

· 中药工业 ·

HPLC-QAMS同时测定屏风生脉胶囊中 9个指标成分含量[△]

黄孝权¹, 何人大¹, 魏谭军¹, 周殿儒¹, 肖成¹, 陈飞¹, 周晓维^{1*}, 陈勇²

1. 达州市中西医结合医院, 四川 达州 635000;

2. 成都地奥集团天府药业有限公司, 四川 达州 635027

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱—测多评法(HPLC-QAMS)同时测定屏风生脉胶囊中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A及甲基麦冬二氢高异黄酮B含量的方法。方法: 采用Agilent ZORAX StableBond C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-0.1%甲酸溶液, 梯度洗脱。多波长切换检测(0~36 min, 254 nm, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素和亥茅酚苷; 36~60 min, 296 nm, 麦冬甲基黄烷酮A和甲基麦冬二氢高异黄酮B), 进样量10 μ L。以升麻素为内参物, 建立其他8个指标成分的相对校正因子(RCF), 并计算各成分含量。采用外标法(ESM)测定屏风生脉胶囊中9个指标成分含量对QAMS计算结果的准确性进行验证。结果: 测定了3个厂家12批屏风生脉胶囊中9个指标成分的含量, 9个指标成分分别在2.68~67.00 ($r=0.999\ 4$)、1.76~44.00 ($r=0.999\ 1$)、2.15~53.75 ($r=0.999\ 2$)、4.37~109.25 ($r=0.999\ 7$)、6.58~164.50 ($r=0.999\ 5$)、2.49~62.25 ($r=0.999\ 2$)、1.88~47.00 ($r=0.999\ 8$)、1.36~34.00 ($r=0.999\ 2$)、1.09~27.25 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 3$)有良好的线性关系。平均加样回收率及RSD分别为99.34% (1.40%)、97.25% (1.13%)、98.73% (1.33%)、100.09% (0.68%)、100.04% (0.77%)、98.46% (1.26%)、97.94% (1.06%)、96.89% (1.03%)和98.90% (0.72%)。QAMS与ESM所测结果差异无统计学意义。结论: 该方法操作便捷、结果准确, 可用于屏风生脉胶囊中9个指标成分含量的同时测定, 实现多指标质量控制。

[关键词] 屏风生脉胶囊; 高效液相色谱—测多评法; 多指标成分; 相对校正因子

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)05-0882-09

doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20210728001

Simultaneous Determination of Nine Active Components in Pingfeng Shengmai Capsules by HPLC-QAMS

HUANG Xiao-quan¹, HE Ren-da¹, WEI Tan-jun¹, ZHOU Dian-ru¹, XIAO Cheng¹, CHEN Fei¹,ZHOU Xiao-wei^{1*}, CHEN Yong²

1. Dazhou Integrated TCM & Western Medicine Hospital, Dazhou 635000, China;

2. Chengdu Di'ao Group Tianfu Pharmaceutical Co., Ltd., Dazhou 635027, China

[Abstract] **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker (HPLC-QAMS) method for simultaneous determination of calycosin 7-*O*- β -D-glucopyranoside, ononin, 9, 10-dimethoxy-pterocarpane-3-*O*- β -D-glucoside, formononetin, prim-*O*-glucosylcimifugin, cimifugin, sec-*O*-glucosylhamaudol, methylophipogonanone A, and methylophipogonanone B in Pingfeng Shengmai Capsules. **Methods:** HPLC conditions are as follows: Agilent ZORAX StableBond C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), gradient elution with the mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid solution, injection volume of 10 μ L, detection wavelength of 254 nm (0-36 min) for calycosin 7-*O*- β -D-glucopyranoside, ononin, 9,10-dimethoxy-pterocarpane-3-*O*- β -D-glucoside, formononetin, prim-*O*-glucosylcimifugin, cimifugin, and sec-*O*-glucosylhamaudol, and 296 nm (36-60 min) for methylophipogonanone A and methylophipogonanone B. With cimifugin as an internal standard, the relative correction factors (RCFs) of the other 8

[△] [基金项目] 四川省重大科技专项项目(2020YFS0533)

* [通信作者] 周晓维, 主管药师, 研究方向: 处方分析及药剂学; Tel: 0818-2350079, E-mail: dml61428@163.com

components were established and the content of each component was calculated. In order to validate the accuracy of QAMS, we also calculated the content of the 9 components with the external standard method (ESM). **Results:** The content of 9 effective components in 12 batches of Pingfeng Shengmai Capsules from three manufacturers was determined, and they showed good linear relationships within the ranges of 2.68-67.00 ($r=0.999\ 4$), 1.76-44.00 ($r=0.999\ 1$), 2.15-53.75 ($r=0.999\ 2$), 4.37-109.25 ($r=0.999\ 7$), 6.58-164.50 ($r=0.999\ 5$), 2.49-62.25 ($r=0.999\ 2$), 1.88-47.00 ($r=0.999\ 8$), 1.36-34.00 ($r=0.999\ 2$), and 1.09-27.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 3$), respectively. Their average recoveries (RSDs) were 99.34% (1.40%), 97.25% (1.13%), 98.73% (1.33%), 100.09% (0.68%), 100.04% (0.77%), 98.46% (1.26%), 97.94% (1.06%), 96.89% (1.03%), and 98.90% (0.72%), respectively. There was no significant difference between the results yielded by HPLC-QAMS and ESM. **Conclusion:** The established HPLC-QAMS method is convenient and accurate, which allows the simultaneous determination of 9 active components in Pingfeng Shengmai Capsules and the multi-index quality control.

[Keywords] Pingfeng Shengmai Capsules; HPLC-QAMS; multi-index component; RCF

屏风生脉胶囊由黄芪、防风、麦冬、人参、白术、五味子和附子组成，主要用于心悸气短、表虚自汗、乏力眩晕、易感风邪。现代研究表明，屏风生脉胶囊对慢性荨麻疹^[1-2]、支气管哮喘^[3-4]、室性早搏^[5]、病毒性心肌炎^[6]及老年冠心病心绞痛^[7]治疗效果显著，易被广大患者接受。屏风生脉胶囊中黄芪补气升阳、固表止汗、生津养血、行滞通痹；防风祛风解表、止痛止痉；麦冬养阴生津、润肺清心；人参大补元气、补脾益肺、生津养血、安神益智；白术健脾益气、燥湿利水；五味子收敛固涩、益气生津、补肾宁心；附子回阳救逆、散寒止痛。诸药合用，共奏固卫御风、益气养阴之功效。目前，屏风生脉胶囊国家药品标准^[8]及文献^[9-13]中仅以1或2个成分作为质量控制指标，均难以客观评价其整体质量，也难以确保临床疗效的一致性，多指标控制模式已逐步应用于中药及其制剂的质量评价中。传统的多指标控制模式因某些对照品不易得到或部分对照品价格昂贵、稳定性差，推广应用具有一定的局限性，而一测多评法（QAMS）以制剂中某一质量稳定、价格低廉、易得的指标成分作为内参物，通过相对校正因子（RCF）计算其他成分的含量，最终达到多个组分的同时测定，有效地解决了部分对照品不稳定、价格昂贵、不易获得、检验成本过高等传统多成分质量控制模式的不足。本研究以屏风生脉胶囊中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B为质量控制指标，采用高效液相色谱一测多评法（HPLC-QAMS）对上述9个成分含量进行同步测定，建立屏风生脉胶囊多指标成分质量控制模式，以期屏风生脉胶囊质量控制新体系提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪（安捷伦公司）、LC-2030型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；AB265-S型十万分之一电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；BRANSON 5510型超声提取器（上海沪沁仪器设备有限公司）。

1.2 试药

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素苷（中国食品药品检定研究院，批号分别为111920-201907、111522-201913，纯度分别为96.8%、94.6%）；芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B（成都普瑞法科技开发有限公司，批号分别为PRF9060501、PRF8101143、PRF8091225、PRF9122902、PRF9121702、PRF8041122、PRF7102423，纯度分别为99.6%、99.1%、99.9%、99.5%、99.1%、99.9%、98.3%）；屏风生脉胶囊（每粒装0.33 g）分别购于绵阳一康制药有限公司（批号分别为191001、200501、201101、210201，编号为S1~S4）、广州诺金制药有限公司（批号分别为8421101、8421302、8421501、8421503，编号为S5~S8）和山西康威制药有限责任公司（批号分别为1130109、1130111、1130118、1130311，编号为S9~S12）；乙腈为色谱纯；其余试剂均为分析纯。

阴性对照试验所用药材黄芪（批号：210103-1）、防风（批号：210215-2）、麦冬（批号：210116-1）、人参（批号：210302-2）、白术（批号：210107-1）、五味子（批号：201201-1）和附子（批号：210211-2）均来源于四川仁禾中药饮片有限公司，经达州市中西医结合医院周晓维主管药师鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取9个对照品各适量,精密称定,用甲醇制成毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B质量浓度分别为0.536、0.352、0.430、0.874、1.316、0.498、0.376、0.272、0.218 mg·mL⁻¹的混合对照品储备液。将混合对照品储备液稀释20倍得对照品溶液(毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B质量浓度分别为26.8、17.6、21.5、43.7、65.8、24.9、18.8、13.6、10.9 μ g·mL⁻¹)。

2.2 供试品溶液的制备

取屏风生脉胶囊内容物2 g,精密称定,加甲醇20 mL,对供试品超声处理45 min,放冷,甲醇稀释至25 mL,摇匀,0.45 μ m微孔滤膜滤过,续滤液作为屏风生脉胶囊供试品溶液。取按屏风生脉胶囊质量标准项下处方和制法制备的缺黄芪、缺防风、缺

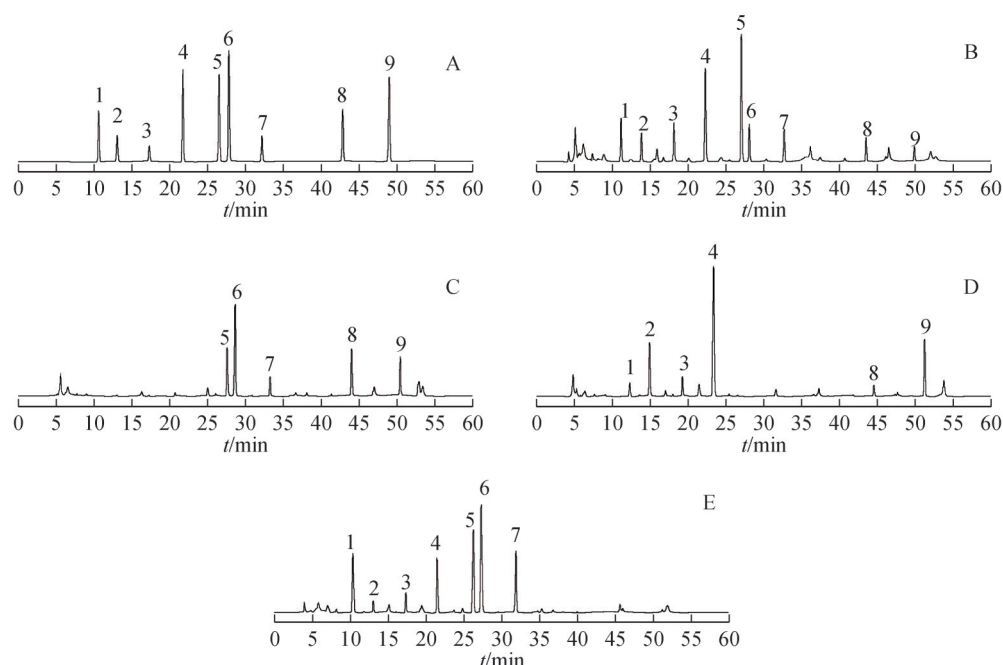
麦冬的阴性供试品各适量,按上述方法依次制得阴性供试品溶液。

2.3 色谱条件及系统适用性

色谱柱Agilent ZORAX StableBond C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m),柱温为30℃;检测波长分别为254 nm (0~36 min, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷)^[14-20]和296 nm (36~60 min, 麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B)^[21-23];流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱(0~9 min, 13%A; 9~24 min, 13%~33%A; 24~36 min, 33%~45%A; 36~52 min, 45%~68%A; 52~60 min, 68%~13%A);流速为1.0 mL·min⁻¹;进样量10 μ L。理论板数按9个指标成分计均应≥5500。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性 精密吸取2.1、2.2项下溶液各10 μ L,按2.3项下色谱条件进样检测,记录色谱图(图1)。结果屏风生脉胶囊供试品溶液中9个指标成分与相邻色谱峰分离良好,分离度均大于1.5;所检测指标成分色谱峰峰形对称,拖尾因子符合《中华人民共和国药典》2020年版(四部)规定;阴性供试品对9个指标成分的测定无干扰。



注: A. 混合对照品; B. 供试品; C. 黄芪阴性供试品; D. 防风阴性供试品; E. 麦冬阴性供试品; 1. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 2. 芒柄花苷; 3. 9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷; 4. 芒柄花素; 5. 升麻素苷; 6. 升麻素; 7. 亥茅酚苷; 8. 麦冬甲基黄烷酮A; 9. 甲基麦冬二氢高异黄酮B。

图1 混合对照品、屏风生脉胶囊供试品及阴性供试品HPLC图

2.4.2 线性关系考察 精密吸取2.1项下混合对照品储备液0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、2.5 mL, 置不同的20 mL量瓶中, 用甲醇定容制成6个混合对照品溶液, 按2.3项下色谱条件进样10 μ L, 以9个指标成分质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归 (表1)。

2.4.3 精密度试验 按2.3项下色谱条件进样屏风生脉胶囊 (编号: S1) 同一份供试品溶液10 μ L, 重复操作6次, 测得指标成分峰面积的RSD分别为1.26%、1.33%、1.20%、0.87%、0.61%、1.19%、1.35%、1.29%、1.45%。

2.4.4 重复性试验 按2.2项下方法制备6份屏风生脉胶囊 (编号: S1) 供试品溶液, 依次进样10 μ L分析, 得指标成分含量的RSD分别为1.57%、1.77%、1.69%、1.45%、1.09%、1.86%、1.74%、1.83%、1.91%。

2.4.5 稳定性试验 分别于0、2、4、8、16、24 h按2.3项下色谱条件进样屏风生脉胶囊 (编号: S1) 同一份供试品溶液10 μ L, 得指标成分峰面积的RSD分别为1.38%、1.41%、1.26%、0.95%、0.58%、1.12%、1.29%、1.31%、1.40%。

2.4.6 加样回收率试验 取已知9个指标成分含量的屏风生脉胶囊内容物9份, 每份1 g, 精密称定, 均分成3组, 精密加入混合对照品溶液 (毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3- O - β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B的质量浓度分别为0.309、0.195、0.246、0.583、0.934、0.261、0.225、0.149、0.108 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 0.8、1.0、1.2 mL, 按2.2项下方法制备供试品溶液, 各精密吸取10 μ L, 按2.3项下方法进样检测, 见表2。

表1 屏风生脉胶囊中9个指标成分的线性关系

化合物名称	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	r
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=2.4611\times10^6X+443.6$	2.68~67.00	0.999 4
芒柄花苷	$Y=1.5814\times10^6X-182.1$	1.76~44.00	0.999 1
9,10-二甲氧基紫檀烷-3- O - β -D-葡萄糖苷	$Y=2.1318\times10^6X+1348.9$	2.15~53.75	0.999 2
芒柄花素	$Y=3.8370\times10^6X-1147.3$	4.37~109.25	0.999 7
升麻素苷	$Y=4.1102\times10^6X+621.1$	6.58~164.50	0.999 5
升麻素	$Y=2.0752\times10^6X+272.6$	2.49~62.25	0.999 2
亥茅酚苷	$Y=1.8048\times10^6X-1298.1$	1.88~47.00	0.999 8
麦冬甲基黄烷酮A	$Y=1.1792\times10^6X+712.8$	1.36~34.00	0.999 2
甲基麦冬二氢高异黄酮B	$Y=8.0217\times10^5X-695.6$	1.09~27.25	0.999 3

表2 屏风生脉胶囊中9个指标成分的加样回收率试验结果

化合物名称	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	1.001 2	0.314 4	0.247 2	0.561 5	99.96	99.34	1.40
	0.996 0	0.312 7	0.247 2	0.560 9	100.40		
	1.008 5	0.316 7	0.247 2	0.558 2	97.69		
	1.014 1	0.318 4	0.309 0	0.626 0	99.55		
	0.987 8	0.310 2	0.309 0	0.618 6	99.81		
	0.990 3	0.311 0	0.309 0	0.620 5	100.16		
	1.010 9	0.317 4	0.370 8	0.689 4	100.32		
	1.022 5	0.321 1	0.370 8	0.691 2	99.81		
	0.983 6	0.308 9	0.370 8	0.666 1	96.33		
	1.001 2	0.191 2	0.156 0	0.343 9	97.88	97.25	1.13
芒柄花苷	0.996 0	0.190 2	0.156 0	0.344 2	98.72		
	1.008 5	0.192 6	0.156 0	0.343 1	96.47		
	1.014 1	0.193 7	0.195 0	0.381 2	96.15		
	0.987 8	0.188 7	0.195 0	0.376 1	96.10		
	0.990 3	0.189 1	0.195 0	0.378 6	97.18		
	1.010 9	0.193 1	0.234 0	0.425 1	99.15		
	1.022 5	0.195 3	0.234 0	0.421 7	96.75		
	0.983 6	0.187 9	0.234 0	0.414 5	96.84		

续表2

化合物名称	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖苷	1.001 2	0.243 3	0.196 8	0.437 3	98.58	98.73	1.33
	0.996 0	0.242 0	0.196 8	0.434 2	97.66		
	1.008 5	0.245 1	0.196 8	0.438 6	98.32		
	1.014 1	0.246 4	0.246 0	0.492 1	99.88		
	0.987 8	0.240 0	0.246 0	0.483 8	99.11		
	0.990 3	0.240 6	0.246 0	0.477 9	96.46		
	1.010 9	0.245 6	0.295 2	0.539 7	99.63		
	1.022 5	0.248 5	0.295 2	0.546 3	100.88		
	0.983 6	0.239 0	0.295 2	0.528 5	98.07		
芒柄花素	1.001 2	0.578 7	0.466 4	1.045 9	100.17	100.09	0.68
	0.996 0	0.575 7	0.466 4	1.039 6	99.46		
	1.008 5	0.582 9	0.466 4	1.051 4	100.45		
	1.014 1	0.586 1	0.583 0	1.170 5	100.24		
	0.987 8	0.570 9	0.583 0	1.145 6	98.58		
	0.990 3	0.572 4	0.583 0	1.157 9	100.43		
	1.010 9	0.584 3	0.699 6	1.290 1	100.89		
	1.022 5	0.591 0	0.699 6	1.292 2	100.23		
	0.983 6	0.568 5	0.699 6	1.270 4	100.33		
升麻素苷	1.001 2	0.932 1	0.747 2	1.675 7	99.52	100.04	0.77
	0.996 0	0.927 3	0.747 2	1.679 2	100.63		
	1.008 5	0.938 9	0.747 2	1.687 9	100.24		
	1.014 1	0.944 1	0.934 0	1.886 1	100.86		
	0.987 8	0.919 6	0.934 0	1.859 2	100.60		
	0.990 3	0.922 0	0.934 0	1.850 7	99.43		
	1.010 9	0.941 1	1.120 8	2.044 5	98.45		
	1.022 5	0.951 9	1.120 8	2.076 8	100.37		
	0.983 6	0.915 7	1.120 8	2.039 9	100.30		
升麻素	1.001 2	0.267 3	0.208 8	0.474 3	99.14	98.46	1.26
	0.996 0	0.265 9	0.208 8	0.466 5	96.07		
	1.008 5	0.269 3	0.208 8	0.477 6	99.76		
	1.014 1	0.270 8	0.261 0	0.527 9	98.51		
	0.987 8	0.263 7	0.261 0	0.516 4	96.82		
	0.990 3	0.264 4	0.261 0	0.520 9	98.28		
	1.010 9	0.269 9	0.313 2	0.581 1	99.36		
	1.022 5	0.273 0	0.313 2	0.583 8	99.23		
	0.983 6	0.262 6	0.313 2	0.572 7	99.01		
亥茅酚苷	1.001 2	0.219 3	0.180 0	0.396 3	98.33	97.94	1.06
	0.996 0	0.218 1	0.180 0	0.392 5	96.89		
	1.008 5	0.220 9	0.180 0	0.397 8	98.28		
	1.014 1	0.222 1	0.225 0	0.440 4	97.02		
	0.987 8	0.216 3	0.225 0	0.436 2	97.73		
	0.990 3	0.216 9	0.225 0	0.442 3	100.18		
	1.010 9	0.221 4	0.270 0	0.487 1	98.41		
	1.022 5	0.223 9	0.270 0	0.485 6	96.93		
	0.9836	0.215 4	0.270 0	0.479 2	97.70		

续表2

化合物名称	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
麦冬甲基黄烷酮A	1.001 2	0.152 2	0.119 2	0.268 1	97.23	96.89	1.03
	0.996 0	0.151 4	0.119 2	0.266 3	96.39		
	1.008 5	0.153 3	0.119 2	0.267 9	96.14		
	1.014 1	0.154 1	0.149 0	0.300 2	98.05		
	0.987 8	0.150 1	0.149 0	0.297 5	98.93		
	0.990 3	0.150 5	0.149 0	0.293 6	96.04		
	1.010 9	0.153 7	0.178 8	0.325 8	96.25		
	1.022 5	0.155 4	0.178 8	0.328 3	96.70		
	0.983 6	0.149 5	0.178 8	0.321 7	96.31		
甲基麦冬二氢高异黄酮B	1.001 2	0.107 1	0.086 4	0.192 5	98.84	98.90	0.72
	0.996 0	0.106 6	0.086 4	0.191 1	97.80		
	1.008 5	0.107 9	0.086 4	0.193 6	99.19		
	1.014 1	0.108 5	0.108 0	0.215 2	98.80		
	0.987 8	0.105 7	0.108 0	0.212 7	99.07		
	0.990 3	0.106 0	0.108 0	0.212 3	98.43		
	1.010 9	0.108 2	0.129 6	0.235 8	98.46		
	1.022 5	0.109 4	0.129 6	0.239 5	100.39		
	0.983 6	0.105 2	0.129 6	0.233 7	99.15		

2.5 QAMS评价模式的建立

2.5.1 RCF的建立 按2.3项下色谱条件进样2.4.2项下6个混合对照品溶液各10 μL,按公式(1)计算各成分RCF。

$$RCF_{k/s} = f_k/f_s = (W_k/A_k)/(W_s/A_s) = (W_k \times A_s)/(W_s \times A_k) \quad (1)$$

式中 f 为校正因子, W 为质量浓度, A 为峰面积, k 为其他待测成分, s 为内参物。

以升麻素为内参物,分别计算其他8个指标成分的RCF(表3)。

2.5.2 不同仪器及色谱柱对RCF的影响 分别选用安捷伦1260型、岛津LC-2030型高效液相色谱仪和色谱柱(Agilent ZORAX StableBond C₁₈、Waters Nova-Pak C₁₈、迪马Spursil C₁₈),进样2.1项下对照品溶液10 μL,得升麻素对其他8个指标成分的

RCF(表4)。

2.5.3 不同流速对RCF的影响 在不同流速(0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 mL·min⁻¹)条件下,按2.3项下色谱条件进样2.1项下对照品溶液10 μL,得升麻素对其他8个指标成分的RCF(表5)。

2.5.4 不同柱温对RCF的影响 在不同柱温(25、28、30、32、35℃)条件下,按2.3项下色谱条件进样2.1项下对照品溶液10 μL,得升麻素对其他8个指标成分的RCF(表6)。

2.5.5 色谱峰定位 按2.3项下色谱条件进样2.1项下对照品溶液10 μL,采用相对保留时间值法对待测成分色谱峰进行定位,考察仪器(安捷伦1260型、岛津LC-2030型高效液相色谱仪)和色谱柱(Agilent ZORAX StableBond C₁₈、Waters Nova-Pak C₁₈、迪马Spursil C₁₈)对相对保留时间的影响(表7)。

表3 屏风生脉胶囊中其他8个指标成分的RCF

序号	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷	芒柄花素	升麻素苷	亥茅酚苷	麦冬甲基黄烷酮A	甲基麦冬二氢高异黄酮B
1	0.836 8	1.347 7	0.979 8	0.524 2	0.507 5	1.113 9	1.725 8	2.500 2
2	0.832 2	1.300 1	0.965 4	0.537 9	0.498 1	1.153 2	1.711 2	2.595 0
3	0.830 1	1.312 1	0.977 7	0.543 6	0.504 4	1.152 2	1.762 9	2.608 2
4	0.853 5	1.312 1	0.970 9	0.537 3	0.504 0	1.141 8	1.774 0	2.590 9
5	0.847 8	1.311 0	0.973 0	0.549 2	0.509 2	1.170 9	1.760 5	2.597 0
6	0.839 1	1.313 2	0.973 8	0.535 9	0.502 2	1.137 7	1.756 5	2.581 1
平均值	0.833 9	1.316 0	0.973 4	0.538 0	0.504 2	1.145 0	1.748 5	2.578 7
RSD/%	1.08	1.23	0.52	1.56	0.77	1.67	1.40	1.53

表 4 仪器及色谱柱对屏风生脉胶囊中其他 8 个指标成分的 RCF 的影响

仪器	色谱柱	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花苷	9,10-二甲氧基紫 檀烷-3- <i>O</i> - β -D-葡 萄糖苷	芒柄花 素	升麻素 苷	亥茅酚 苷	麦冬甲 基黄烷 酮 A	甲基麦冬 二氢高异 黄酮 B
安捷伦 1260	Agilent ZORAX StableBond C ₁₈	0.836 5	1.317 5	0.970 2	0.534 1	0.505 7	1.147 9	1.743 7	2.579 0
	Waters Nova-Pak C ₁₈	0.842 8	1.339 3	0.987 6	0.538 9	0.513 9	1.172 6	1.768 2	2.638 6
	迪马 Spursil C ₁₈	0.820 5	1.291 1	0.953 1	0.527 5	0.500 2	1.129 1	1.710 5	2.523 4
岛津 LC-2030	Agilent ZORAX StableBond C ₁₈	0.823 7	1.310 8	0.964 4	0.529 3	0.501 5	1.133 1	1.736 0	2.565 1
	Waters Nova-Pak C ₁₈	0.838 9	1.327 5	0.979 3	0.530 7	0.510 1	1.162 8	1.752 9	2.613 3
	迪马 Spursil C ₁₈	0.828 1	1.306 9	0.969 8	0.532 0	0.504 3	1.138 5	1.738 3	2.551 8
平均值		0.831 7	1.315 5	0.970 7	0.532 1	0.506 0	1.147 3	1.741 6	2.578 5
RSD/%		1.08	1.27	1.23	0.76	1.03	1.51	1.10	1.62

表 5 流速对屏风生脉胶囊中其他 8 个指标成分的 RCF 的影响

流速/ mL·min ⁻¹	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花苷	9,10-二甲氧基紫檀烷-3- <i>O</i> - β - D-葡萄糖苷	芒柄花素	升麻素苷	亥茅酚苷	麦冬甲基黄 烷酮 A	甲基麦冬二氢 高异黄酮 B
0.8	0.847 9	1.349 9	0.986 4	0.545 7	0.510 3	1.168 5	1.777 0	2.639 8
0.9	0.840 2	1.326 0	0.977 1	0.540 8	0.503 8	1.153 9	1.763 2	2.601 5
1.0	0.831 5	1.314 3	0.970 9	0.536 2	0.501 7	1.143 3	1.746 4	2.575 9
1.1	0.826 8	1.307 5	0.967 7	0.531 5	0.499 4	1.133 6	1.725 9	2.555 0
1.2	0.819 7	1.282 8	0.960 3	0.526 9	0.495 6	1.120 5	1.704 4	2.521 1
平均值	0.833 2	1.316 1	0.972 5	0.536 2	0.502 2	1.144 0	1.743 4	2.578 7
RSD/%	1.33	1.87	1.01	1.38	1.09	1.61	1.66	1.75

表 6 柱温对屏风生脉胶囊中其他 8 个指标成分的 RCF 的影响

柱温/℃	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花苷	9,10-二甲氧基紫檀烷-3- <i>O</i> - β - D-葡萄糖苷	芒柄花素	升麻素苷	亥茅酚苷	麦冬甲基黄 烷酮 A	甲基麦冬二氢 高异黄酮 B
25	0.810 7	1.281 5	0.961 0	0.520 3	0.493 8	1.117 6	1.708 2	2.520 1
28	0.821 5	1.304 4	0.969 3	0.525 9	0.495 3	1.133 3	1.724 7	2.537 6
30	0.830 1	1.313 5	0.971 9	0.536 2	0.502 1	1.143 0	1.745 4	2.575 0
32	0.832 9	1.338 1	0.980 6	0.536 8	0.503 6	1.160 8	1.756 6	2.606 3
35	0.836 2	1.340 9	0.981 4	0.543 6	0.511 0	1.169 2	1.780 3	2.612 5
平均值	0.826 3	1.315 7	0.972 8	0.532 6	0.501 2	1.144 8	1.743 0	2.570 3
RSD/%	1.24	1.88	0.87	1.75	1.38	1.81	1.60	1.59

表 7 不同仪器及色谱柱对屏风生脉胶囊中其他 8 个指标成分的相对保留时间的影响

仪器	色谱柱	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄 花苷	9,10-二甲氧基 紫檀烷-3- <i>O</i> - β - D-葡萄糖苷	芒柄 花素	升麻 素苷	亥茅 酚苷	麦冬甲基黄 烷酮 A	甲基麦冬 二氢高异 黄酮 B
安捷伦 1260	Agilent ZORAX StableBond C ₁₈	0.374 3	0.465 2	0.613 3	0.775 9	0.936 7	1.137 2	1.520 2	1.750 3
	Waters Nova-Pak C ₁₈	0.376 5	0.471 5	0.631 4	0.786 1	0.950 5	1.154 9	1.568 5	1.776 8
	迪马 Spursil C ₁₈	0.369 6	0.457 1	0.625 9	0.769 3	0.917 8	1.120 6	1.498 4	1.734 4
岛津 LC-2030	Agilent ZORAX StableBond C ₁₈	0.378 1	0.469 8	0.624 9	0.785 0	0.943 4	1.147 9	1.538 0	1.762 1
	Waters Nova-Pak C ₁₈	0.384 6	0.470 2	0.634 3	0.794 5	0.954 6	1.150 1	1.550 3	1.773 5
	迪马 Spursil C ₁₈	0.369 8	0.458 6	0.612 9	0.770 8	0.929 3	1.135 5	1.527 8	1.746 8
平均值		0.375 5	0.465 4	0.623 8	0.780 3	0.938 7	1.141 0	1.533 9	1.757 3
RSD/%		1.50	1.34	1.44	1.27	1.46	1.10	1.59	0.93

2.6 QAMS与外标法(ESM)测定结果比较

为验证所建立的QAMS的准确性和可行性,取3个厂家12批屏风生脉胶囊,按2.2项下方法制备屏风生脉胶囊供试品溶液,按2.3项下色谱条件进样分析,分别运用ESM和QAMS计算屏风生脉胶囊中9个指标成分的含量,比较2种方法检测结果的差异(表8)。

3 讨论

3.1 目标成分的选择

屏风生脉胶囊由黄芪、防风、麦冬、人参、白术、五味子、附子组成组方,方中黄芪和人参补益元气、固表止汗为君药;白术和防风健脾益气为臣药;五味子和麦冬敛阴止汗为佐药;附子温肾壮阳为使药。本研究以君药所含成分为主,兼顾臣佐药所含成分,选取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B共9个指标成分进行定量分析。

3.2 流动相的确定

首先取甲醇-水^[18-20]和乙腈-水^[21]为流动相,以屏风生脉胶囊中9个指标成分的色谱峰峰形、分离效果、响应值为主要指标,兼顾检验用时、基线情况等,结果乙腈-水优于甲醇-水,但升麻素苷与升麻

素不能有效分离。遂以乙腈为有机相,参考相关文献对乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液^[14-16,22-23]进行对比考察,最终乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相梯度洗脱,对屏风生脉胶囊中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B含量进行同时检测。

3.3 供试品制备方法的确定

本研究在制备屏风生脉胶囊供试品溶液时,逐个考察了甲醇^[14-15,17-21]、水^[16]、80%甲醇^[22]、70%甲醇^[23]4种提取溶剂及加热回流^[14,20]、超声^[15,17-19,21-23]2种提取方式,以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、芒柄花素、升麻素苷、升麻素、亥茅酚苷、麦冬甲基黄烷酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B综合提取率为首要指标,最终确定采用甲醇超声处理45 min为屏风生脉胶囊供试品制备方法^[21]。

本研究所建立的HPLC-QAMS结果准确,可用于对屏风生脉胶囊中9个指标成分的同步定量分析,能够作为屏风生脉胶囊多指标成分质量控制方法;同时也反映出9个指标成分存在一定的批间差异,表明多指标成分质量控制对稳定屏风生脉胶囊产品质量,确保临床用药疗效的一致性具有重要意义。

表8 屏风生脉胶囊中9个指标成分含量测定结果($n=3$)

编号	升麻素 ESM	毛蕊异黄酮葡萄糖苷		芒柄花苷		9,10-二甲氧基紫檀烷-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷		芒柄花素		升麻素苷		亥茅酚苷		麦冬甲基黄烷酮A		甲基麦冬二氢高异黄酮B	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	0.267	0.314	0.313	0.191	0.190	0.243	0.245	0.578	0.576	0.931	0.907	0.219	0.220	0.152	0.153	0.107	0.110
S2	0.275	0.305	0.306	0.195	0.196	0.259	0.258	0.596	0.594	0.892	0.896	0.196	0.197	0.136	0.141	0.111	0.112
S3	0.307	0.359	0.357	0.167	0.168	0.267	0.266	0.615	0.613	0.903	0.906	0.208	0.209	0.168	0.169	0.124	0.126
S4	0.288	0.298	0.299	0.183	0.183	0.280	0.279	0.638	0.639	0.917	0.920	0.252	0.250	0.129	0.128	0.106	0.107
S5	0.239	0.304	0.303	0.170	0.169	0.284	0.285	0.664	0.662	0.955	0.958	0.233	0.234	0.150	0.149	0.101	0.100
S6	0.286	0.326	0.324	0.191	0.192	0.266	0.265	0.657	0.654	0.852	0.850	0.189	0.191	0.161	0.162	0.087	0.088
S7	0.290	0.288	0.289	0.217	0.216	0.207	0.206	0.626	0.629	0.839	0.841	0.197	0.196	0.163	0.158	0.109	0.110
S8	0.306	0.333	0.331	0.215	0.214	0.219	0.226	0.529	0.531	0.878	0.873	0.222	0.223	0.152	0.151	0.114	0.113
S9	0.254	0.357	0.355	0.220	0.219	0.292	0.293	0.550	0.552	0.939	0.914	0.240	0.241	0.122	0.123	0.126	0.125
S10	0.278	0.329	0.328	0.163	0.164	0.285	0.286	0.537	0.539	0.977	0.973	0.251	0.250	0.170	0.171	0.113	0.112
S11	0.266	0.347	0.346	0.190	0.191	0.271	0.272	0.610	0.608	0.961	0.966	0.219	0.218	0.166	0.165	0.102	0.106
S12	0.227	0.316	0.317	0.185	0.186	0.264	0.263	0.579	0.591	0.905	0.910	0.206	0.205	0.175	0.174	0.098	0.099

参考文献

- [1] 陈卫卫. 屏风生脉胶囊联合地氯雷他定片治疗慢性荨麻疹48例[J]. 陕西中医学院学报, 2010, 33(4): 67-68.
- [2] 吴仁根. 盐酸西替利嗪联合屏风生脉胶囊治疗慢性荨麻疹临床观察[J]. 海峡药学, 2013, 25(3): 108-109.
- [3] 梁振明, 吴光声, 方研彤, 等. 屏风生脉胶囊联合沙美特罗替卡松气雾剂治疗支气管哮喘的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(1): 59-62.
- [4] 王美荣. 屏风生脉胶囊口服辅助治疗支气管哮喘临床观察[J]. 山东医药, 2014, 54(19): 86-87.
- [5] 赵燕, 臧正明. 屏风生脉胶囊联用胺碘酮治疗室性早搏[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(23): 3084.
- [6] 周廷莲, 孙玉红. 屏风生脉胶囊治疗病毒性心肌炎48例观察[J]. 实用中医药杂志, 2003, 19(11): 593.
- [7] 牛晓波, 曲延凤, 宋蕾. 屏风生脉胶囊治疗老年冠心病心绞痛48例[J]. 中国民间疗法, 2005, 13(3): 56.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准: YBZ13672006[S]. 北京: 国家食品药品监督管理局, 2006.
- [9] 陈平, 蔡雄辉, 张继良, 等. 高效液相色谱法测定屏风生脉胶囊中五味子醇甲的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(8): 478-479.
- [10] 王慧, 袁祥慧, 邓开英. 屏风生脉胶囊中3种药材的鉴别与五味子醇甲的测定[J]. 华西药学杂志, 2012, 27(5): 566-568.
- [11] 金阳. HPLC-ELSD法测定屏风生脉胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(4): 38-40.
- [12] 余琳, 文永兰, 黄涛. HPLC测定屏风生脉胶囊人参皂苷Rg₁的研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(8): 192-193.
- [13] 熊慧林, 江维克. HPLC法同时测定屏风生脉胶囊中人参皂苷Rg₁和人参皂苷Re的含量[J]. 贵州医药, 2006, 30(12): 1128-1129.
- [14] 李紫岩, 杨敏, 王杰, 等. 以7种有效成分为指标评价内蒙古不同产地黄芪药材品质[J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 65-73.
- [15] 刘蓬蓬, 张凡, 史辑, 等. UPLC-MS/MS法测定不同温度定向炮制黄芪中8种苷类和4种苷元成分的含量[J]. 中国药房, 2020, 31(3): 287-293.
- [16] 黄诗莹, 陈秋谷, 王佛长, 等. 黄芪-丹参煎液HPLC指纹图谱及多指标定量测定研究[J]. 中草药, 2019, 50(20): 4950-4956.
- [17] 徐容. 关防风HPLC特征指纹图谱研究及4个色原酮类成分一测多评法分析研究[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(3): 458-466.
- [18] 管娜, 拜年, 刘冰, 等. 基于多波长切换HPLC同时测定荆芥-防风药对9种化学成分及指纹图谱研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(9): 99-104.
- [19] 田壮, 邓哲, 周海燕, 等. 不同贮藏条件和包装对防风饮片质量影响的研究[J]. 中国现代中药, 2019, 21(11): 1557-1563.
- [20] 王萍, 雷钧涛, 刘玉波. HPLC法测定三种防风中升麻素苷及5-O-甲基维斯阿米醇苷含量[J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(1): 10-12.
- [21] 吴发明, 杨瑞山, 张思荻, 等. 高效液相色谱法同时测定麦冬中3个黄酮成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(8): 655-658.
- [22] 何佳, 黄文康, 马相锋, 等. 基于主成分分析与PLS-DA分析研究浙麦冬道地性与等级评价标准[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(4): 285-292.
- [23] 谈梦霞, 陈佳丽, 邹立思, 等. 不同加工麦冬中多元活性成分的含量测定及多元统计分析[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 992-1002.

(收稿日期: 2021-07-28 编辑: 王笑辉)