

LC-MS/MS同时测定窝儿七中10种成分的含量

白玮¹, 孙晓², 许苗苗², 李真¹, 王薇¹, 宋小妹^{1*}, 张亚锋^{2*}

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 西安市食品药品检验所, 西安 710054)

[摘要] 目的:建立 LC-MS/MS同时测定不同批次窝儿七中山柰酚葡萄糖苷,山荷叶素葡萄糖苷,arabesine,鬼臼毒素葡萄糖苷,4'-去甲基鬼臼毒素,山柰酚,鬼臼毒酮,山荷叶素,槲皮素,鬼臼毒素10种成分含量的分析方法,分析不同批次窝儿七化学成分间相似性及差异程度,为建立窝儿七药材质量的综合评价体系,提供新的科学依据。方法:采用 COSMOSIL-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱(0~30 min,30%乙腈;30~40 min,30%~32%乙腈;40~40.5 min,32%~50%乙腈;40.5~50 min,50%~60%乙腈;50~85 min,60%乙腈;85~85.5 min,60%~30%乙腈;85.5~95 min,30%乙腈),流速0.3 mL·min⁻¹,检测波长300 nm,柱温30℃;采用电喷雾离子源(ESI),正离子模式多反应监测,对不同批次窝儿七中10种化学成分进行含量测定。结果:10种成分进样质量浓度与峰面积现良好的线性关系($r > 0.999 1$),线性范围分别为0.07~2.23,0.39~12.40,0.05~1.68,0.12~3.88,0.05~1.73,0.08~2.70,0.05~1.00,0.04~1.10,0.04~0.58,0.18~5.67 mg·L⁻¹,精密度、重复性、稳定性的RSD都低于2%,平均回收率为98.61%~99.93%,不同批次间窝儿七药材化学成分的含量差异明显。结论:该方法快速、灵敏、准确度高,可用于检测不同批次窝儿七成分含量,为建立和完善窝儿七药材质量的综合评价体系提供了重要数据。

[关键词] 窝儿七;液相色谱质谱联用技术;含量测定

[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)18-0063-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181812

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180702.1851.011.html>

[网络出版时间] 2018-07-03 9:15

Simultaneous Determination of Ten Components in *Diphylleia sinensis* by LC-MS/MS

BAI Wei¹, SUN Xiao², XU Miao-miao², LI Zhen¹, WANG Wei¹,

SONG Xiao-mei^{1*}, ZHANG Ya-feng^{2*}

(1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2. Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) method for content determination of ten compounds including kaempferol-3-O-β-D-glucoside, diphyllin-4-O-β-D-glucoside, diphyllin-4-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-arabinopyranoside, podophyllotoxin-4-O-β-D-glucoside, 4'-demethylpodophyllotoxin, kaempferol, podophyllotoxone, diphyllin, quercetin, and podophyllotoxin from *Diphylleia sinensis* in different batches, analyze the similarities and differences in the chemical constituents between different batches of samples, and provide a new scientific basis for establishing a comprehensive evaluation system on the quality of *D. sinensis*. **Method:** The separation was performed on COSMOSIL-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at 30℃ with a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹, with acetonitrile-0.1% formic acid solution as the mobile phase for gradient elution (0-30 min, 30% acetonitrile; 30-40 min, 30%-32% acetonitrile. 40.0-40.5

[收稿日期] 20180110(005)

[基金项目] 陕西省中药基础与新药研究重点实验室项目;陕西省教育厅2016年度重点实验室重点科研项目(16JS022)

[第一作者] 白玮,在读硕士,从事中草药药效物质基础研究,E-mail:2273715075@qq.com

[通信作者] *宋小妹,教授,硕士生导师,从事中药药效物质基础及中药炮制研究,E-mail:2051087@sntcm.edu.cn;

*张亚锋,硕士,副主任药师,从事药品及食品质量分析,Tel:029-85513291,E-mail:27327242@qq.com

min, 32% -50% acetonitrile; 40.5-50.0 min, 50% -60% acetonitrile; 50-85 min, 60% acetonitrile; 85.0-85.5 min, 60% -30% acetonitrile; 85.5-95.0 min, 30% acetonitrile), and the detection wavelength was set at 300 nm. The analyte was monitored by positive electrospray ionization (ESI) in multiple reaction monitoring mode to determine the content of ten compounds in different batches of *D. sinensis*. **Result:** Ten components showed good linear relationships within the investigated concentration ranges ($r > 0.999 1$) as follows: 0.07-2.23, 0.39-12.40, 0.05-1.68, 0.12-3.88, 0.05-1.73, 0.08-2.70, 0.05-1.00, 0.04-1.10, 0.04-0.58, and 0.18-5.67 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, with RSDs of the precision, repeatability and stability less than 2%, and the average recovery rate was in the range of 98.61% -99.93% respectively. Significant differences were found in the chemical constituents of the *D. sinensis* between different batches. **Conclusion:** The method is rapid and sensitive with high precision, and it can be used to detect the content of components in *D. sinensis* from different batches. This method would provide important data for establishing and completing the medicinal quality comprehensive evaluation system of *D. sinensis*.

[**Key words**] *Diphylleia sinensis*; LC-MS/MS; content determination

窝儿七为小檗科鬼臼亚科山荷叶属植物中华山荷叶的干燥根及根茎^[1],为陕西省秦巴山地区广泛使用的民间草药,在我国主要分布于甘肃、湖北、云南、陕西等地。据《中草药大辞典》及《太白山本草志》记载,其根茎能清热凉血、活血止痛,主治风湿关节炎、月经不畅、跌打损伤、筋骨疼痛等^[2-3]。早在 20 世纪 80 年代,国内外学者就已经开始对鬼臼类植物的化学成分进行了研究,发现窝儿七根及根茎主要包含木脂素类和黄酮两大类化学成分^[4]。近年来,相关报道表明,木脂素类化合物能抗肿瘤、治疣,尤其鬼臼毒素具有明显的抗肿瘤作用,将鬼臼毒素为原料进行修饰,还可合成多种抗肿瘤新药;黄酮类成分在内分泌系统、心血管系统和抗肿瘤方面均有显著作用^[5-9]。另有相关研究表明,应用鬼臼毒素酊治疗尖锐湿疣治愈率高,复发率低,治疗后不易感染,具有较好的皮肤靶向性,安全性较高;若联合电灼治疗,出现糜烂等不良反应较小,无系统性不良反应;如应用较高浓度鬼臼毒素治疗尖锐湿疣,疗效则更为显著,局部不良反应小,此方法简易且经济,可使长期复发、顽固的尖锐湿疣得到根治;将鬼臼毒素酊辅以口服左旋咪唑治疗扁平疣,疗效更佳,疗程短、不良反应轻、治愈率更高^[10-12]。因此,窝儿七中鬼臼毒素可作为治疗尖锐湿疣及扁平疣的一线药物,对其进行深入临床研究,具有重要意义。作为秦巴山区特色药材“太白七药”的主要代表药物之一,窝儿七的药用价值极高,然而对于窝儿七药材质量控制标准的研究较为薄弱,目前,已有文献报道采用 HPLC 测定窝儿七中主要成分含量^[13-15],但所测成分较少,本文旨在建立更高效的 LC-MS/MS 分析方法来测定不同批次窝儿七中多个

主要成分含量,包括山柰酚葡萄糖苷,山荷叶素葡萄糖苷,arabesine,鬼臼毒素葡萄糖苷,4'-去甲基鬼臼毒素,山柰酚,鬼臼毒酮,山荷叶素,槲皮素,鬼臼毒素,与传统方法相比,更快速、准确且灵敏^[16-17],为建立窝儿七药材质量的综合评价体系及窝儿七的中医临床使用,提供新的科学依据。

1 材料

6410 型质谱仪(配有电喷雾离子源, Mass Hunter 数据采集处理工作站),1200 型液相色谱系统(配有 G1311A 四元梯度泵, G1322A 在线真空脱气机, G1329A 自动进样器, G1316A 柱温箱)(美国安捷伦科技公司);GB204 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-500DE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

山柰酚葡萄糖苷,山荷叶素葡萄糖苷,arabesine,鬼臼毒素葡萄糖苷,4'-去甲基鬼臼毒素,山柰酚,鬼臼毒酮,山荷叶素,槲皮素和鬼臼毒素 10 种对照品均由本课题组分离制得,经高相液相色谱按面积归一化法测定纯度均 > 98%;甲醇、乙腈为色谱纯(天津市科密欧化学试剂有限公司);实验水为娃哈哈纯净水;其余所用试剂均为分析纯(天津市天力化学有限公司)。

19 批窝儿七药材样品分别采集于甘肃及陕西太白、陈仓、眉县、陇县、凤县、周至等地,由陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为小檗科山荷叶属植物中华山荷叶 *Diphylleia sinensis* 的干燥根及根茎。具体药材来源见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 COSMOSIL-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液,

表 1 19 批窝儿七药材来源

Table 1 Sources of 19 *Diphylleia sinensis* samples

批次	产地	采收时间
S1	陕西太白县咀头镇唐口村王组刘秀寨	2015 年 10 月
S2	陕西太白县咀头镇唐口村云溪谷沟口	2015 年 10 月
S3	陕西太白县痞子口村大沙沟	2015 年 10 月
S4	陕西太白县咀头镇拐里四组	2015 年 10 月
S5	陕西太白县小沟沟四方林	2015 年 10 月
S6	陕西太白县桃川镇路平沟村老婆庵	2015 年 10 月
S7	陕西太白县咀头镇石沟	2015 年 10 月
S8	陕西太白县咀头镇唐口村王组刘秀寨山坡	2015 年 10 月
S9	陕西太白县咀头镇唐口村王组龙王山坡	2015 年 10 月
S10	陕西太白县咀头镇马台沟	2015 年 10 月
S11	陕西太白县桃川镇杜家庄村小沙沟石门	2015 年 11 月
S12	陕西太白县咀头镇唐口村王组刘秀寨山坡	2015 年 9 月
S13	陕西眉县红河谷	2015 年 11 月
S14	陕西周至厚畛子	2015 年 11 月
S15	甘肃	2015 年 9 月
S16	陕西陈仓大岭	2015 年 11 月
S17	陕西凤县紫白	2015 年 11 月
S18	陕西陇县	2015 年 11 月
S19	眉县红河谷	2015 年 10 月

梯度洗脱 (0 ~ 30 min, 30% 乙腈; 30 ~ 40 min, 30% ~ 32% 乙腈; 40 ~ 40.5 min, 32% ~ 50% 乙腈; 40.5 ~ 50 min, 50% ~ 60% 乙腈; 50 ~ 85 min, 60% 乙腈; 85 ~ 85.5 min, 60% ~ 30% 乙腈; 85.5 ~ 95 min, 30% 乙腈); 柱温 30 °C; 流速 0.3 mL·min⁻¹; 检测波长 300 nm; 进样量 10 μL。

2.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 采用正离子扫描模式, 采集方式多反应监测 (MRM); 离子化温度 (TEM) 390 °C; 喷雾电压 (IS) 5 000 V, 各成分具体质谱分析参数见表 2。

2.3 混合对照品溶液制备 分别精密称取山柰酚葡萄糖苷 2.23 mg, 山荷叶素葡萄糖苷 12.40 mg, arabeline 1.68 mg, 鬼臼毒素葡萄糖苷 3.88 mg, 4'-去甲基鬼臼毒素 1.73 mg, 山柰酚 2.70 mg, 鬼臼毒酮 1.00 mg, 山荷叶素 1.10 mg, 槲皮素 0.58 mg, 鬼臼毒素 5.67 mg, 分别置于 10 mL 的量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得对照品储备液。分别取各对照品储备液 1 mL, 置同一 100 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 配置成质量浓度分别为 2.23, 12.40, 1.68, 3.88, 1.73, 2.70, 1.00, 1.10, 0.58, 5.67 mg·L⁻¹ 的混合溶液, 即得。

表 2 质谱条件参数

Table 2 MS parameters

No.	化合物	出口电压 Frag/V	碰撞能量 CE/eV
1	山柰酚葡萄糖苷	135	25
2	山荷叶素葡萄糖苷	115	25
3	arabeline	195	45
4	鬼臼毒素葡萄糖苷	135	30
5	4'-去甲基鬼臼毒素	115	15
6	山柰酚	125	15
7	鬼臼毒酮	115	29
8	山荷叶素	125	30
9	槲皮素	115	15
10	鬼臼毒素	135	16

注: 扫描次数均为 30。

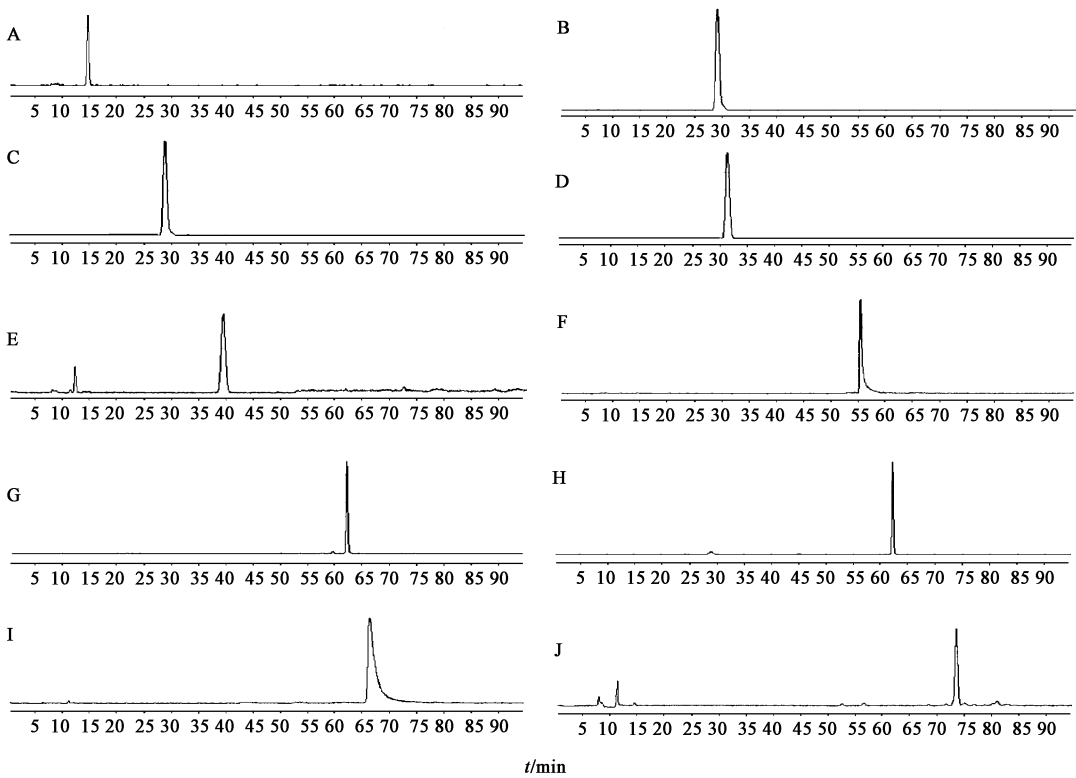
2.4 供试品溶液制备 分别取 19 批窝儿七药材粉末 (过 5 号筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入甲醇 20 mL, 超声提取 30 min 后 (250 W, 40 kHz) 取出, 放冷以甲醇补足失重。上清液滤过浓缩至干, 用甲醇溶解定容至 25 mL 量瓶中。精密量取 5 mL, 加甲醇稀释定容至 100 mL 量瓶, 摇匀, 精密量取该溶液 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 静置, 过 0.22 μm 微孔滤膜后备用。

2.5 线性关系考察 取 2.3 项下混合对照品溶液, 用甲醇依次稀释 2 倍, 配制系列浓度的混合对照品溶液, 分别进样 10 μL, 在 2.1 和 2.2 项下条件测定。以进样量 $X(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ 对色谱峰面积 Y 绘制标准曲线, 得 10 种化合物的回归方程、相关系数和线性范围, 见表 3。10 种化合物的 MRM 图见图 1。

表 3 10 种化合物的标准曲线和线性范围

Table 3 Standard curves and linear ranges of 10 compounds

化合物	回归方程	r	线性范围 /mg·L ⁻¹
山柰酚葡萄糖苷	$Y = 5.0 \times 10^6 X - 59.438$	0.999 3	0.07 ~ 2.23
山荷叶素糖苷	$Y = 5.0 \times 10^6 X - 589.67$	0.999 4	0.39 ~ 12.40
arabeline	$Y = 2.0 \times 10^7 X - 484.78$	0.999 1	0.05 ~ 1.68
鬼臼毒素葡萄糖苷	$Y = 1.0 \times 10^7 X - 397.09$	0.999 2	0.12 ~ 3.88
4'-去甲基鬼臼毒素	$Y = 3.0 \times 10^7 X - 1 142.2$	0.999 5	0.05 ~ 1.73
山柰酚	$Y = 3.0 \times 10^7 X + 167.97$	0.999 7	0.08 ~ 2.70
鬼臼毒酮	$Y = 3.0 \times 10^6 X - 29.201$	0.999 3	0.05 ~ 1.00
山荷叶素	$Y = 4.0 \times 10^7 X + 133.21$	0.999 3	0.04 ~ 1.10
槲皮素	$Y = 2.0 \times 10^8 X - 2 756.9$	0.999 4	0.04 ~ 0.58
鬼臼毒素	$Y = 2.0 \times 10^6 X + 80.154$	0.999 6	0.18 ~ 5.67



A. 山柰酚葡萄糖苷; B. 山荷叶素葡萄糖苷; C. arabeline; D. 鬼臼毒素葡萄糖苷; E. 4'-去甲基鬼臼毒素; F. 山柰酚; G. 鬼臼毒酮; H. 山荷叶素; I. 槲皮素; J. 鬼臼毒素

图 1 10 种化合物的 MRM

Fig. 1 MRM of 10 compounds

2.6 方法学考察

2.6.1 精密度试验 精密吸取窝儿七混合对照品溶液 10 μL , 连续进样 6 次, 测得峰面积, 计算 10 种化合物的 RSD, 结果见表 4。

表 4 精密度、稳定性试验 ($n=6$)

Table 4 Precision, stability of 10 ingredients ($n=6$)

化合物	平均质量 分数 $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%		
		精密度	稳定性	重复性
山柰酚葡萄糖苷	2.85	1.8	1.0	1.5
山荷叶素葡萄糖苷	3.52	0.9	1.0	0.8
arabeline	1.76	0.8	0.9	1.1
鬼臼毒素葡萄糖苷	11.38	1.0	1.5	0.9
4'-去甲基鬼臼毒素	1.27	1.2	1.1	1.5
山柰酚	1.06	1.3	0.9	1.0
鬼臼毒酮	0.53	1.0	1.3	1.1
山荷叶素	0.25	1.3	0.9	1.4
槲皮素	0.19	1.6	0.9	0.6
鬼臼毒素	10.49	1.1	1.5	1.4

2.6.2 重复性试验 精密称取窝儿七药材 (S2) 粉

末 6 份, 按照 2.4 项下的方法制备供试品溶液, 进样测定 10 种化合物的峰面积, 并计算含量的 RSD, 重复性试验结果见表 4。

2.6.3 稳定性试验 精密吸取窝儿七供试品 (S2) 溶液 10 μL , 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样 6 次, 记录峰面积, 测定 10 种化合物的 RSD, 稳定性试验结果见表 4。

2.6.4 加样回收率试验 取已知含量的窝儿七药材 (S9) 粉末 3 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 分别精密加入等量的对照品溶液, 按照 2.4 项下的方法制备供试品溶液, 在上述分析条件下进样, 计算回收率和 RSD。结果见表 5。

2.7 样品测定 取 19 批不同产地窝儿七药材样品, 每份约 1 g, 精密称定, 按照 2.4 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下的色谱条件测定峰面积, 根据相应线性关系计算 19 批药材中山柰酚葡萄糖苷, 山荷叶素葡萄糖苷, arabeline, 鬼臼毒素葡萄糖苷, 4'-去甲基鬼臼毒素, 山柰酚, 鬼臼毒酮, 山荷叶素, 槲皮素和鬼臼毒素的含量。19 批窝儿七样品含量测定结果见表 6。

2.8 聚类分析 通过 SAS 软件对 19 批样品中

表 5 窝儿七中 10 种成分的加样回收率试验 ($n=3$)

Table 5 Recoveries of 10 ingredients of *Diphylleia sinensis* ($n=3$)

成分	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
山柰酚葡萄糖苷	0.500 1	2.841	2.272	5.110	99.87	98.90	1.3
	0.500 5	2.842	2.842	5.613	97.50		
	0.500 0	2.840	3.408	6.225	99.33		
山荷叶素葡萄糖苷	0.500 1	3.931	3.145	7.069	99.78	99.73	0.1
	0.500 5	3.934	3.934	7.861	99.82		
	0.500 0	3.930	4.716	8.627	99.60		
arabeline	0.500 1	1.840	1.472	3.310	99.86	99.93	0.1
	0.500 5	1.842	1.842	3.681	99.84		
	0.500 0	1.840	2.208	4.050	100.09		
鬼臼毒素葡萄糖苷	0.500 1	7.522	6.018	13.531	99.85	99.62	0.3
	0.500 5	7.528	7.528	15.038	99.76		
	0.500 0	7.520	9.024	16.476	99.25		
4'-去甲基鬼臼毒素	0.500 1	1.625	1.300	2.918	99.46	99.53	0.2
	0.500 5	1.627	1.627	3.250	99.75		
	0.500 0	1.625	1.950	3.563	99.38		
山柰酚	0.500 1	1.125	0.900	2.019	99.33	99.49	0.3
	0.500 5	1.126	1.126	2.244	99.29		
	0.500 0	1.125	1.350	2.473	99.85		
鬼臼毒酮	0.500 1	0.510	0.408	0.916	99.51	99.87	0.5
	0.500 5	0.511	0.511	1.020	99.61		
	0.500 0	0.510	0.612	1.125	100.49		
山荷叶素	0.500 1	0.490	0.392	0.871	97.19	99.45	2.1
	0.500 5	0.490	0.490	0.979	99.80		
	0.500 0	0.490	0.588	1.086	101.36		
槲皮素	0.500 1	0.300	0.240	0.538	99.17	99.22	0.1
	0.500 5	0.300	0.300	0.598	99.33		
	0.500 0	0.300	0.360	0.657	99.17		
鬼臼毒素	0.500 1	11.320	9.056	20.321	99.39	98.61	1.3
	0.500 5	11.330	11.330	22.340	97.18		
	0.500 0	11.320	13.584	24.803	99.26		

10 个对照品含量进行聚类分析,见图 2。

3 讨论

3.1 色谱-质谱条件的优化 通过考察甲醇-水、乙腈-水不同比例洗脱溶剂对窝儿七中 10 种成分的分 离效果影响,发现乙腈-水为较优溶剂,分离效果较 好;同时,向流动相中加入 0.1% 的甲酸可改善峰 形,有效减少色谱峰拖尾现象,峰形较好。因此,选 择乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为流动相。本实验采用

ESI,正离子模式 MRM,对窝儿七中 10 种成分进行 含量测定,相对紫外检测器,MRM 技术更能有效进 行定性定量分析,增加了准确度。

3.2 供试品溶液制备方法的优化 通过考察不同 提取溶剂(乙醇、甲醇、水),不同提取方法(浸提、回 流提取、超声提取)及提取时间与次数对实验结果 的影响,发现甲醇超声(250 W,40 kHz)1 次,时间 30 min,提取效果最好,各成分含量最高,故确定用

表 6 窝儿七样品中 10 种成分含量测定

Table 6 Results of samples content determination of 10 ingredients of *Diphylleia sinensis*

mg·g⁻¹

批次	山柰酚 葡萄糖苷	山荷叶素 葡萄糖苷	arabeline	鬼臼毒素 葡萄糖苷	4'-去甲基 鬼臼毒素	山柰酚	鬼臼毒酮	山荷叶素	槲皮素	鬼臼毒素
S1	4.95	5.27	1.82	17.23	0.98	1.22	0.76	0.33	0.15	17.26
S2	2.77	3.40	1.74	11.39	1.17	1.05	0.52	0.25	0.19	10.56
S3	3.91	5.74	1.22	12.74	1.26	1.01	0.50	0.26	0.13	10.58
S4	6.29	7.59	3.03	10.70	0.58	2.02	1.00	0.98	0.26	22.54
S5	5.88	6.22	2.52	16.46	1.47	1.03	0.52	0.20	0.15	10.11
S6	5.56	6.59	2.43	4.94	3.01	2.07	0.51	0.37	0.31	16.49
S7	2.73	3.87	2.19	11.08	0.97	0.94	0.32	0.35	0.18	17.18
S8	3.36	5.60	2.60	19.37	1.01	1.36	0.75	0.70	0.32	17.35
S9	5.68	7.86	3.68	15.04	3.25	2.25	1.02	0.98	0.60	22.63
S10	3.44	4.44	2.22	14.53	0.97	1.07	0.48	0.30	0.12	12.31
S11	5.06	9.09	0.26	17.72	1.97	1.66	0.42	0.34	0.36	14.29
S12	1.16	2.92	0.83	3.35	3.69	2.11	1.40	0.89	0.54	19.78
S13	2.03	4.76	1.18	4.89	2.43	1.75	0.95	0.48	0.29	9.68
S14	1.58	3.71	1.76	8.66	2.88	2.41	2.70	1.08	0.80	30.97
S15	4.35	8.85	1.06	17.94	4.75	5.01	4.59	1.41	0.51	30.99
S16	4.33	6.68	0.87	17.33	2.74	4.11	2.12	0.72	0.85	25.42
S17	6.10	8.94	0.30	18.70	6.63	7.42	4.84	1.16	1.06	30.99
S18	4.49	7.56	1.10	13.97	3.83	4.31	2.60	1.16	0.56	30.98
S19	1.71	3.40	0.42	16.31	1.58	1.76	1.79	0.47	0.27	14.55

甲醇作为提取溶剂。

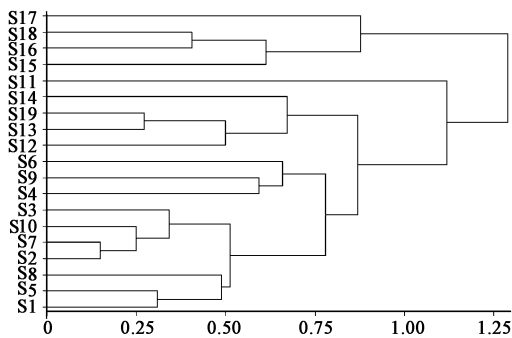


图 2 19 批样品 LC-MS 聚类分析

Fig. 2 Results of LC-MS cluster analysis for 19 batch of samples

3.3 结果分析 从实验结果可以看出,19 批窝儿七样品化学成分种类差异不大,主要成分还是以鬼臼毒素、鬼臼毒素葡萄糖苷和山荷叶素葡萄糖苷为主。不同批次间药材化学成分的含量差异明显。由聚类分析结果可知,19 批窝儿七样品主要分为 2 类,陇县、甘肃、陈仓和凤县产地聚为一类,太白县、

眉县和周至产地聚为一类。

本实验建立了 LC-MS/MS 同时测定不同批次窝儿七中 10 种成分含量的方法,相比传统 HPLC-UV 测定方法更为快速、准确,为窝儿七药材质量的综合评价体系提供新的科学依据,同时也为优选窝儿七的适宜产地提供了重要数据。

[参考文献]

[1] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志[M]. 北京:科学出版社,1974:330-331.
 [2] 江苏新医学院. 中草药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:2421.
 [3] 宝鸡市卫生局. 太白山本草志[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1993:442.
 [4] 宋小妹,刘海静. 太白七药研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:296-300.
 [5] 畅行若,胡之壁,曾广方. 草药窝儿七化学成分的研究[J]. 药学学报,1980,15(3):158-162.
 [6] 马辰,杨峻山,罗淑荣. 山荷叶中木脂素成分的研究

- [J]. 药学报, 1993, 28(9): 690-694.
- [7] 胡步超, 田淑惠, 傅长才. 太白山草药窝儿七活性成分修饰物 P-01 治疗尖锐湿疣、扁平疣初步研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2001(4): 205.
- [8] 黄雄, 林敏超, 余柏村, 等. 鬼臼毒素及其衍生物新型制剂抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 296-299.
- [9] 韩立炜, 张丽芳, 杜守颖, 等. 鬼臼毒素油/水分配系数测定及羟丙基- β -环糊精对其增溶作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 11-15.
- [10] 周凡. 鬼臼毒素酊与 CO₂ 激光治疗尖锐湿疣疗效比较[J]. 皮肤病与性病, 2015, 37(5): 275-276.
- [11] 周敏, 陈艳. 鬼臼毒素酊联合电灼治疗尖锐湿疣疗效及复发率研究[J]. 中国性科学, 2016, 25(2): 68-70.
- [12] 吴文其, 蔡葵, 王继昌, 等. 针刺加外用鬼臼毒素酊治疗扁平疣疗效观察[J]. 人民军医, 2007, 50(9): 543-544.
- [13] 白吉庆, 王小平, 孙涛, 等. 不同产地窝儿七中黄酮和木质素的含量测定[J]. 中医药导报, 2012, 18(7): 80-82.
- [14] 赖菁华, 柴江, 张亚强, 等. 高效液相色谱法测定窝儿七中鬼臼毒素和 4'-去甲基鬼臼毒素的含量[J]. 中南药学, 2015, 13(2): 169-172.
- [15] 赖菁华, 宋小妹. HPLC 法测定窝儿七中 5 种成分的含量[J]. 西北药学杂志, 2016, 31(1): 12-15.
- [16] 闫寒, 赵松岩, 刘运嘉, 等. LC-MS-MS 法测定参体和参须中人参皂苷 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 105-107.
- [17] 解军波, 张彦青, 吴国娇, 等. LC-MS/MS 法测定独一味中木犀草素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 64-66.

[责任编辑 顾雪竹]