

HPLC法测定圣愈汤冻干粉中4个指标成分的含量^Δ

董丹华^{1*}, 刘玉军², 李亚男¹, 胡祥昊¹, 孙平¹, 李婷³, 刘菊妍⁴, 高鹏^{1#}(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东省齐河县人民医院中药房, 山东德州 251100; 3. 山东省文登整骨医院药学部, 山东威海 264400; 4. 广州医药集团有限公司技质部, 广州 510130)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)05-0576-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.05.14

摘要 目的:建立测定圣愈汤冻干粉中阿魏酸、毛蕊花糖苷、蒙本内酯、黄芪甲苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法测定3批冻干粉样品4种成分含量。测定阿魏酸、毛蕊花糖苷、蒙本内酯的色谱柱为Inertsil ODS-SP C₁₈,流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为330 nm,检测器为二极管阵列检测器,柱温为30 ℃,进样量为10 μL;测定黄芪甲苷的色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为乙腈-水(32:68, V/V),检测器为蒸发光散射检测器,漂移管温度为100 ℃,载气(空气)流量为2.5 L/min,流速为1.0 mL/min,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果:阿魏酸、毛蕊花糖苷、蒙本内酯和黄芪甲苷进样量线性范围分别为0.050 15~10.03 μg($r=0.999\ 8$)、0.067 80~13.56 μg($r=0.999\ 9$)、0.057 30~11.46 μg($r=0.999\ 5$)、1.128~11.28 μg($r=0.999\ 3$);检测限分别为 2.12×10^{-4} 、 1.30×10^{-3} 、 8.02×10^{-4} 、 1.09×10^{-3} μg,定量限分别为 7.43×10^{-4} 、 3.87×10^{-3} 、 2.34×10^{-3} 、 3.36×10^{-3} μg;精密度、稳定性(12 h)、重复性试验的RSD均小于2%($n=6$);平均加样回收率分别为99.6%(RSD=0.83%, $n=6$)、100.9%(RSD=1.07%, $n=6$)、98.8%(RSD=0.84%, $n=6$)和101.3%(RSD=0.99%, $n=6$)。3批样品中阿魏酸、毛蕊花糖苷、蒙本内酯和黄芪甲苷的含量分别为1.225~1.248、0.413~0.424、0.325~0.332、0.394~0.404 mg/g(批间RSD<1.5%)。结论:建立的含量测定方法稳定性、重复性好,能够快速、准确地测定圣愈汤冻干粉中阿魏酸、毛蕊花糖苷、蒙本内酯和黄芪甲苷的含量。

关键词 圣愈汤;冻干粉;高效液相色谱法;阿魏酸;毛蕊花糖苷;蒙本内酯;黄芪甲苷;含量测定

Content Determination of 4 Indicator Components in Shengyu Decoction Lyophilized Powder by HPLC

DONG Danhua¹, LIU Yujun², LI Yanan¹, HU Xianghao¹, SUN Ping¹, LI Ting³, LIU Juyan⁴, GAO Peng¹(1.School of Pharmacy, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China; 2.Chinese Pharmacy of Qihe County People's Hospital of Shandong Province, Shandong Dezhou 251100, China; 3.Dept. of Pharmacy, Wendeng Osteopathic Hospital of Shandong Province, Shandong Weihai 264400, China; 4.Dept. of Technology, Guangzhou Pharmaceutical Group Co., Ltd., Guangzhou 510130, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the content determination method of ferulic acid, verbascoside, ligustilide and astragaloside in Shengyu decoction lyophilized powder. METHODS: HPLC method was adopted to determine 4 components in 3 batches of lyophilized powder. The determination of ferulic acid, verbascoside and ligustilide was performed on Inertsil ODS-SP C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min; detector was diode array detector; detection wavelength was set at 330 nm; column temperature was 30 ℃, the sample size was 10 μL. The determination of astragaloside was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (32:68, V/V); detector was evaporative light scattering detector; the drift tube temperature was 100 ℃, the carrier gas (air) flow rate was 2.5 L/min at the flow rate of 1.0 mL/min; column temperature was 30 ℃, the sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of ferulic acid, verbascoside, ligustilide and astragaloside were 0.050 15-10.03 μg ($r=0.999\ 8$), 0.067 80-13.56 μg ($r=0.999\ 9$), 0.057 30-11.46 μg ($r=0.999\ 5$), 1.128-11.28 μg ($r=0.999\ 3$), respectively. The detection limits were 2.12×10^{-4} , 1.30×10^{-3} , 8.02×10^{-4} , 1.09×10^{-3} μg, respectively. The limit of quantification were 7.43×10^{-4} , 3.87×10^{-3} , 2.34×10^{-3} , 3.36×10^{-3} μg, respectively. RSDs of precision, stability (12 h) and reproducibility tests were all lower than 2% ($n=6$). Average recovery rates were 99.6% (RSD=0.83%, $n=6$), 100.9% (RSD=1.07%, $n=6$), 98.8% (RSD=0.84%, $n=6$) and 101.3% (RSD=0.99%, $n=6$), respectively. The contents of ferulic acid, verbascoside, ligustilide and astragaloside in 3 batches of samples were 1.225-1.248, 0.413-0.424, 0.325-0.332, 0.394-0.404 mg/g, respectively (RSDs among batches were lower than 1.5%). CONCLUSIONS: Established method is stable, reproducible, rapid and accurate for the content determination of ferulic acid,

^Δ 基金项目:国家科技重大专项(No.2018ZX09721-004)

* 硕士研究生。研究方向:中药制剂新技术与新剂型。E-mail: 709778553@qq.com

通信作者:副教授,硕士生导师。研究方向:中药制剂新技术与新剂型。E-mail:2894981809@qq.com

verbascoside, ligustilide and astragaloside in Shengyu decoction lyophilized powder.

KEYWORDS Shengyu decoction; Lyophilized powder; HPLC; Ferulic acid; Verbascoside; Ligustilide; Astragaloside; Content determination

圣愈汤为经典名方,出自金代李东垣的《兰室秘藏》:“治诸恶疮,血出多而心烦不安,不得睡眠,亡血故也,以此药主之”。此方由生地黄、熟地黄、川芎、人参各三分,当归身、黄芪各五分组成。方中人参、黄芪补气;当归身、生熟地黄、川芎补血滋阴;配合成方,共奏补益气血、活血止痛之效^[1-3]。现代药理研究表明,圣愈汤对血液系统具有抗凝作用^[1],可改善微循环、改善血液流变学、降血脂、抗动脉粥样硬化^[2],还可治疗气血虚证痛经^[3],同时对妇科恶性肿瘤并发的贫血症状也有改善效果^[4]。圣愈汤中当归和川芎可活血、补血,共有的成分阿魏酸和藁本内酯为主要活性物质^[5-8];地黄可滋阴、补血,所含毛蕊花糖苷可促进血虚动物红细胞及血红蛋白的恢复^[9];《本草纲目》中称黄芪为“补药之长”,其主要成分黄芪甲苷对心血管系统的作用效果显著^[10]。因此,阿魏酸、毛蕊花糖苷、藁本内酯和黄芪甲苷这4个成分均为圣愈汤的重要指标成分。目前,2015年版《中国药典》尚未收载圣愈汤相关制剂,数据库中多收录的是圣愈汤中医辨证论治方面的内容,尚未检索到关于圣愈汤含量测定的研究报道。为了便于制剂保存及最大程度地保持中药汤液的物质一致性,可将圣愈汤采用减压浓缩和冷冻干燥法制备成冻干粉,之后还可加入相应辅料制剂开发成相关的成药制剂。因此,本试验将建立圣愈汤冻干粉中阿魏酸、毛蕊花糖苷、藁本内酯和黄芪甲苷含量的测定方法,为后续的相关研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-2030C型高效液相色谱仪,配有二极管阵列检测器(DAD)、LabSolutions工作站(日本岛津制作所);3300型蒸发光散射检测器(ELSD,美国奥泰科技有限公司);XS105型分析天平(梅特勒-托利多国际贸易有限公司,感量:0.01 mg);YP10002型电子天平(上海光正医疗仪器有限公司,感量:0.01 g);KQ2200DV型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);H22-X3型电陶炉(九阳股份有限公司);SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);RE 5298A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

阿魏酸(批号:110773-201614,纯度:99.0%)、毛蕊花糖苷(批号:111530-201713,纯度:92.5%)、黄芪甲苷(批号:110781-201314,纯度:95.8%)各对照品均来源于中国食品药品检定研究院;藁本内酯对照品(批号:58546-55,纯度:98.0%)来源于上海雅吉生物科技有限公司;甲醇、磷酸均为色谱纯;纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);生地黄、熟地黄、当归、川芎、人参、黄芪各饮

片均经山东中医药大学药学院万鹏教授鉴定为真品,具体信息见表1。

表1 中药饮片信息

Tab 1 Information of TCM piece

饮片	基源	来源
生地黄	玄参科植物地黄(<i>Glutinosa Libosch.</i>)	安徽济人药业有限公司
熟地黄	玄参科植物地黄(<i>Glutinosa Libosch.</i>)	安徽济人药业有限公司
当归	伞形科植物当归[<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.)Diels]	北京同仁堂集团有限责任公司
川芎	伞形科植物川芎(<i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort.)	河北汉草药业有限公司
人参	五加科植物人参(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)	吉林北药医药股份有限公司
黄芪	豆科植物蒙古黄芪[<i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.)Bge. var. <i>mongholicus</i> (Bge.)Hsiao]	河北汉草药业有限公司

2 方法与结果

2.1 冻干粉样品制备

原方记载圣愈汤的制备方法为:“生地黄、熟地黄、川芎、人参各三分,当归身、黄芪各五分,右咬咀如麻豆大,都作一服,水二大盏,煎至一盏,去粗”^[11](“右咬咀”指用牙齿将上述药材嚼碎)。本试验样品制备方法如下:取已剪成麻豆粒大小(约为黄豆粒~5目大小)的生地黄、熟地黄、川芎、人参饮片各1.24 g,当归身、黄芪饮片各2.06 g,置于砂锅中,加水400 mL,称质量,置于电陶炉上,武火煎煮至沸腾,改用文火保持微沸,至总质量减少200 g,停止加热,趁热用200目尼龙滤布滤过,挤压药渣,得到汤液;汤液用旋转蒸发器于50℃进行减压浓缩,得到浓缩液;将浓缩液置于冷冻干燥机中进行冷冻干燥,得到圣愈汤冻干粉。按上述方法制备3批成方冻干粉,批号分别为190615、190616、190617,质量分别为4.92、5.14、5.07 g。另同法制备阴性样品:取已剪成麻豆粒大小的人参饮片1.24 g、黄芪饮片2.06 g,按上述样品制备方法制备,得到缺生地黄、熟地黄、川芎和当归的阴性冻干粉A,平行3份,混匀,总质量为2.5 g;取已剪成麻豆粒大小的生地黄、熟地黄、川芎、人参饮片各1.24 g,当归身饮片2.06 g,按上述样品制备方法制备,得到缺黄芪的阴性冻干粉B,平行3份,混匀,总质量为11.4 g。

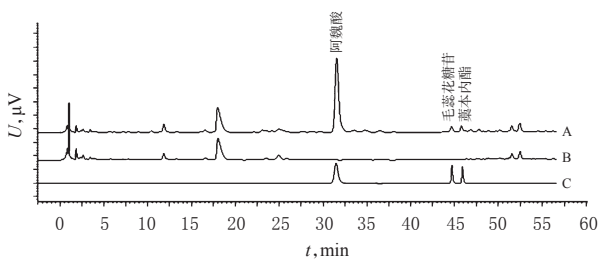
2.2 阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯含量测定方法建立

2.2.1 色谱条件 在文献[12-13]基础上设置本文条件。色谱柱为Inertsil ODS-SP C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B),采用梯度洗脱(0~8 min, 5% A; 8~55 min, 5% A→27% A; 55~57 min, 27% A→73% A; 57~60 min, 73% A→5% A);流速为1.0 mL/min;检测器为DAD,检测波长为330 nm;柱温为30℃;进样量为10 μL。

2.2.2 溶液的制备 (1)对照品溶液制备。取阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯对照品,加甲醇制成每1 mL含阿魏酸1.356 mg、毛蕊花糖苷1.003 mg和藁本内酯1.146 mg的混合对照品贮备液;将贮备液以甲醇稀释100倍,得到每1 mL含阿魏酸13.56 μg、毛蕊花糖苷

10.03 μg 和藁本内酯 11.46 μg 的混合对照品溶液。(2)供试品溶液制备。取成方冻干粉(批号:190615)约 0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声 30 min(功率:250 W,频率:40 kHz,下同),放冷,再称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。(3)阴性样品溶液 A 制备。取阴性冻干粉 A 约 0.2 g,按上述供试品溶液制备方法制备,即得。

2.2.3 系统适用性试验 分别取“2.2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液 A,在“2.2.1”项色谱条件下进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,各峰间分离度均大于 1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论板数以阿魏酸峰计不低于 3 000,色谱图见图 1。



注:A.供试品溶液;B.阴性样品溶液 A;C.阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯混合对照品溶液

Note:A. test solution; B. negative sample solution A; C. mixed control solution of ferulic acid, verbascoside and ligustilide

图 1 阿魏酸、毛蕊花糖苷、藁本内酯含量测定高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of content determination of ferulic acid, verbascoside and ligustilide

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.2”项下混合对照品贮备液 0.05、1、2、3、5 mL,置于不同 10 mL 量瓶中,加 70% 甲醇稀释制得 5 个不同质量浓度的混合对照品溶液。取“2.2.2”项下混合对照贮备液及上述 5 个质量浓度混合对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以进样量为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)分别绘制各成分标准曲线,计算其回归方程。结果,各成分在各自进样量范围内与峰面积的线性关系良好,详见表 2。

表 2 线性关系考察结果

Tab 2 Results of linear relationship test

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg	检测限, μg	定量限, μg
阿魏酸	$y=9.75 \times 10^3 x - 4.71 \times 10^3$	0.999 9	0.067 80~13.56	2.12×10^{-4}	7.43×10^{-4}
毛蕊花糖苷	$y=3.93 \times 10^3 x + 1.25 \times 10^4$	0.999 8	0.050 15~10.03	1.30×10^{-3}	3.87×10^{-3}
藁本内酯	$y=4.09 \times 10^3 x + 3.17 \times 10^4$	0.999 5	0.057 30~11.46	8.02×10^{-4}	2.34×10^{-3}
黄芪甲苷	$y=1.744x + 4.634$	0.999 9	1.128~11.28	1.09×10^{-3}	3.36×10^{-3}

2.2.5 检测限与定量限考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,加甲醇倍比稀释后,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。当信噪比为

3:1 时,得检测限;当信噪比为 10:1 时,得定量限,结果见表 2。

2.2.6 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下混合对照溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录色谱图。结果,阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 0.52%、0.98%、0.75% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:190615),分别于室温条件下放置 0、2、5、8、10、12 h 时,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.02%、0.47%、0.72% ($n=6$),表明供试品溶液在室温放置 12 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 取同一批冻干粉样品(批号:190615)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算各成分含量。结果,阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯平均含量分别为 1.246、0.414、0.324 mg/g, RSD 分别为 0.96%、0.61%、0.55% ($n=6$),表明方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取冻干粉样品(批号:190615)6 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,各加入待测成分对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算各成分的加样回收率。结果,阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯平均加样回收率分别为 99.6% (RSD=0.83%, $n=6$)、100.9% (RSD=1.07%, $n=6$) 和 98.8% (RSD=0.84%, $n=6$),详见表 3。

表 3 阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 3 Results of the recovery test of ferulic acid, verbascoside and ligustilide ($n=6$)

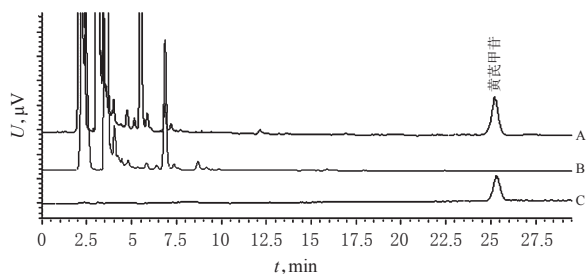
待测成分	样品中含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
阿魏酸	0.305 3	0.323 2	0.624 1	98.64	99.6	0.83
	0.324 0	0.323 2	0.649 6	100.75		
	0.295 4	0.323 2	0.618 4	99.95		
	0.325 2	0.323 2	0.643 8	98.56		
	0.326 8	0.323 2	0.647 6	99.27		
	0.305 7	0.323 2	0.630 0	100.35		
	0.101 4	0.099 2	0.201 5	100.87		
0.107 6	0.099 2	0.208 9	102.07			
0.098 1	0.099 2	0.196 8	99.45			
0.108 1	0.099 2	0.208 7	101.45			
0.108 6	0.099 2	0.207 4	99.63			
0.101 6	0.099 2	0.202 9	102.15			
0.079 4	0.081 9	0.160 5	99.04	98.8	0.84	
0.084 2	0.081 9	0.164 6	98.12			
0.076 8	0.081 9	0.158 5	99.75			
0.084 6	0.081 9	0.164 8	97.96			
0.085 0	0.081 9	0.165 3	98.08			
0.079 5	0.081 9	0.161 4	100.02			

2.3 黄芪甲苷含量测定方法建立

2.3.1 色谱条件 色谱柱为Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(32:68, V/V);检测器为ELSD, 漂移管温度为100 ℃;载气(空气)流量为2.5 L/min;流速为1.0 mL/min;柱温为30 ℃;进样量为10 μL^[14]。

2.3.2 溶液的制备 (1)对照品溶液制备。称取黄芪甲苷对照品适量,用甲醇溶解制成每1 ml含黄芪甲苷5.642 mg的对照品贮备液;将该贮备液加甲醇稀释10倍,得到质量浓度为564.2 μg/mL的对照品溶液。(2)供试品溶液制备。取冻干粉约1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,超声处理30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过;精密量取续滤液25 mL,蒸干,残渣加水15 mL使溶解;用水饱和的正丁醇振摇提取4次,每次25 mL;合并正丁醇液,用氨试液洗涤2次,每次40 mL;弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解,转移至5 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.22 μm)滤过,取续滤液,即得。(3)阴性样品溶液B制备。取阴性冻干粉B约1.0 g,按上述供试品溶液制备方法制备,即得^[15]。

2.3.3 系统适用性试验 分别取“2.3.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液B,按“2.3.1”项色谱条件下进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,黄芪甲苷与相邻峰间分离度均大于1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论板数以黄芪甲苷计不低于4 000,色谱图见图2。



注:A.供试品溶液;B.阴性样品溶液B;C.黄芪甲苷对照品溶液

Note: A. test solution; B. negative sample solution B; C. astragaloside control solution

图2 黄芪甲苷含量测定高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram of content determination of astragaloside

2.3.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.3.2”项下对照品贮备液0.1、0.2、0.4、0.7、1 mL,置于不同5 mL量瓶中,加甲醇制成6个不同浓度的对照品溶液。按“2.3.1”项色谱条件进样测定,以黄芪甲苷进样量的对数为横坐标(x)、峰面积的对数为纵坐标(y)绘制标准曲线,计算回归方程。结果,黄芪甲苷在进样量范围内线性关系良

好,详见表2。

2.3.5 检测限与定量限考察 精密吸取“2.3.2”项下对照品溶液适量,加甲醇倍比稀释后,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限,结果见表2。

2.3.6 精密度试验 精密吸取“2.3.2”项下对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录色谱图。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD为0.67%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:190615),分别于室温条件下放置0、2、5、8、10、12 h时,按“2.3.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD为1.15%(n=6),表明供试品溶液在室温12 h内稳定性良好。

2.3.8 重复性试验 取同一批冻干粉样品(批号:190615)6份,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱峰,并按外标法计算含量。结果,黄芪甲苷平均含量为0.398 mg/g, RSD为0.74%(n=6),表明方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取冻干粉样品(批号:190615)6份,每份约0.5 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,加入黄芪甲苷对照品溶液适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算黄芪甲苷的加样回收率。结果,黄芪甲苷平均加样回收率为101.3%(RSD=0.99%, n=6),详见表4。

表4 黄芪甲苷回收率试验结果(n=6)

Tab 4 Results of the recovery test of astragaloside (n=6)

样品中含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
0.200 7	0.197 5	0.399 9	100.85		
0.199 2	0.197 5	0.399 8	101.57		
0.199 7	0.197 5	0.400 9	101.89	101.3	0.99
0.200 6	0.197 5	0.401 8	101.90		
0.199 2	0.197 5	0.395 2	99.22		
0.199 8	0.197 5	0.401 5	102.13		

2.4 圣愈汤冻干粉中4个成分的含量测定

2.4.1 阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯的含量测定 取3批冻干粉样品适量,按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,按外标法计算阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯的含量。每批样品平行2份测定。结果,不同批次阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯含量的均一性较好,详见表5。

2.4.2 黄芪甲苷含量测定 取3批冻干粉,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,每批平行2份,按“2.3.1”项下色谱条件进样,测定黄芪甲苷的含量。结果,不同批次黄

芪甲苷含量的均一性较好,详见表5。

表5 3批圣愈汤冻干粉中阿魏酸、毛蕊花糖苷、藁本内酯和黄芪甲苷的含量测定结果(mg/g)

Tab 5 Results of the content determination of ferulic acid, verbascoside, ligustilide and astragaloside in 3 batches of Shengyu decoction lyophilized powder(mg/g)

批号	阿魏酸			毛蕊花糖苷			藁本内酯			黄芪甲苷		
	第1份	第2份	均值	第1份	第2份	均值	第1份	第2份	均值	第1份	第2份	均值
190615	1.253	1.242	1.248	0.415	0.411	0.413	0.329	0.321	0.325	0.392	0.399	0.396
190616	1.221	1.229	1.225	0.413	0.417	0.415	0.331	0.332	0.332	0.396	0.392	0.394
190617	1.232	1.226	1.229	0.427	0.421	0.424	0.325	0.327	0.326	0.401	0.406	0.404
批间RSD, %	0.81			1.15			0.94			1.09		

3 讨论

3.1 阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯供试品溶液制备方法的选择

本试验在建立阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯的含量测定方法时,首先考察了甲醇、70%甲醇和50%甲醇3种提取溶剂的提取效果,结果发现70%甲醇对目标成分的提取率更高;另外,考察了超声时间对目标成分提取率的影响,结果发现超声30 min与45、60 min的效果相当。因此,阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯含量测定供试品溶液的制备方法为用70%甲醇超声处理30 min。

3.2 色谱条件的优化

本试验在建立阿魏酸、毛蕊花糖苷和藁本内酯的含量测定方法时,首先用DAD进行了全波长扫描,发现在330 nm波长下基线平稳,主峰相对峰面积较大;又对比了流动相甲醇-水和乙腈-水,发现甲醇-水对毛蕊花糖苷和藁本内酯的分离效果更好,但是导致阿魏酸色谱峰有明显拖尾,故在水相中加入0.1%磷酸,使峰形得以改善;另对不同品牌色谱柱Inertsil ODS-SP C₁₈、Kromasil C₁₈和Cosmosil-5C₁₈-MS-II进行了比较,发现采用Inertsil ODS-SP C₁₈时对上述3个目标峰的分离度和峰形更好,而Kromasil C₁₈更适合用于分析黄芪甲苷。

综上所述,本试验建立的同时测定阿魏酸、毛蕊花糖苷、藁本内酯和黄芪甲苷4种成分含量的方法具有重复性好、结果稳定可靠、操作简单等特点,对圣愈汤冻干

粉的质量进行整体控制有重要意义。

参考文献

- [1] 赵菊花,祝彼得.圣愈汤的临床应用和实验研究新进展[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(12):208-210.
- [2] 唐从耀,田兆华,李怀友,等.圣愈汤对高血压脑出血患者血清HMGB1、BNP、NSE水平的影响[J].中国医药导刊,2018,20(5):271-274.
- [3] 李团网.浅谈圣愈汤治疗气血虚弱型痛经[J].中西医结合心血管病杂志,2016,4(3):176-177.
- [4] 乔小燕,杨树明,蔡焦生.圣愈汤治疗恶性肿瘤化疗后贫血的临床观察[J].光明中医,2010,25(8):1423-1424.
- [5] 韩炜.川芎的化学成分与药理作用研究进展[J].中国现代中药,2017,19(9):1341-1349.
- [6] 杨英来,崔方,胡芳,等.当归补血活血作用的谱效关系研究[J].中国中药杂志,2013,38(22):3923-3927.
- [7] 刘福和,陈少军,倪文娟.川芎中抗血栓活性成分的计算机虚拟筛选研究[J].中国药房,2017,28(16):2182-2186.
- [8] 张来宾,吕洁丽,陈红丽,等.当归中苯酞类成分及其药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(2):168-176.
- [9] 付国辉,杜鑫.地黄化学成分及药理作用研究进展[J].中国医药科学,2015,5(15):39-41.
- [10] 聂娟,谢丽华,马港圆,等.中药黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].湖南中医杂志,2018,34(7):228-231.
- [11] 吴谦.医宗金鉴[M].北京:人民卫生出版社,1963:332.
- [12] 王继陈,韩岚,张艳艳,等.桃红四物汤中6种指标性成分的含量测定[J].安徽中医药大学学报,2019,38(2):80-84.
- [13] 邵长森,张国青,韩真真,等.HPLC法同时测定温经汤中10种活性成分的含量[J].中国药房,2018,29(19):2640-2643.
- [14] 曹庆伟,杜鹃,罗晋平.黄芪甲苷含测方法的优化及对不同产地、不同等级黄芪中黄芪甲苷含量分析[J].中国中药杂志,2019,44(13):2813-2819.
- [15] 刘玉军,魏永利,马睿,等.白芪龙胶囊稠膏不同干燥方式的优选[J].中成药,2012,34(3):476-478,486.

(收稿日期:2019-08-26 修回日期:2019-09-20)

(编辑:刘 萍)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅