	鹅去氧胆酸	0.36	0.18	0.54±0.005	102.5±2.60	2.6
		2.00	2.01±0.099	100.4±4.96	4.9			0.36	0.71±0.010	95.9±2.75	2.9
		3.00	3.09±0.105	103.0±3.52	3.4			0.54	0.91±0.022	101.7±4.09	4.0
牛磺鹅去氧胆酸	11.98	5.99	17.87±0.280	98.3±4.67	4.7	去氧胆酸	0.01	0.005	0.01±0.000 2	103.1±3.81	3.7
		11.98	23.56±0.347	96.7±2.90	3.0			0.01	0.01±0.000 2	99.8±3.05	3.1
		17.97	30.37±0.753	102.3±4.19	4.1			0.02	0.02±0.001	101.7±4.79	4.7
牛磺脱氧胆酸钠	1.52	0.76	2.24±0.022	95.7±2.88	3.0						
		1.52	2.99±0.064	97.2±4.22	4.3						
		2.28	3.77±0.024	99.1±1.05	1.1						

表 4 不同批次蛇胆川贝液胆酸类成分含量测定结果

Tab. 4 Contents of targeted compounds in Shedan Chuanbei liquid from different batches

μg·mL⁻¹

批次	牛磺熊去 氧胆酸	牛磺胆酸	7-酮-3α,12-α- 羟基胆烷酸	牛磺鹅去氧胆酸	牛磺脱氧 胆酸钠	胆酸	牛磺石胆酸钠	鹅去氧胆酸	去氧胆酸	总含量
S1	—	324.01	—	7.79	1.80	2.93	—	—	—	336.53
S2	4.01	338.08	0.12	20.51	3.16	5.53	0.08	—	—	371.49
S3	—	329.17	—	7.06	1.87	2.23	—	—	—	340.33
S4	—	375.34	0.27	13.64	3.57	4.38	—	—	—	397.20
S5	—	276.69	0.18	2.85	1.83	6.40	—	—	—	287.95
S6	—	280.62	0.17	2.73	1.76	5.96	—	—	—	291.24
S7	—	319.22	0.16	8.47	3.19	6.13	—	—	—	337.17
S8	6.77	246.21	—	23.96	3.04	5.12	0.17	0.72	0.02	285.99
S9	7.06	257.26	—	26.44	3.28	5.49	0.17	0.68	—	300.38
S10	—	267.37	—	3.38	3.03	—	—	—	0.15	273.93
S11	—	259.33	—	5.81	2.35	—	—	—	0.13	267.62
S12	—	261.68	—	6.42	2.56	—	—	—	0.13	270.79
S13	—	267.32	—	3.39	3.01	—	—	—	0.14	273.86
S14	—	265.22	0.18	10.32	2.74	9.62	0.06	0.32	—	288.46
S15	—	304.57	—	3.68	2.50	1.36	—	—	—	312.11
S16	—	379.68	—	2.86	1.38	—	—	—	0.12	384.04
S17	—	266.35	—	1.73	1.31	—	—	—	0.10	269.49
S18	—	307.02	—	1.55	1.31	3.96	—	—	0.11	313.95
S19	—	394.71	—	3.00	1.44	2.73	—	—	0.11	401.99

情况下，本研究考查了 Waters BEH 色谱柱与 Thermo Fisher Scientific Bremen HYPERSIL GOLD 色谱柱，研究显示，后者则可获得较好的分离效果，且各成分峰形理想，因此，本研究选用后者作为分析用色谱柱。

3.2 供试品提取条件分析

蛇胆川贝液国家标准修订草案中采取大孔吸附树脂柱对样品中牛磺胆酸进行分离、浓缩，考虑到国家标准中仅考察 1 种胆酸类成分及大孔吸

附树脂可能对供试品中其他胆酸类成分的分离提取产生影响；且复杂的处理程序可能影响结果的重复性。同时，胆汁中含有部分蛋白质，若采用水作为供试品的提取溶剂，易有较多杂质，故本研究选用甲醇作为供试品提取溶剂，获得了较好的浓缩效率及重现性。

3.3 胆酸类成分含量分析

从 19 批供试品中共测得牛磺胆酸、牛磺熊去氧胆酸、7-酮-3α,12-α-羟基胆烷酸、牛磺鹅去氧胆

酸、牛磺脱氧胆酸钠、胆酸、牛磺石胆酸钠、鹅去氧胆酸、去氧胆酸 9 种胆酸类成分。同一企业不同批次供试品中的胆酸类成分及其含量有一定差异性；提示不同批次供试品原料质量可能存在波动性。各批次蛇胆川贝液供试品中胆酸类化合物总含量差异不明显；所有批次供试品中均可检测出牛磺胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺脱氧胆酸钠 3 种胆酸类化合物。19 批次的供试品中均未检出甘氨酸去氧胆酸及 $>50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的甘氨酸去氧胆酸，依据文献研究结果^[9]，所有供试品均无在原料中掺伪猪、牛及羊 3 种动物胆汁的情况。所有批次供试品中的胆酸类成分以牛磺胆酸含量最高；且不同企业不同批次的牛磺胆酸含量接近；同一企业不同批次的供试品中，其含量虽有波动但相对较为稳定。不同企业的牛磺鹅去氧胆酸含量有较大差异，最高值为最低值的 17 倍；且同一企业不同批次的牛磺鹅去氧胆酸含量亦有较大波动，最大差异量近 10 倍。同时，各批次供试品中牛磺胆酸与牛磺鹅去氧胆酸的含量比值介于 9.73~198.07，不同批次的产品该比值波动较大；有研究显示^[9]，蛇胆样品中牛磺胆酸与牛磺鹅去氧胆酸的含量比值应 ≥ 10 ，否则可认为掺入了鸡胆汁或鸭胆汁等伪品；据此，可判断除其中 1 批供试品外，其余供试品无鸡胆汁或鸭胆汁掺伪情况。

4 结论

本研究建立了 UHPLC-MS 同时分离测定蛇胆川贝液中 9 种胆酸类化合物含量的方法，色谱条件重复性好、精密度及稳定性高。不同企业或不同批次蛇胆川贝液中胆酸类成分含量存在一定差异性，原因可能在于不同批次产品原料质量存在差异性，不同企业采用的蛇胆来源不同且生产工艺存在一定差异性。建议该类制剂生产企业及药品监督管理部门关注此问题；可考虑将多种胆酸类成分含量测定纳入蛇胆川贝液国家质量标准或作为该类产品生产企业的质量内控标准，完善该类制剂质量控制方法，保障所有蛇胆川贝液制剂可达到效果及质量的一致性。

REFERENCES

[1] 湖北省药品监督管理局. 湖北省药品质量公告 (2019 年第 1 期)[EB/OL]. (2019-05-07) [2022-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypchj/ypdfgg/hubss/20190507000001599.html>.

[2] 原安徽省食品药品监督管理局. 安徽省药品质量公告 (2018 年第 1 期, 总第 47)[EB/OL]. (2018-01-17) [2022-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypchj/ypdfgg/anhss/20180117000001340.html>.

[3] 山东省药品监督管理局. 山东省药品监督管理局药品质量抽检通告 (2020 年第 9 期)[EB/OL]. (2020-12-05) [2022-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypchj/ypdfgg/shdss/20201226020627919.html>.

[4] 原国家食品药品监督管理总局. 总局关于库尔勒龙之源药业有限责任公司等 25 家企业 29 批次药品不合格的通告 (2016 年第 156 号)[EB/OL]. (2016-11-25) [2022-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypchj/ypgjgg/20161125165601915.html>.

[5] 原国家食品药品监督管理总局. 总局关于湖北济安堂药业有限公司等 3 家企业多批次药品不合格的通告 (2016 年第 117 号)[EB/OL]. (2016-08-09) [2022-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypchj/ypgjgg/20160809160801751.html>.

[6] 中国药典. 四部[S]. 2020: 557.

[7] 赵尔宓, 黄美华, 宗愉. 等. 中国动物志. 爬行纲 (第三卷) 有鳞目: 蛇亚目[M]. 北京: 科学出版社, 1998.

[8] WU G F, ZHANG W J, CHENG X L, et al. Identification of Fel Serpentinis and its adulterants with specific PCR method[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(10): 2053-2056.

[9] ZHANG J. Studies on the composition and quality control of bile acids in snake bile[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2017.

[10] FAN Y Q. Studies on quality standard of snake bile[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.

[11] MA T T. Study on quality standard of snake bile based on the modern analytical combination technology[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2018.

[12] ZHANG J, PENG J, CHEN X Y, et al. Rapid identification of bile acids in snake bile using ultrahigh-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 2016(1036/1037): 157-169.

[13] 国家药典委员会. 关于蛇胆川贝液国家药品标准草案的公示[EB/OL]. (2020-12-09) [2021-10-09]. <https://www.chp.org.cn/gijyw/zy/15636.jhtml>.

[14] CHEN X Y, ZHANG J, FAN Y Q, et al. Quality analysis of snake bile and its preparations[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2019, 54(17): 1380-1386.

[15] LIU D L, MA F, ZHANG Y H, et al. Screening for adulteration of snake bile in Shedan Chuanbei liquid and discussion on current standard[J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med(成都中医药大学学报), 2021, 44(4): 23-27.

[16] CAO Y, ZHANG P J, LI T, et al. Analysis of bile acid profiles in bear bile powder and other medicinal bile using ^1H -NMR and LC-MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2022, 53(17): 5283-5292.

[17] HUANG B, HUANG Q Q, BAI G C, et al. Identification of snake bile characteristic components by ultra-high performance liquid chromatography-time of flight mass spectrometry[J].

- Central South Pharm(中南药学), 2022, 20(6): 1301-1308.
- [18] XIANG Y, SHI Z, MEI H S, et al. Method comparison for the determination of taurocholic acid in snake bile[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2000, 17(3): 194-195.
- [19] ZHENG T J, CHENG X L, WAN L C, et al. Differentiation of various snake bile derived from different genus by high-performance thin-layer chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J AOAC Int, 2019, 102(3): 708-713.
- [20] ZHANG J, FAN Y Q, GONG Y J, et al. Simultaneous determination of nine kinds of dominating bile acids in various snake bile by ultrahigh-performance liquid chromatography with triple quadrupole linear iontrap mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017(1068/1069): 245-252.
- [21] YEH Y H, WANG D Y, LIAU M Y, et al. Bile acid composition in snake bile juice and toxicity of snake bile acids to rats[J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2003, 136(3): 277-284.
- [22] ZHU B H, FANG J H, LI J F, et al. Determination of taurocholic acid in Shedan chuanbei Oral Liquid and snake bile by SPE-HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2003, 25(4): 281-284.
- [23] XIE Z M, WANG M C, WANG Y X, et al. Study on the identification method of snake bile in snake bile Fritillaria liquid[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2003, 25(7): 583-584.
- [24] WANG M M, YU Y L, QU Y C, et al. Determination of fifteen bile acids concentration in rats' serum by LC-MS/MS[J]. China Ind Econ(中国现代应用药理学), 2020, 37(9): 1030-1034.
- 收稿日期: 2022-12-05
(本文责编: 曹粤锋)