

QuEChERS 结合 UHPLC-MS/MS 法测定半夏露颗粒中 4 种麻黄碱类成分^Δ

晏亮^{1*}, 丁银平¹, 陈伟康^{1#}, 刘德鸿¹, 李晶² (1. 江西省药品检验检测研究院/国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室/江西省药品医疗器械质量工程研究中心, 南昌 330029; 2. 江西省中医药研究院, 南昌 330029)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)12-1455-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.12.08



摘要 目的 建立半夏露颗粒供试品的净化方法,并检测其中麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱 4 种麻黄碱类成分的含量。方法 3 批半夏露颗粒以含 1% 甲酸的甲醇提取,再经含 *N*-丙基乙二胺吸附剂(PSA)和十八烷基键合硅胶吸附剂(C_{18})的 QuEChERS 方法进行前处理,并采用超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定,以 Agilent XDB- C_{18} 为色谱柱,以 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1% 甲酸)-乙腈为流动相进行梯度洗脱,流速为 0.40 mL/min,柱温为 30 °C,进样量为 2 μ L;采用电喷雾离子源,以多反应监测模式进行正离子扫描,用于定量分析的离子对分别为 m/z 166.2 $\rightarrow$ 148.1(麻黄碱、伪麻黄碱)、 m/z 152.2 $\rightarrow$ 134.1(去甲伪麻黄碱)、 m/z 180.2 $\rightarrow$ 162.2(甲基麻黄碱)。结果 采用 QuEChERS 净化方法所得供试品溶液澄清近无色。麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱检测质量浓度的线性范围分别为 1.38~206.82、1.41~212.13、1.29~19.34、1.99~59.83 ng/mL($r>0.99$),检测限分别为 0.41、0.42、0.39、0.60 ng/mL,定量限分别为 1.38、1.41、1.29、1.99 ng/mL;精密度、稳定性(48 h)、重复性试验的 RSD 均小于 2%;平均加样回收率为 95.75%~100.87%(RSD<2%, $n=9$);上述 4 种麻黄碱类成分的含量分别为 20.62~26.02、20.96~24.90、2.26~2.63、5.36~6.32 μ g/g。结论 所建立的方法简便、快速、灵敏,适用于半夏露颗粒中 4 种麻黄碱类成分的同时检测。

关键词 半夏露颗粒;麻黄碱类成分;QuEChERS 方法;超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法;含量测定

Determination of four ephedrine components in Banxialu granules by QuEChERS combined with UHPLC-MS/MS

YAN Liang¹, DING Yinping¹, CHEN Weikang¹, LIU Dehong¹, LI Jing² (1. Jiangxi Institute for Drug Control/NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation of Chinese Patent Medicine/Jiangxi Province Engineering Research Center of Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China; 2. Jiangxi Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330029, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish the method for the purification of test sample of Banxialu granules, and to determine the contents of 4 ephedrine components such as ephedrine, pseudoephedrine, norpseudoephedrine and methylephedrine. **METHODS** Three batches of Banxialu granules were extracted with methanol (containing 1% formic acid) and pretreated with QuEChERS method of *N*-propyl ethylenediamine adsorbent (PSA) and octadecyl bonded silica gel adsorbent (C_{18}). Ultra high performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) was adopted. The separation was performed on an Agilent XDB- C_{18} column with 5 mmol/L ammonium acetate solution (containing 0.1% formic acid)-acetonitrile as mobile phase (gradient elution) at the flow rate of 0.40 mL/min. The column temperature was set at 30 °C, and sample size was 2 μ L. The electrospray ionization source was adopted, and positive ion scanning was performed in multiple reaction monitoring mode. The ion pairs used for quantitative analysis were m/z 166.2 $\rightarrow$ 148.1 (ephedrine, pseudoephedrine), m/z 152.2 $\rightarrow$ 134.1 (norpseudoephedrine), m/z 180.2 $\rightarrow$ 162.2 (methylephedrine). **RESULTS** The solution obtained by QuEChERS purification method was clear and nearly colorless. The linear ranges of ephedrine, pseudoephedrine, norpseudoephedrine and methylephedrine were 1.38-206.82, 1.41-212.13, 1.29-19.34, 1.99-59.83 ng/mL($r>0.99$). The limits of detection were 0.41, 0.42, 0.39 and 0.60 ng/mL. The limits of quantitation were 1.38, 1.41, 1.29 and 1.99 ng/mL, respectively. RSDs of precision, stability (48 h) and repeatability tests were all lower than 2%. The average recoveries were 95.75%-100.87% (RSD<2%, $n=9$). The contents of above 4 ephedrine components were 20.62-26.02, 20.96-24.90, 2.26-2.63, 5.36-6.32 μ g/g, respectively. **CONCLUSIONS** Established method is simple, rapid, sensitive and suitable for simultaneous determination of 4 ephedrine components in Banxialu granules. **KEYWORDS** Banxialu granules; ephedrine components; QuEChERS; UHPLC-MS/MS; content determination

^Δ 基金项目:江西省中医药中青年骨干人才培养计划项目(No.赣中医药科教字[2020]2号)

* 副主任药师,硕士。研究方向:药物分析。E-mail:77416006@qq.com

通信作者:主任中药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0791-88158716。E-mail:13474608@qq.com

半夏露颗粒是由生半夏、枇杷叶、远志(泡)、款冬花、桔梗、麻黄、甘草、陈皮和薄荷油9味中药制成的复方制剂,具有止咳化痰的功效,用于咳嗽多痰、支气管炎的临床治疗^[1]。半夏露颗粒现行质量标准除性状和颗粒剂通用制剂要求外,仅有针对薄荷脑的薄层色谱鉴别方法^[1]。麻黄为方中臣药,具宣肺平喘作用,主要含有麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、去甲伪麻黄碱等麻黄碱类成分,以上4种成分均为半夏露颗粒的有效成分^[2-3]。麻黄碱类成分肾上腺素受体活性很强,尤其是去甲伪麻黄碱对肾上腺素受体的半数效应浓度(median effective concentration, EC_{50})为0.015 $\mu\text{mol/L}$ ^[4],浓度过高可引发血压升高、震颤、焦虑、失眠、头痛、心悸等严重不良反应^[5-6]。因此,建立以麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、去甲伪麻黄碱为代表的麻黄碱类成分含量测定方法对半夏露颗粒的疗效与安全性研究至关重要。笔者通过检索发现,现有文献大多仅测定了麻黄或其复方制剂中2~3个麻黄碱类成分^[7-11],不能全面地评价含麻黄类药物的疗效与安全性。目前测定方法大多为高效液相色谱法^[7-11],但加大取样量、液液萃取前处理结合高效液相色谱法检测,难以达到预期的检测效果。

QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)是一种分散固体萃取技术,具有提取效率高、净化效果好的优点^[12]。该方法被广泛应用于食品农药残留和功效成分检测前处理领域^[12-17]。基于此,本研究首次以QuEChERS方法对样品进行前处理,结合超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱(ultra high performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry, UHPLC-MS/MS)法同时测定半夏露颗粒中麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、去甲伪麻黄碱4种麻黄碱类成分的含量,旨在为该制剂的质量标准提升和质量安全控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有1290型快速液相色谱仪(美国Agilent公司),API 4000型液相质谱联用仪(美国Applied Biosystems公司),VORTEX WX型涡旋混合器(意大利VELP公司),ST16R型离心机、MicroPure UV/UF型超纯水系统(美国Thermo Fisher Scientific公司),KQ500E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),XS205DU型电子天平、ML204型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)等。

1.2 主要药品与试剂

半夏露颗粒共3批,其中样品1(批号191003088)购自同药集团大同制药有限公司,样品2(批号21032701)购自云南裕丰药业有限公司,样品3(批号190314)购自

广西双蚁药业有限公司。生半夏饮片(批号ST210201)购自贵州缔谊健康制药有限公司;远志饮片(批号2001027)、陈皮饮片(批号2001026)均购自安徽盛海堂中药饮片有限公司;桔梗饮片(批号200218)购自江西江中中药饮片有限公司;甘草饮片(批号170901)购自江西博源堂药业有限公司;款冬花饮片(批号190202171)、枇杷叶饮片(批号180804791)均购自康美药业股份有限公司;薄荷药材(批号20170915)产自江苏省泗洪县;以上饮片/药材均经江西省药品检验检测研究院丁银平主管中药师检验为真品。薄荷油为上述薄荷药材经挥发油提取法提取制得。

盐酸麻黄碱对照品(批号171241-201508,纯度99.8%)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号171237-201208,纯度99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;盐酸去甲伪麻黄碱对照品溶液(批号CX171206-20,质量浓度100 $\mu\text{g/mL}$,供含量测定用)、盐酸甲基麻黄碱对照品溶液(批号CL180312-04,质量浓度1 000 $\mu\text{g/mL}$,供含量测定用)均购自美国Stanford Chemicals公司;乙酸铵、甲酸、乙腈、甲醇均购自德国Sigma公司,均为色谱纯;氯化钠(NaCl,分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司;十八烷基键合硅胶吸附剂(octadecyl bonded silica gel adsorbent,以下简称“ C_{18} ”;粒径50 μm)、*N*-丙基乙二胺吸附剂(*N*-propyl ethylenediamine adsorbent, PSA;粒径40~63 μm)均购自日本Shimadzu公司;其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品储备液 精密称取盐酸麻黄碱对照品10.54 mg、盐酸伪麻黄碱对照品10.80 mg,分别置于100 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品储备液;精密吸取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品储备液各10 mL,盐酸去甲伪麻黄碱对照品溶液1.0 mL、盐酸甲基麻黄碱对照品溶液0.3 mL置于同一25 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成含麻黄碱34.470 $\mu\text{g/mL}$ 、伪麻黄碱35.355 $\mu\text{g/mL}$ 、去甲伪麻黄碱3.223 $\mu\text{g/mL}$ 、甲基麻黄碱9.972 $\mu\text{g/mL}$ (上述含量均由盐酸盐折算成麻黄碱类成分计)的混合对照品储备液,于-20 $^{\circ}\text{C}$ 密封贮存,备用。

2.1.2 供试品溶液 取本品适量,研细,取粉末约0.2 g,精密称定,置于50 mL离心管中,加入含1%甲酸的甲醇10 mL,涡旋30 s,超声(功率250 W,频率25 kHz)提取20 min,加入无水硫酸钠4 g,涡旋30 s后,以10 000 r/min离心5 min,精密吸取上清液2 mL置于10 mL量瓶中,加含1%甲酸的甲醇至刻度,摇匀,制得待净化液。将上述待净化液1 mL转移至2 mL QuEChERS净化管(含PSA 100 mg、 C_{18} 50 mg)中,涡旋30 s,以10 000 r/min离心1

min,取上清液过0.22 μm有机相微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.3 缺麻黄阴性样品溶液 按半夏露颗粒处方信息^[1],按工艺制法制成缺麻黄阴性样品。取缺麻黄阴性样品适量,研细,取粉末约0.2 g,精密称定,其余同“2.1.2”项下方法操作,制得缺麻黄阴性样品溶液。

2.2 色谱条件与质谱条件

2.2.1 色谱条件 以Agilent XDB-C₁₈(4.6 mm×50 mm, 1.8 μm)为色谱柱,以5 mmol/L乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)为流动相A、乙腈为流动相B进行梯度洗脱(0~13 min, 4% B; 13~14 min, 4% B→90% B; 14~16 min, 90% B; 16~17 min, 90% B→4% B; 17~22 min, 4% B);流速为0.40 mL/min;柱温为30 ℃;进样量为2 μL。

2.2.2 质谱条件 采用电喷雾离子化源,以多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式进行正离子扫描;气帘气压力为20.0 psi;离子源气体1压力为60.0 psi;离子源气体2压力为55.0 psi;碰撞气压力为6 psi;喷雾电压为5 500 V;离子源气体温度为450.0 ℃。具体离子对检测条件见表1。

2.3 专属性试验

精密吸取“2.1.1”项下混合对照品储备液1 mL,置25 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制得混合对照使用液。精密吸取该混合对照使用液1 mL,置10 mL量瓶中,加含1%甲酸的甲醇定容,制得混合对照品溶液。取上述混合对照品溶液(含麻黄碱137.88 ng/mL、伪麻黄碱141.42 ng/mL、去甲伪麻黄碱12.89 ng/mL、甲基麻黄碱39.89 ng/mL)、供试品溶液和缺麻黄阴性样品溶液,按

表1 半夏露颗粒中4个待测成分定量分析的质谱离子对检测条件

成分	母离子m/z	子离子m/z	解锁电压/V	裂解电压/V
麻黄碱	166.2	148.1 ^a	45	17
		116.9	45	25
伪麻黄碱	166.2	148.1 ^a	45	18
		116.9	45	29
去甲伪麻黄碱	152.2	134.1 ^a	40	15
		116.9	40	26
甲基麻黄碱	180.2	162.2 ^a	45	21
		147.0	45	28

a:定量离子

“2.2”项下条件进样测定,记录典型MRM色谱图(图1)。结果显示,4种麻黄碱类成分色谱峰峰形良好,同分异构体麻黄碱与伪麻黄碱能有效分离,阴性样品无干扰,表明该方法具有良好的专属性。

2.4 线性关系、检查限和定量限考察

精密吸取“2.3”项下混合对照使用液,用含1%甲酸的甲醇稀释,制成含麻黄碱1.38、2.76、6.89、13.79、27.58、68.94、137.88、165.46、206.82 ng/mL,伪麻黄碱1.41、2.83、7.07、14.14、28.28、70.71、141.42、169.70、212.13 ng/mL,去甲伪麻黄碱1.29、2.58、6.45、12.89、15.47、19.34 ng/mL,甲基麻黄碱1.99、3.99、7.98、19.95、39.89、47.87、59.83 ng/mL的系列工作溶液。取上述系列工作溶液,按“2.2”项下条件进样测定,以各待测成分峰面积为纵坐标(y)、质量浓度为横坐标(x)进行线性回归;以信噪比3:1确定检测限,以信噪比10:1确定定量限。结果显示,麻黄碱等4种成分在各自检测质量浓度范围内与峰面积的线性关系均良好($r>0.99$),详见表2。

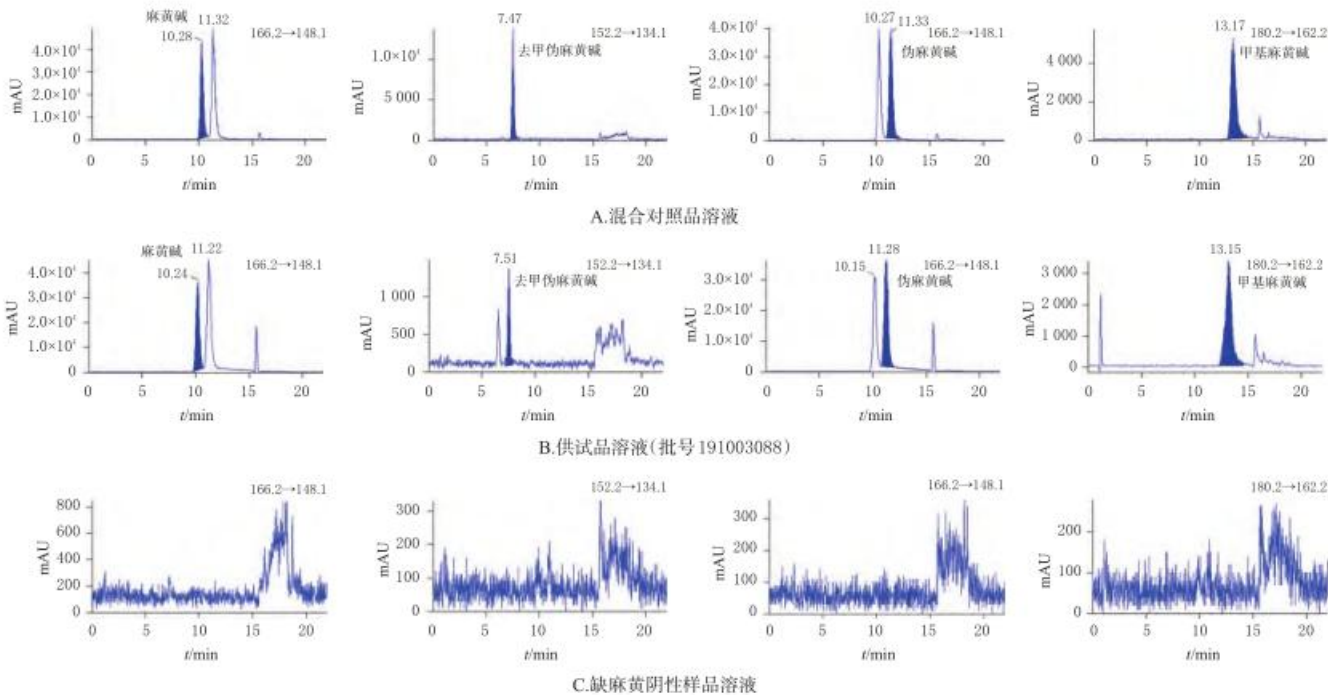


图1 半夏露颗粒中4个待测成分定量分析的典型MRM色谱图

表2 半夏露颗粒中4个待测成分的线性回归方程及定量限和检测限

待测成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (ng/mL)	检测限/ (ng/mL)	定量限/ (ng/mL)
麻黄碱	$Y=5\,790.03x-50\,113.20$	0.997 9	1.38~206.82	0.41	1.38
伪麻黄碱	$Y=6\,436.69x-48\,970.19$	0.998 2	1.41~212.13	0.42	1.41
去甲伪麻黄碱	$Y=5\,178.43x-50\,677.86$	0.998 9	1.29~19.34	0.39	1.29
甲基麻黄碱	$Y=6\,167.10x-72\,320.59$	0.998 5	1.99~59.83	0.60	1.99

2.5 精密度考察

取“2.3”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下条件连续进样6次,记录峰面积。结果显示,麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱峰面积的RSD分别为0.4%、0.3%、0.5%、0.4%(*n*=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性考察

取半夏露颗粒样品(批号191003088),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在25℃下放置0、2、4、8、12、24、48 h时按“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积。结果显示,麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱峰面积的RSD分别为0.9%、0.8%、1.4%、1.1%(*n*=7),表明供试品溶液在25℃下放置48 h内稳定。

2.7 重复性考察

取半夏露颗粒样品(批号191003088),按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液,共6份,按“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算各成分含量。结果显示,麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱含量的RSD分别为1.0%、0.9%、1.3%、1.5%(*n*=6),表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率考察

分别精密吸取“2.1.1”项下混合对照品储备液(含麻黄碱34.470 μg/mL、伪麻黄碱35.355 μg/mL、去甲伪麻黄碱3.223 μg/mL、甲基麻黄碱9.972 μg/mL)0.2、0.4、0.6 mL,分别置于50 mL量瓶中,加含1%甲酸的甲醇稀释至刻度,摇匀,制得低、中、高质量浓度的混合对照品溶液。精密称取已知含量的半夏露颗粒样品(批号191003088)9份,每份约0.1 g,分别精密加入上述低、中、高质量浓度混合对照品溶液10 mL,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,各成分的平均加样回收率分别为99.13%、100.87%、98.45%、95.75%,RSD分别为1.1%、1.2%、1.0%、1.7%(*n*=9),表明方法准确度良好。结果见表3。

2.9 样品测定

取半夏露颗粒样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,平行制备2份,按“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算各成分含量。结果显示,麻黄碱、伪麻黄碱、去甲伪麻黄碱、甲基麻黄碱的含量分别为20.62~26.02、20.96~24.90、2.26~2.63、5.36~6.32 μg/g,详见表4。

表3 半夏露颗粒中4种成分的加样回收率试验结果(*n*=9)

成分	取样量/ g	已知量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	加样回收率/ %	平均加样回收率/ %	RSD/ %
麻黄碱	0.103 7	2.698 3	1.378 8	4.062 1	98.91	99.13	1.1
	0.100 9	2.625 4	1.378 8	4.000 3	99.72		
	0.104 4	2.716 5	1.378 8	4.065 5	97.84		
	0.105 0	2.732 1	2.757 6	5.463 2	99.04		
	0.103 8	2.700 9	2.757 6	5.428 1	98.90		
	0.104 6	2.721 7	2.757 6	5.403 9	97.27		
	0.106 8	2.778 9	4.136 4	6.912 4	99.93		
	0.100 8	2.622 8	4.136 4	6.799 7	100.98		
	0.106 3	2.765 9	4.136 4	6.884 2	99.56		
	0.103 7	2.582 1	1.414 2	4.012 9	101.17		
伪麻黄碱	0.100 9	2.512 4	1.414 2	3.966 7	102.84	100.87	1.2
	0.104 4	2.599 6	1.414 2	4.019 5	100.40		
	0.105 0	2.614 5	2.828 4	5.486 2	101.53		
	0.103 8	2.584 6	2.828 4	5.419 9	100.24		
	0.104 6	2.604 5	2.828 4	5.493 1	102.13		
	0.106 8	2.659 3	4.242 6	6.894 3	99.82		
	0.100 8	2.509 9	4.242 6	6.782 0	100.70		
	0.106 3	2.646 9	4.242 6	6.845 4	98.96		
	0.103 7	0.234 4	0.128 9	0.360 9	98.14	98.45	1.0
	0.100 9	0.228 0	0.128 9	0.353 7	97.52		
去甲伪麻黄碱	0.104 4	0.235 9	0.128 9	0.364 2	99.53		
	0.105 0	0.237 3	0.257 8	0.494 0	99.57		
	0.103 8	0.234 6	0.257 8	0.487 7	98.18		
	0.104 6	0.236 4	0.257 8	0.487 1	97.25		
	0.106 8	0.241 4	0.386 8	0.617 6	97.26		
	0.100 8	0.227 8	0.386 8	0.613 7	99.77		
	0.106 3	0.240 2	0.386 8	0.622 4	98.81		
	0.103 7	0.654 3	0.398 9	1.035 4	95.54	95.75	1.7
	0.100 9	0.636 7	0.398 9	1.014 2	94.64		
	0.104 4	0.658 8	0.398 9	1.038 3	95.14		
甲基麻黄碱	0.105 0	0.662 6	0.797 8	1.425 5	95.63		
	0.103 8	0.655 0	0.797 8	1.414 5	95.20		
	0.104 6	0.660 0	0.797 8	1.405 2	93.41		
	0.106 8	0.673 9	1.196 6	1.819 4	95.73		
	0.100 8	0.636 0	1.196 6	1.824 5	99.32		
	0.106 3	0.670 8	1.196 6	1.833 2	97.14		

表4 半夏露颗粒中4种成分的含量测定结果(μg/g, *n*=2)

编号	麻黄碱	伪麻黄碱	去甲伪麻黄碱	甲基麻黄碱
样品1	26.02	24.90	2.26	6.31
样品2	24.30	21.05	2.63	5.36

3 讨论

3.1 提取条件的选择

本课题组前期考察了乙腈、甲醇、含1%甲酸的乙腈、含1%甲酸的甲醇对半夏露颗粒中4种麻黄碱类成分的提取情况。结果显示,含1%甲酸的甲醇的提取效果好、回收率高且共提物较少,故将其作为提取溶剂。麻黄碱类成分作为小分子生物碱,极性大、碱性强,在极性较大的甲醇中的溶解性更优,而甲酸的加入将更有利于碱性物质的提取;此外,无水硫酸钠可去除基质中的水分,并可起到一定的蛋白盐析沉淀效果。

3.2 净化条件的选择

半夏露颗粒是由各药材经清炒、渗漉、煎煮等流程,将所得清膏与10倍量的蔗糖拌匀后所制,成分复杂且含糖量较大。本课题组前期尝试用甲醇直接超声提取不作前处理,但所得供试品溶液颜色较深且含有大量杂质,多次进样后发现,质谱离子源锥孔处存在明显污染。虽然,串联质谱以MRM模式的专属性较好,杂质不出峰,但长期分析未经净化的样品,会造成质谱对待测物的响应减弱,影响测定的准确度^[17]。研究指出,QuEChERS中的PSA可通过氢键作用而除去糖、色素、有机酸等成分,C₁₈则可有效去除油脂、甾醇等小极性化合物^[18-19]。本课题组实践结果显示,QuEChERS前处理方法可以有效净化供试品溶液,将棕褐色的甲醇提取液净化成澄清近无色的液体,除去了大量杂质,有利于减少质谱离子源所受污染,提高检测的准确度。本课题组通过优化PSA和C₁₈的用量发现,采用PSA 100 mg、C₁₈ 50 mg净化4种麻黄碱类成分的平均回收率最高,提取净化效果最优,所得供试品溶液澄清近无色,故选用该组合作为本研究所用的QuEChERS净化剂。

3.3 色谱、质谱条件的选择

4种麻黄碱类成分均为小分子强碱性物质,且麻黄碱与伪麻黄碱为一组同分异构体,两者的一级母离子与二级碎片离子完全相同,须通过适当的色谱条件进行有效分离。本课题组通过对Phenomenon Luna C₁₈(2.0 mm×150 mm,3 μm)、Agilent XDB C₁₈(4.6 mm×50 mm,1.8 μm)2种色谱柱的分离情况进行考察发现,Agilent XDB C₁₈(4.6 mm×50 mm,1.8 μm)对4种待测成分有很好的保留和分离效果。本课题组根据色谱图比较不同流动相体系的分离效果发现,添加乙酸铵可改善色谱峰峰形,添加甲酸可增强4种麻黄碱类成分的离子化效果和质谱响应,最终采用5 mmol/mL乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)-乙腈作为流动相体系。此外,本课题组还优化了离子源的电气参数、解簇电压、裂解电压等质谱参数,流动相梯度、流速、柱温、进样量等色谱参数,最终得到了响应较强、分析时间较短、色谱峰峰形较好的质谱与色谱条件。

综上所述,本实验采用QuEChERS方法净化供试品溶液,采用UHPLC-MS/MS法在22 min内同时测定了半夏露颗粒中4种麻黄碱类成分的含量,所用样品前处理方法简便,定量分析方法专属性强、灵敏度高、分析成本低且检测结果可靠。相比直接经甲醇提取后进样分析,本法有效地减少了质谱离子源污染,适用于大量样品的快速分析,并可为成分复杂的中药成方制剂质谱分析和质量控制提供一定的参考。

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂:第4册[S].北京:中国医药科技出版社,1991:63.
- [2] 叶晓滨.麻黄常用药对化学成分与药理作用的研究进展[J].中医研究,2021,34(3):57-62.

- [3] IBRAGIM S, SOFIĆ E. Chemical composition of various *Ephedra* species[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2015, 15(3): 21-27.
- [4] ROTHMAN R B, VU N, PARTILLA J S, et al. *In vitro* characterization of ephedrine-related stereoisomers at biogenic amine transporters and the receptorome reveals selective actions as norepinephrine transporter substrates[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 307(1): 138-145.
- [5] 任海波,王迎春,麻景梅,等.麻黄的活性成分与临床应用进展[J].中国药物警戒,2021,18(4):396-399.
- [6] 张文静,郭桂明,范峰,等.麻黄及其提取物的应用安全性研究十年概述[J].环球中医药,2021,14(1):173-178.
- [7] 郑孟凯,陶雪芬,钱微微,等.不同地区市售麻黄药材中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和总生物碱的含量测定[J].中国药房,2015,26(12):1682-1685.
- [8] 申丽莎,杨巧虹,杨帆,等.高效液相色谱法同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J].中国药业,2021,30(17):79-82.
- [9] 黎春彤,李翔,马建丽,等.HPLC同时测定防风通圣丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J].药物分析杂志,2016,36(1):176-180.
- [10] 李正刚,曲涵婷,李本淳,等.HPLC法测定复方贝母片中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J].中国药品标准,2021,22(6):560-563.
- [11] 邱燕.HPLC法测定防风通圣颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J].海峡药学,2018,30(1):75-77.
- [12] PERESTRELO R, SILVA P, PORTO-FIGUEIRA P, et al. QuEChERS: fundamentals, relevant improvements, applications and future trends[J]. Anal Chim Acta, 2019, 1070: 1-28.
- [13] TFOUNI S A V, REIS R M, KAMIKATA K, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in teas using QuEChERS and HPLC-FLD[J]. Food Addit Contam Part B Surveill, 2018, 11(2):146-152.
- [14] DACOSTAMORAIS E H, COLLINS C H, JARDIM I C S F. Pesticide determination in sweet peppers using QuEChERS and LC-MS/MS[J]. Food Chem, 2018, 249: 77-83.
- [15] CALATAYUD-VERNICH P, CALATAYUD F, SIMÓ E, et al. Efficiency of QuEChERS approach for determining 52 pesticide residues in honey and honey bees[J]. MethodsX, 2016, 3:452-458.
- [16] GONZÁLEZ-JARTÍN J M, ALFONSO A, RODRÍGUEZ I, et al. A QuEChERS based extraction procedure coupled to UPLC-MS/MS detection for mycotoxins analysis in beer[J]. Food Chem, 2019, 275: 703-710.
- [17] 易可可,谢洁,龚晓云,等.液相色谱-串联质谱应用研究进展[J].计量科学与技术,2021(2):7-15,6.
- [18] 叶学敏.新型QuEChERS方法在果蔬农残分析中的应用研究[D].杭州:浙江工业大学,2020.
- [19] 高岩.固相吸附剂在固体样品处理中的应用[D].长春:吉林大学,2014.

(收稿日期:2022-01-20 修回日期:2022-04-18)

(编辑:曾海蓉)