

香菊颗粒中黄芪甲苷含量测定方法的改进及其与原方成分的一致性研究[△]

孙晨曦^{1*},葛鼎¹,王素梅¹,郭康²,王举涛^{1#}(1.安徽中医药大学药学院,合肥 230012;2.陕西雪龙海姆普德药业股份有限公司,陕西渭南 714000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)14-1914-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.14.09

摘要 目的:改进香菊颗粒中黄芪甲苷的含量测定方法,并对相关制剂与原方成分的一致性进行评价,为中药复方的现代化制剂提供科学依据。方法:建立高效液相色谱-蒸发光散射法(HPLC-ELSD)测定香菊颗粒中黄芪甲苷的含量,并与原标准的薄层扫描法进行比较。以升麻素苷、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸、迷迭香酸、蒙花苷、木兰脂素为对照品,采用HPLC法测定自制香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片在水中的释放成分,并以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012版)》比较不同香菊制剂与原方干膏粉的指纹特征图谱;同时,采用HPLC-ELSD法测定并比较不同香菊制剂与原方干膏粉在水中的黄芪甲苷释放度。结果:所建立的黄芪甲苷含量测定HPLC-ELSD法专属性良好;黄芪甲苷检测质量浓度的线性范围为0.13~2.10 mg/mL;进样精密性、重复性、稳定性RSD均小于3%($n=6$);平均加样回收率为97.66%(RSD=1.01%, $n=6$)。以此方法测得黄芪甲苷平均含量为0.398 mg/g(RSD=1.01%, $n=3$),较薄层扫描法偏差更小。特征指纹图谱比较结果显示,香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片与原方干膏粉之间相似度均达0.850以上;香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片和原方干膏粉在水中的黄芪甲苷平均释放度分别为0.392、0.358、0.349、0.389 mg;与原方干膏粉比较,香菊颗粒中黄芪甲苷的释放度差异无统计学意义($P>0.05$),而香菊胶囊、香菊片中黄芪甲苷的释放度差异有统计学意义($P<0.01$)。结论:所建立的HPLC-ELSD法准确、可行,可用于香菊颗粒中黄芪甲苷的含量测定;香菊颗粒与原方成分具有一致性。

关键词 香菊颗粒;高效液相色谱-蒸发光散射法;黄芪甲苷;指纹图谱;含量测定;释放度;一致性

Method Improvement for Content Determination of Astragaloside IV in Xiangju Granules and Its Consistency with the Components of Original Formulation

SUN Chenxi¹, GE Ding¹, WANG Sumei¹, GUO Kang², WANG Jutao¹(1. School of Pharmacy, Anhui University of TCM, Hefei 230012, China; 2. Shaanxi Xuelong Hiympt Pharmaceutical Co., Ltd., Shaanxi Weinan 714000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the method for the content determination of astragaloside IV in Xiangju granules, and to evaluate the consistency of relevant preparations with the components of original formulation, so as to provide evidence for the modern preparation of TCM compound. METHODS: HPLC-ELSD method was established for the content determination of astragaloside IV in Xiangju granules, and compared with original standard TLC scanning. Using critrinin, ferulic acid, calycosin glucoside, liquiritin, glycyrrhizic acid, rosmarinic acid, buddleoside and magnoline as control, HPLC method was used to determine the release components of self-made Xiangju granules, Xiangju capsules, Xiangju tablets in water. Fingerprint characteristics chromatogram of different Xiangju preparations and original formulation extract were compared by using *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM* (2012 version). At the same time, HPLC-ELSD method was used to determine and compare the release rate of astragaloside IV from different Xiangju preparations and original formulation extract in water. RESULTS: Established HPLC-ELSD method was specific. The linear range of astragaloside IV was 0.13-2.10 mg/mL. RSDs of precision, repeatability and stability tests were all lower than 3% ($n=6$), and average recovery was 97.66% (RSD=1.01%, $n=6$). Average content of astragaloside IV by this method was 0.398 mg/g (RSD=1.01%, $n=3$), which had better reproducibility than TLC scanning. The comparative results of characteristic fingerprints showed that the similarity among Xiangju granules, Xiangju capsules, Xiangju tablets and the original formulation dry extract powder was more than 0.850. Average release rates of

[△] 基金项目:安徽省中央引导地方科技发展专项(No.201707070-2D173);安徽省科技重大专项(No.18030801128);安徽中医药大学校级探索性科研项目(No.2017HXTS31、2017HXTS2)

* 硕士研究生。研究方向:中成药制剂与质量标准。电话:0551-68129167。E-mail:scxh1029@163.com

通信作者:副教授,硕士生导师,硕士。研究方向:天然药物化学及复方物质基础。电话:0551-68129167。E-mail:wjt591@163.com

astragaloside IV in Xiangju granules, Xiangju capsules, Xiangju tablets and the original formulation extract were 0.392, 0.358, 0.349, 0.389 mg, respectively. Compared with original formulation extract, there was no statistical significance in release rate of astragaloside IV in Xiangju granules ($P>0.05$), while there was statistical significance in Xiangju capsules and Xiangju tablets ($P<0.01$). CONCLU-

SIONS: Established HPLC-ELSD method is accurate and feasible, and is suitable for the content determination of astragaloside IV in Xiangju granules. The main components of Xiangju granules are consistent with original formulation.

KEYWORDS Xiangju granules; HPLC-ELSD; Astragaloside IV; Fingerprint; Content determination; Release rate; Consistency

香菊颗粒(国药准字:Z10980117)是根据民间验方采用现代化制剂技术制成的颗粒剂型中成药,主要由化香树果序、夏枯草、黄芪、防风、甘草、野菊花、白芷、辛夷、川芎等9种药材经传统煎煮工艺提取后,再加入适量辅料而制成;其具有辛散祛风、清热解毒、活血化瘀、通窍止痛、消肿排脓等功效,以及镇痛、抗炎、增强免疫、广谱抗菌、抗病毒等药理活性,在临床上主要用于急慢性鼻炎、鼻窦炎的缓解与治疗^[1-9]。香菊颗粒质量标准收载于《国家药品标准:新药转正标准》第38册,该标准主要是采用薄层扫描法测定黄芪甲苷含量^[10],然而在以往实践过程中发现该方法重现性较差。基于此,本研究在以往相关研究的基础上,采用高效液相色谱-蒸发光散射法(HPLC-ELSD)对黄芪甲苷进行含量测定,以进一步完善香菊颗粒的质量控制方法。

目前市面上香菊颗粒的同方制剂还有香菊胶囊、香菊片,且已广泛用于临床。有研究表明,现代化中药工业剂型生产过程会对古方或经验方的有效成分产生影响^[11],而中药复方制剂功效发挥的基础正是原方药材中药理活性成分的保留,因此通过对比中药制剂在水中的释药情况,可反映不同剂型间对原方成分种类和含量的保留程度。考虑到中药复方的化学成分较为复杂,是多个组分之间相互作用以共同发挥药效,仅以单个或几个有效成分对其进行质量控制无法完全体现中药复方的整体性,因此建立中药制剂释放成分的特征指纹图谱并评价其相似度,可更全面地评价不同制剂对原方成分的保留情况;同时,结合对不同香菊制剂与原方提取物中主要有效成分黄芪甲苷的释放度的比较,可从整体和单一成分的双重角度,评价原方进行现代化工艺制剂的有效性、合理性和一致性,从而为确保中药复方的临床疗效提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

1260型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司);Alltech 2000型蒸发光散射(ELSD)检测器[美国奥泰科技(中国)有限公司];LC-10A型HPLC仪(日本Shimadzu公司);B135-S型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);KQ220型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

市售香菊颗粒(陕西雪龙海姆普德药业股份有限公司,批号:171114);香菊制剂原方干膏粉(批号:YFG-GF01、YFGGF02、YFGGF03、YFGGF04、YFGGF05、YFGGF06)、缺黄芪原方干膏粉(批号:YXYFGGF01)均为

本课题组按处方工艺煎煮提取、干燥后制得;香菊颗粒(批号:XJKL01、XJKL02、XJKL03)、香菊胶囊(批号:XJJN01、XJJN02、XJJN03)、香菊片(批号:XJP01、XJP02、XJP03)均为本课题组以香菊制剂原方干膏粉添加相应辅料制得;糊精、蔗糖粉、甘露醇等药用辅料均购自河南鲁尔康药业有限公司。

黄芪甲苷对照品(批号:110781-201515,纯度:≥93.0%)、甘草苷对照品(批号:XR6G-FZE9,纯度:≥93.1%)、甘草酸对照品(批号:TYTC-N7PV,纯度:≥93.0%)均购自中国食品药品检定研究院;升麻素苷对照品(批号:DST180326-062,纯度:≥99.0%)、阿魏酸对照品(批号:DST180412-001,纯度:≥99.0%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(批号:DST161107-013,纯度:≥98.0%)、迷迭香酸对照品(批号:MUST-14111507,纯度:≥99.4%)、蒙花苷对照品(批号:DST170301-045,纯度:≥99.0%)、木兰脂素对照品(批号:DST170301-041,纯度:≥98.0%)均购自成都德思特生物技术有限公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,乙醇、正丁醇均为分析纯,水为超纯水。

2 黄芪甲苷含量测定方法的改进

2.1 HPLC-ELSD法测定香菊颗粒中黄芪甲苷的含量

参考2015年版《中国药典》(一部)“黄芪”项含量测定方法^[12]与相关文献^[13-15],采用HPLC-ELSD法测定香菊颗粒中黄芪甲苷的含量。

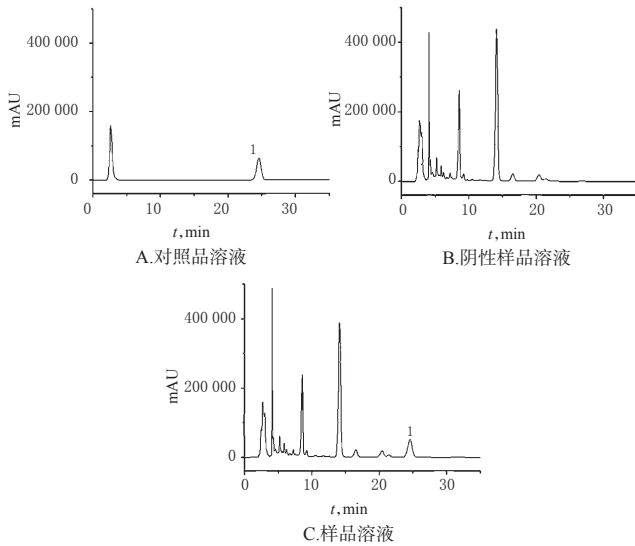
2.1.1 黄芪甲苷对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品5.38 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,加甲醇制成每1 mL含0.538 mg的对照品溶液。

2.1.2 样品溶液与阴性样品溶液的制备 (1)取市售香菊颗粒1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加水饱和正丁醇50 mL,密塞,称定质量,静置过夜后超声提取(功率:100 W,频率:40 kHz)1.0 h并适当振摇;放冷,用水饱和正丁醇补足减失质量,然后转移至分液漏斗中,以40%氨水充分洗涤2次,每次40 mL;取上层正丁醇液减压蒸干,回收溶剂;残渣加甲醇溶解,转移至5 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得样品溶液。(2)取缺黄芪原方干膏粉,按处方工艺制得缺黄芪香菊颗粒阴性样品,取1.0 g,同“(1)”项下方法配制阴性样品溶液。

2.1.3 色谱条件与ELSD参数 (1)色谱条件:采用1260型HPLC仪测定。色谱柱为Epic C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(32:68, V/V);流速为1.0 mL/min;柱温为30 ℃;进样体积为10 L。(2)ELSD参数:漂移管温度为115 ℃;喷嘴温度为105 ℃;载气为净化压缩空气;载气流速为3 L/min;光电管信号放大倍数为

2倍。

2.1.4 系统适用性考察 分别取“2.1.1”“2.1.2”项下对照品溶液、样品溶液、阴性样品溶液各适量,按“2.1.3”项下条件进样分析,记录色谱图。结果显示,黄芪甲苷保留时间为24.790 min,分离度为3.89,理论板数为7 842,且阴性样品对测定无干扰,详见图1。



注:1.黄芪甲苷
Note: 1. astragaloside IV

图1 黄芪甲苷的系统适用性色谱图

Fig 1 System suitability chromatograms of astragaloside IV

2.1.5 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品4.20 mg,置于2 mL量瓶中,以甲醇溶解并定容,制得质量浓度为2.10 mg/mL的对照品溶液 I;精密吸取对照品溶液 I 适量,以甲醇梯度稀释,制得质量浓度分别为1.05、0.52、0.26、0.13 mg/mL的系列对照品溶液 II~V。取上述对照品溶液 I~V,按“2.1.3”项下条件进样分析,记录色谱图。以黄芪甲苷质量浓度的常用对数值(x)为横坐标、色谱峰面积的常用对数值(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=1.064 4x+5.895 7(r=0.999 1)$,表明黄芪甲苷检测质量浓度的线性范围为0.13~2.10 mg/mL。

2.1.6 精密度试验 取同一批样品溶液(批号:171114),按“2.1.3”项下条件连续进样分析6次。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD为0.64% ($n=6$),表明仪器进样精密度良好。

2.1.7 重复性试验 取同一批样品(批号:171114),共6份,按“2.1.2”项下方法配制样品溶液,再按“2.1.3”项下条件进样分析,以外标两点法计算黄芪甲苷含量。结果,黄芪甲苷的平均含量为0.398 mg/g,RSD为1.93% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.1.8 回收率试验 精密称取黄芪甲苷对照品4.28 mg,置于20 mL量瓶中,以甲醇溶解并定容,制得质量浓度为0.214 mg/mL的加样回收对照溶液。精密量取该对

照溶液1.0 mL,共6份,分别置于6个锥形瓶中(编号1~6),水浴蒸干后,分别加入已知黄芪甲苷含量的样品颗粒(批号:171114,黄芪甲苷含量:0.398 mg/g)约0.5 g,按“2.1.2”项下方法配制样品溶液,再按“2.1.3”项下条件进样分析,以外标两点法计算黄芪甲苷含量,并计算加样回收率。结果,黄芪甲苷的平均加样回收率为97.66%,RSD为1.01% ($n=6$),表明本方法准确度良好,详见表1。

表1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

试验号	取样量, g	黄芪甲苷已知量, mg	对照品加入量, mg	黄芪甲苷测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1	0.503 07	0.200 22	0.199 02	0.394 22	97.48		
2	0.499 34	0.198 74	0.199 02	0.389 77	95.98		
3	0.483 91	0.192 60	0.199 02	0.386 78	97.49		
4	0.498 77	0.198 51	0.199 02	0.393 54	97.99	97.66	1.01
5	0.489 49	0.194 82	0.199 02	0.391 87	98.99		
6	0.500 71	0.199 28	0.199 02	0.394 30	97.99		

2.1.9 稳定性试验 取同一批样品溶液(批号:171114),在室温25℃、相对湿度45%的条件下放置,并按“2.1.3”项下条件每隔2 h进样测定1次,共测定6次。结果,黄芪甲苷峰面积RSD为2.16% ($n=6$),表明样品溶液在上述条件下放置10 h内稳定性良好。

2.2 新建方法与原标准含量测定方法的比较

取市售香菊颗粒(批号:171114)适量,平行操作3份,分别采用本文建立的HPLC-ELSD法和原标准的薄层扫描法^[9]测定黄芪甲苷的含量。结果,HPLC-ELSD法所测黄芪甲苷含量分别为0.398、0.394、0.402 mg/g,平均含量为0.398 mg/g(RSD=1.01%, $n=3$);薄层扫描法所测黄芪甲苷含量分别为0.374、0.399、0.381 mg/g,平均含量为0.385 mg/g(RSD=3.35%, $n=3$),表明HPLC-ELSD法测定黄芪甲苷含量较薄层扫描法偏差更小。

3 不同香菊制剂与原方成分一致性比较

3.1 不同香菊制剂与原方干膏粉的水中释放成分特征图谱比较

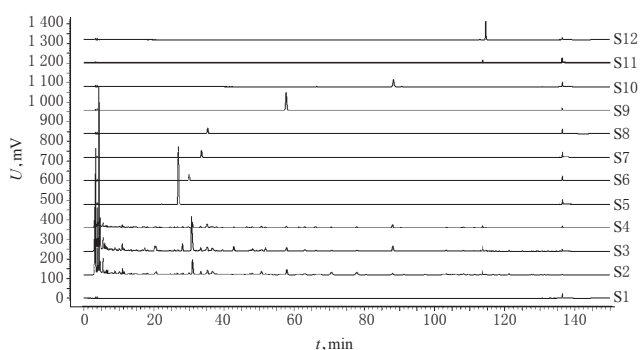
3.1.1 色谱条件 采用LC-10A型HPLC仪测定。色谱柱:Thermo Hypersil GOLD™ C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,10% A;10~50 min,10% A→18% A;50~70 min,18% A;70~95 min,18% A→25% A;95~110 min,25% A→40% A;110~120 min,40% A;120~135 min,40% A→70% A;135~140 min,70% A→10% A;140~150 min,10% A);检测波长:270 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:5 μL。

3.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取升麻素苷、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸、迷迭香酸、蒙花苷、木兰脂素的对照品适量,加甲醇分别制成质量浓度均为50 μg/mL的单一对照品溶液,以0.22 μm滤膜滤过,即得。

3.1.3 供试品溶液的制备 称取原方干膏粉(批号:YF-

GGF01)0.6 g,并根据不同制剂处方中辅料添加量称取均相当于等量干膏粉的自制香菊颗粒(批号:XJKL01)、香菊胶囊(批号:XJJN01)内容物、香菊片(批号:XJP01)粉末各适量,平行操作6份,精密称定,分别加入37℃的水150 mL,搅拌使分散均匀,过滤;精密移取15 mL滤液蒸干,加甲醇定容至1 mL,以0.22 μm滤膜过滤,即得。

3.1.4 特征峰指认 分别取“3.1.2”“3.1.3”项下的对照品溶液、供试品溶液各适量,按“3.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图(见图2)。结果,根据各对照品溶液出峰时间,确定供试品溶液色谱图中升麻素苷、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、迷迭香酸、蒙花苷、甘草酸、木兰脂素等8个成分の出峰时间分别为26.983、29.989、33.550、35.267、57.846、88.304、113.729、114.648 min,分别表征香菊制剂原方中的防风、川芎、黄芪、甘草、夏枯草、野菊花、辛夷^[12]。



注: S1. 甲醇(溶剂); S2. 香菊颗粒(批号: XJKL01); S3. 香菊胶囊(批号: XJJN01); S4. 香菊片(批号: XJP01); S5. 升麻素苷对照品; S6. 阿魏酸对照品; S7. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品; S8. 甘草苷对照品; S9. 迷迭香酸对照品; S10. 蒙花苷对照品; S11. 甘草酸对照品; S12. 木兰脂素对照品

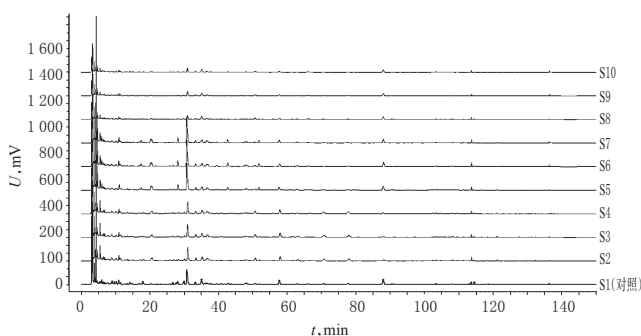
Note: S1. methanol (solvent); S2. Xiangju granules (No. XJKL01); S3. Xiangju capsules (No. XJJN01); S4. Xiangju tablets (No. XJP01); S5. citrinin control; S6. ferulic acid control; S7. calycosin glucoside control; S8. glycyrrhizin control; S9. rosmarinic acid control; S10. buddleoside control; S11. glycyrrhizic acid control; S12. magnoline control

图2 系统适用性特征图谱

Fig 2 System suitability characteristic chromatograms

3.1.5 不同制剂在水中的释放成分相似度评价 取原方干膏粉6批样品适量,按“3.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“3.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图并录入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012版)》,生成对照特征图谱;另取自制香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片各3批样品,同法制备供试品溶液并进样测定,记录色谱图,并与对照特征图谱进行比较,结果见图3。经该软件计算显示,自制香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片与原方干膏粉释放成分特征图谱之间的相似性均达0.850以上,各制剂间相似性也均在0.820以上,详见表2。由此表明,不同香菊制剂特征图谱相互比较,以及其与对照特征图谱比较差异均较小,提示不同制剂中所含

成分与原方成分较为接近。



注: S1. 对照图谱; S2~S4. 香菊颗粒(批号: XJKL01~XJKL03); S5~S7. 香菊胶囊(批号: XJJN01~XJJN03); S8~S10. 香菊片(批号: XJP01~XJP03)

Note: S1. control chromatogram; S2-S4. Xiangju granules (No. XJKL01-XJKL03); S5-S7. Xiangju capsules (No. XJJN01-XJJN03); S8-10. Xiangju tablets (No. XJP01-XJP03)

图3 不同制剂与原方干膏粉(对照)溶出成分的特征图谱

Fig 3 Characteristic chromatograms of dissolution components from different preparations and original formulation dry extract powder (control)

表2 不同制剂与原方干膏粉溶出成分特征图谱的相似性

Tab 2 Characteristic fingerprint similarity of dissolution components from different preparations and original formulation dry extract powder

编号	对照	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
对照	1.000	0.852	0.854	0.855	0.933	0.928	0.929	0.941	0.946	0.949
S2	0.852	1.000	0.999	0.999	0.855	0.862	0.862	0.829	0.839	0.836
S3	0.854	0.999	1.000	1.000	0.853	0.859	0.860	0.829	0.839	0.836
S4	0.855	0.999	1.000	1.000	0.854	0.859	0.860	0.830	0.840	0.837
S5	0.933	0.855	0.853	0.854	1.000	0.999	0.999	0.963	0.966	0.969
S6	0.928	0.862	0.859	0.859	0.999	1.000	1.000	0.957	0.961	0.963
S7	0.929	0.862	0.860	0.860	0.999	1.000	1.000	0.959	0.963	0.965
S8	0.941	0.829	0.829	0.830	0.963	0.957	0.959	1.000	1.000	0.999
S9	0.946	0.839	0.839	0.840	0.966	0.961	0.963	1.000	1.000	1.000
S10	0.962	0.836	0.836	0.837	0.969	0.963	0.965	0.999	1.000	1.000

3.2 不同香菊制剂与原方干膏粉中黄芪甲苷释放度比较

以黄芪甲苷水中释放度为指标^[16-17],比较自制香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片与原方成分的一致性。

3.2.1 样品溶液制备 按“3.1.3”项下方法称取原方干膏粉(批号: YFGGF01)0.6 g和均相当于等量干膏粉的自制香菊颗粒(批号: XJKL01)、香菊胶囊(批号: XJJN01)内容物、香菊片(批号: XJP01)粉末适量,平行操作6份,精密称定,加37℃水150 mL,搅拌使分散均匀,过滤;精密移取滤液50 mL,转移至分液漏斗中,加水饱和正丁醇萃取3次,每次30 mL;合并正丁醇萃取液,以40%氨水充分洗涤2次,每次40 mL;取上层正丁醇液减压蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至5 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

3.2.2 黄芪甲苷释放度比较 取“3.2.1”项下样品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,以外标两点法计算黄芪甲苷含量,并计算释放度[释放度=黄芪甲苷测得质量浓度(mg/mL)×水体积 150 mL]。结果显示,相当于0.6 g原方干膏粉的香菊颗粒、香菊胶囊、香菊片样品中黄芪甲苷平均释放度分别为0.392、0.358、0.349 mg,详见表3。采用SPSS 24.0统计学软件进行单因素方差分析对结果进行检验,方差齐则采用双侧Dunnett-*t*检验对不同香菊制剂与原方干膏粉测定结果进行比较。结果显示,香菊颗粒中黄芪甲苷的释放度与原方干膏粉比较差异无统计学意义($P>0.05$),而香菊胶囊、香菊片与原方干膏粉之间差异有统计学意义($P<0.01$),详见表4。

表3 不同制剂与原方干膏粉在水中的黄芪甲苷释放度(mg)

Tab 3 Release rate of astragaloside IV from different preparations and original formulation dry extract powder in water(mg)

试验号	香菊颗粒	香菊胶囊	香菊片	原方干膏粉
1	0.393	0.361	0.344	0.386
2	0.391	0.352	0.342	0.389
3	0.394	0.362	0.352	0.392
4	0.387	0.363	0.357	0.391
5	0.396	0.359	0.350	0.386
6	0.389	0.353	0.351	0.389
平均值	0.392	0.358	0.349	0.389

表4 不同制剂与原方干膏粉黄芪甲苷释放度的统计学检验结果($n=6$)

Tab 4 Statistical test results of release rates of astragaloside IV from different preparations and original formulation dry extract powder ($n=6$)

项目	F(方差分析)	P(Dunnett- <i>t</i> 检验)
香菊颗粒与原方干膏粉比较		0.480
香菊胶囊与原方干膏粉比较	0.356	<0.01
香菊片与原方干膏粉比较		<0.01

4 讨论

香菊颗粒具有辛散祛风、清热通窍的作用,常用于缓解和治疗急慢性鼻炎、鼻窦炎等^[9]。香菊颗粒原质控成分黄芪甲苷的含量测定方法为薄层扫描法,但该方法存在重复性差、空白干扰严重等问题。为修订、完善其质控方法,本课题组采用HPLC法对黄芪甲苷进行测定。由于黄芪甲苷属于三萜类皂苷,其紫外检测信号较弱^[13],因此本课题组采用ELSD检测器进行检测。ELSD检测器可弥补紫外检测器的弱势检测区域,广泛应用于如皂苷类、内酯类、糖类及部分生物碱类等成分的定量分析^[18]。在前期试验过程中,本课题组对样品溶液的制备方法进行了研究,先后对提取方式、提取溶剂等过程进行了考察。结果发现,纯有机溶剂对样品中黄芪甲苷的溶解效果均不理想,而水饱和和正丁醇用于溶解待测成分效果最好。

基于中药复方成分复杂,本研究从整体化学特征及有效单一成分两方面同时评价不同香菊制剂在水中的释放成分,并与原方干膏粉进行比较。综合原方中黄酮类、酚酸类及木质素类成分,本课题组前期对供试品溶液采用二极管阵列检测器进行全波长扫描(190~400 nm),结果发现各组分在270 nm波长处均有明显吸收,因此选择其作为检测波长。经测定,获得不同香菊制剂在水中释放成分的特征图谱,并标定了8个特征峰;相似度分析结果显示,不同香菊制剂与原方干膏粉特征图谱的相似度达到0.850以上,提示其在水中释放的成分较为接近。进一步对主要有效成分黄芪甲苷的释放度进行测定和统计学比较,结果显示,香菊颗粒中黄芪甲苷的释放度与原方干膏粉之间差异无统计学意义($P>0.05$),而香菊胶囊、香菊片与原方干膏粉之间差异有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,本研究所建立的HPLC-ELSD法准确、可行,可用于香菊颗粒中黄芪甲苷的含量测定。香菊颗粒与原方干膏粉在水中释放成分的特征图谱接近,且主要有效成分黄芪甲苷释放度基本一致,表明将原方制成香菊颗粒后,制剂中所含成分能够与原方保持一致;香菊胶囊和香菊片与原方干膏粉在水中释放成分的特征图谱相似度也较高,但主要有效成分黄芪甲苷在水中的释放度存在一定差异。上述结果提示,中药复方不同制剂之间存在一定差异,今后需要通过药效物质基础研究来佐证中药复方不同制剂的治疗效果。

参考文献

- [1] 朱艺欣,李宝莉,马宏胜,等.白芷的有效成分提取、药理作用及临床应用研究进展[J].中国医药导报,2014,11(31):159-162、166.
- [2] 周承.中药黄芪药理作用及临床应用研究[J].亚太传统医药,2014,10(22):100-101.
- [3] 李文娟,侯崧,郑恩志.中药黄芪药理及临床疗效评价研究[J].亚太传统医药,2015,11(8):109-110.
- [4] 林亮.化香树果序黄酮类化合物提取、分离及抑菌活性研究[D].西安:西北大学,2009.
- [5] 窦景云,于俊生.夏枯草药理作用及临床应用研究进展[J].现代医药卫生,2013,29(7):1039-1041.
- [6] 刘双利,姜程曦,赵岩,等.防风化学成分及其药理作用研究进展[J].中草药,2017,48(10):2146-2152.
- [7] 王甜甜,曹赟,蒋运斌,等.中药辛夷研究进展[J].亚太传统医药,2017,13(18):74-78.
- [8] 梁新丽.白芷提取物对葛根、黄芩、川芎中活性成分生物药剂学性质:膜透过性的影响及机理研究[D].成都:成都中医药大学,2013.
- [9] 蒋源.香菊颗粒治疗急慢性鼻炎、鼻窦炎[J].山东大学耳鼻喉眼学报,1999,13(4):247.
- [10] 国家药典委员会.WS3-061(Z-061)-2002(Z)香菊颗粒[S]//国家食品药品监督管理局.国家药品标准:新药转正标准:第38册,2004.

复方龙胆碳酸氢钠片中非法成分土大黄苷定性筛查与定量测定方法的建立^Δ

陈学艳^{1,2*}, 张敏娟^{1,2#}, 魏文芝^{1,2} (1. 青海省药品检验检测院化学室, 西宁 810016; 2. 青海省中藏药现代化研究重点实验室, 西宁 810016)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)14-1919-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.14.10

摘要 目的:建立复方龙胆碳酸氢钠片组方药材大黄伪品中标志性成分土大黄苷的定性筛查与定量测定方法。方法:从药品流通领域抽样获取来自国内8家药品生产企业(编号:A~H)的45批复方龙胆碳酸氢钠片,采用薄层色谱法(TLC)初步定性鉴别样品中的土大黄苷;采用高效液相色谱法(HPLC)对土大黄苷进行含量测定;采用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)进一步对检出的土大黄苷成分进行结构确证。结果:TLC法检测结果显示,来自D企业的10批样品在紫外光灯(365 nm波长)可见土大黄苷的亮蓝色荧光斑点。HPLC法方法学考察结果显示,土大黄苷质量浓度在0.884~88.4 μg/mL范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$);进样量检出限、定量限分别为0.707 2、3.536 ng;精密性、重复性、稳定性试验RSD均小于1%;平均加样回收率为96.55% (RSD=0.53%, $n=6$)。D企业产10批样品中土大黄苷含量为0.732 4~2.890 8 mg/g。UPLC-MS/MS法检测结果显示,D企业产样品与土大黄苷对照品均有质荷比(m/z)419.0的准分子离子峰和 m/z 257.1、241.2的碎片离子峰。结论:建立的TLC法定性初筛、HPLC法定量测定与UPLC-MS/MS法结构确证相结合的检测方法操作简便、灵敏、可靠,可用于复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷的定性筛查和定量测定。45批次抽检样品中,有来自1个生产企业的10批样品中检出土大黄苷成分,提示该企业在生产复方龙胆碳酸氢钠片时存在以伪品大黄药材替代正品的现象。

关键词 复方龙胆碳酸氢钠片;大黄;土大黄苷;薄层色谱法;高效液相色谱法;超高效液相色谱-串联质谱法;定性筛查;定量测定

Method Establishment for Qualitative Screening and Quantitative Determination of Illegal Composition Rhaponticin in Compound Gentian and Sodium Bicarbonate Tablets

CHEN Xueyan^{1,2}, ZHANG Minjuan^{1,2}, WEI Wenzhi^{1,2} (1. Chemistry Room, Qinghai Provincial Drug Inspection and Testing Institute, Xining 810016, China; 2. Qinghai Key Lab of Chinese and Tibetan Medicine Modernization Study, Xining 810016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for qualitative screening and quantitative determination of indicative composition rhaponticin from counterfeit *Rheum palmatum* in Compound gentian and sodium bicarbonate tablets. METHODS: Totally 45 batches of Compound gentian and sodium bicarbonate tablets were collected from 8 domestic pharmaceutical manufacturers (No. A-H) in the field of drug distribution. TLC method was used to identify rhaponticin in the samples primarily. The content of rhaponticin was determined by HPLC, and then UPLC-MS/MS method was used to confirm the structure of

- [11] 韩继红,王麟,社会茹,等.当归补血不同制剂高效液相特征图谱比较[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(9):71-76.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:40、86、149、182、280、302、314.
- [13] 翟宏宇,王海洋,凌颖,等. HPLC法测定丹黄祛瘀胶囊中黄芪甲苷含量[J].中国卫生工程学,2018,17(1):99-101.
- [14] 朱日明,罗瑜. HPLC-ELSD法测定三草鼻咽清煎膏剂中黄芪甲苷的含量[J].中国现代药物应用,2018,12(7):215-216.
- [15] 刘晓瑜,华颖婷. HPLC-ELSD法测定复胃散胶囊中黄芪甲苷的含量[J].药学研究,2018,37(3):149-151、183.
- [16] 陈国广,陈振华,刘伯成,等.羟丙基-β-环糊精对黄芪甲苷包合作用的研究[J].时珍国医国药,2007,18(6):1457-1458.
- [17] 霍金海,任晓蕾,贺小雪,等.球磨粉碎对黄芪中有效成分溶出度的影响[J].中国粉体技术,2014,20(1):13-16.
- [18] 曹邦静,苏娟,叶霁,等.蒸发光散射检测器在中药分析中的应用[J].药学实践杂志,2015,33(1):13-16.

(收稿日期:2018-12-06 修回日期:2019-05-27)

(编辑:段思怡)

Δ 基金项目:青海省科技计划项目-药品检验检测平台项目(No. 2017-ZJ-Y40);国家药品抽检计划项目(No.食药监药化监[2017]131号)

* 主管药师,硕士。研究方向:药品质量分析、药品质量标准。电话:0971-8247794。E-mail:296261547@qq.com

通信作者:主任药师。研究方向:药品质量分析、药品质量标准。电话:0971-8247794。E-mail:1415328549@qq.com