

一测多评法测定芪白平肺颗粒中 8 种皂苷类成分

靳瑞婷^{1,2}, 杨素德^{2,3}, 付娟^{2,3}, 李雪峰^{2,3}, 陶永华^{2,3}, 万琴^{2,3}, 王振中^{1,2,3*}, 萧伟^{1,2,3}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222047

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222047

摘要: 目的 建立一测多评法(QAMS)测定芪白平肺颗粒中 8 种皂苷成分的分析方法。方法 以芪白平肺颗粒为研究对象, 以人参皂苷 Rb₁ 为内参物, 计算人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rf、人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rb₂、黄芪甲苷、人参皂苷 Rd 与内参物 Rb₁ 的相对校正因子(*f*), 通过 *f* 计算芪白平肺颗粒中 7 种成分, 并在 10 批芪白平肺颗粒中进行验证, 比较该方法与外标两点法测定结果的相似度。结果 人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd、黄芪甲苷分别在进样量为 0.416 0~4.992、0.315 4~3.785 2、0.259 6~3.115、0.385 2~4.622、0.222 8~2.674、0.193 2~2.318、0.183 5~2.202、0.574 6~6.895 μg 线性关系良好, *f* 值分别为 1.244、1.075、1.133、1.090、1.071、1.070、0.967, 且在不同条件下重复性良好。QAMS 法的计算结果与外标两点法的测定结果无显著性差异, 再验证结果也无显著性差异, 实验所得的 *f* 值可信。结论 建立的 QAMS 可以准确、快速地实现芪白平肺颗粒中多种皂苷类成分的定量测定。

关键词: HPLC-ELSD; 一测多评; 相对校正因子; 芪白平肺颗粒; 皂苷类成分; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Rf; 人参皂苷 Rc; 人参皂苷 Rb₂; 黄芪甲苷; 人参皂苷 Rd

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)24-3682-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.24.012

Determination of eight components in Qibai Pingfei Granule by quantitative analysis of multi-components with a single-marker

JIN Rui-ting^{1,2}, YANG Su-de^{2,3}, FU Juan^{2,3}, LI Xue-feng^{2,3}, TAO Yong-hua^{2,3}, WAN Qin^{2,3},
WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222047, China

3. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222047, China

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis of multi-components with a single-marker (QAMS) method for the determination of eight components in Qibai Pingfei Granule (QPG). **Methods** Ginsenoside Rb₁ was used as the internal reference substance. The relative correlation factors (*f*) of ginsenosides Rg, Re, Rf, Rc, Rb₂, Rc, and astragaloside were calculated and established. The results were compared with those obtained by the external standard method in 10 batches of QPG. The results showed that the *f* values of ginsenosides Rg, Rf, Rc, Rb₂, astragaloside, and ginsenosides Rc to ginsenoside Rb₁ were 1.244, 1.075, 1.133, 1.090, 1.071, 0.967 and 1.070. **Results** Ginsenosides Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd, and astragaloside had good relations within the ranges of 0.416 0—4.992, 0.315 4—3.785 2, 0.259 6—3.115, 0.385 2—4.622, 0.222 8—2.674, 0.193 2—2.318, 0.183 5—2.202, and 0.574 6—6.895 μg, respectively. The two methods did not show the significant difference in assay results. **Conclusion** So the QAMS method is feasible and credible, and could be used to determine the multiple components in QPG.

Key words: HPLC-ELSD; quantitative analysis of multi-components with a single-marker; relative correlation factors; Qibai Pingfei Granule; saponins; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rf; ginsenoside Rc; ginsenoside Rb₂; astragaloside; ginsenoside Rd

收稿日期: 2015-05-19

基金项目: 现代中药创新集群与数字制药技术平台(2013ZX09402203)

作者简介: 靳瑞婷(1989—), 女, 在读研究生, 研究方向为中药学。Tel: 15861230373 E-mail: jinruiting1407@126.com

*通信作者 王振中, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)811522367 E-mail: kanionlunwen@163.com

芪白平肺颗粒由人参、黄芪、川芎、葶苈子、五味子、地龙、薤白 7 味药材组成，为治疗慢性阻塞性肺疾病的临床经验方^[1]，具有益气温阳、化痰散瘀之功效，主治慢性阻塞性肺疾病（COPD）痰瘀阻肺证。黄芪、人参为该方君药，主要成分均为皂苷类成分，相关文献主要对人参中人参皂苷 Re、Rg₁、Rb₁^[2]和黄芪中黄芪甲苷分别进行定量研究，同时测定的方法报道较少，而一测多评（QAMS）相关方法的报道几乎没有。

目前 QAMS 法已成功应用于黄连、三七、大黄、人参等^[3-6]20 种常用中药材及中成药的质量评价研究，全面地反映其质量，同时解决了对照品紧缺、检验成本高等问题，为中药制剂质量评价提供了依据。本研究对 QAMS 技术应用于芪白平肺颗粒质量评价的可行性开展研究，结果该方法简便、快捷，减少了检测成本，为芪白平肺颗粒多成分指标质量评价提供参考。

1 仪器与材料

Ultimate 3000 高效液相色谱仪，SEDEX80 LT-ELSD 检测器；Agilent 1200 高效液相色谱仪，Alltech ELSD 2000ES 检测器；BP211D、XP6 电子分析天平（Mettler Toledo）。

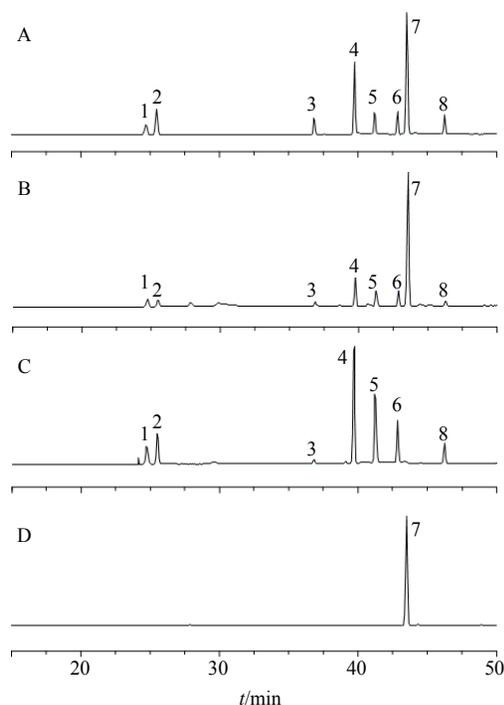
人参皂苷 Rg₁（Rg₁，批号 110703-201128，质量分数为 93.4%）、人参皂苷 Re（Re，批号 110754-201324，质量分数为 92.7%）、人参皂苷 Rb₁（Rb₁，批号 110704-201424，质量分数为 93.7%）、人参皂苷 Rb₂（Rb₂，批号 111715-201203，质量分数为 93.8%）、黄芪甲苷（批号 110781-201314，质量分数为 95.8%）、人参皂苷 Rd（Rd，批号 111818-201001，质量分数为 94.4%）均购自中国食品药品检定研究院；人参皂苷 Rc（Rc，批号 MUST-15011912，质量分数为 99.11%）、人参皂苷 Rf（Rf，批号 MUST-15020110，质量分数为 99.99%），购自中国科学院成都生物研究所。芪白平肺颗粒（批号 141101、141102、141103、141201、141202、141203、141204、150201、150202、150203）由江苏康缘药业股份有限公司提供，乙腈为色谱纯，美国天地公司；水为超纯水；其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为水-乙腈；梯度洗脱程序为 0~20 min，20% 水；20~28 min，20%~28% 水；28~50 min，28%~

37% 水；体积流量 1.5 mL/min，柱温 25 °C；蒸发光散射检测器条件：漂移管温度 40 °C，载气为 N₂，压力 350 kPa，进样量 10~20 μL。如图 1 所示在上述色谱条件下芪白平肺颗粒中各组分分离度良好。



1-Rg₁ 2-Re 3-Rf 4-Rb₁ 5-Rc 6-Rb₂ 7-黄芪甲苷 8-Rd
1-Rg₁ 2-Re 3-Rf 4-Rb₁ 5-Rc 6-Rb₂ 7-astragaloside 8-Rd

图 1 混合对照品 (A)、芪白平肺颗粒 (B)、缺黄芪阴性供试品 (C) 和缺人参阴性供试品 (D) 的 HPLC-ELSD 图谱
Fig. 1 HPLC-ELSD chromatograms of mixed reference substances (A), QPG (B), negative samples without *Astragalus Radix* (C), and *Ginseng Radix et Rhizoma* (D)

2.2 对照品溶液的制备

称取对照品 Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、黄芪甲苷、Rd 适量，精密称定，用甲醇溶解，得质量浓度分别为 208.0、157.7、129.8、192.6、111.4、96.60、287.3、91.76 μg/mL 的混合对照品溶液，于冰箱中保存，备用。

2.3 供试品溶液的制备

取本品，研细，取 5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 100 mL，密塞，称定质量，超声处理（40 kHz，250 W）45 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，离心，精密量取上清液 50 mL，蒸干，残渣加水 30 mL 使溶解，用水饱和的正丁醇萃取 4 次，每次 30 mL，合并正丁醇液，用氨试液洗涤 3 次，每次 30 mL，弃去氨试液，正丁醇液浓缩至干，残渣加甲醇溶解并定容

于 5 mL 量瓶中，摇匀，即得。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下的混合对照品溶液 2、4、8、12、16、20、24 μL 注入液相色谱仪。以进样质量 (m) 的对数值 ($\lg m$) 为横坐标，峰面积 (A) 的对数值 ($\lg A$) 为纵坐标，绘制标准曲线，得 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷和 R_d 回归方程以及线性范围。结果分别为 $R_{g_1} Y=1.778 2 X-0.374 6, r=0.999 8$ ，线性范围 $0.416 0\sim 4.992 \mu\text{g}$ ； $R_e Y=1.758 1 X+0.180 7, r=0.999 4$ ，线性范围 $0.315 4\sim 3.785 \mu\text{g}$ ； $R_f Y=1.606 8 X-0.065 5, r=0.999 5$ ，线性范围 $0.259 6\sim 3.115 \mu\text{g}$ ； $R_{b_1} Y=1.698 5 X+0.231 7, r=0.999 0$ ，线性范围 $0.385 2\sim 4.622 \mu\text{g}$ ； $R_c Y=1.709 4 X+0.113 5, r=0.999 5$ ，线性范围 $0.222 8\sim 2.674 \mu\text{g}$ ； $R_{b_2} Y=1.735 1 X+0.202 7, r=0.999 4$ ，线性范围 $0.193 2\sim 2.318 \mu\text{g}$ ；黄芪甲苷 $Y=1.706 2 X+0.213 7, r=0.999 7$ ，线性范围 $0.574 6\sim 6.895 \mu\text{g}$ ； $R_d Y=1.692 3 X+0.195 2, r=0.999 0$ ，线性范围 $0.183 5\sim 2.202 \mu\text{g}$ ；8 种皂苷对照品在测定值范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 15 μL ，重复进样 6 次，测定，计算 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷、 R_d 峰面积的 RSD 值分别为 1.1%、1.6%、1.5%、0.48%、1.9%、1.4%、1.3%、1.6%，结果表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取本品（批号 141001）按“2.3”项供试品制备方法平行制备 6 份供试品溶液，进样量为 15 μL ，测定，样品中 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷、 R_d 质量分数分别为 0.434、0.166、0.140、0.273、0.248、0.189、0.681、0.111 mg/g，RSD 分别为 1.4%、1.2%、1.1%、0.96%、1.5%、1.5%、1.7%、1.5%，结果表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

按“2.3”项方法平行制备供试品溶液，分别于第 0、1、2、4、6、16 h 进样，每次进样 15 μL ，测定峰面积， R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷、 R_d 峰面积的 RSD 分别为 1.8%、1.0%、1.2%、1.0%、1.5%、1.1%、0.51%、1.7%，结果表明供试品溶液在 16 h 内基本稳定。

2.8 加样回收率试验

取已测定的样品，精密称定，置具塞锥形瓶中，

精密加 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷、 R_d 对照品溶液适量，采用“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，测定。计算回收率，结果 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷、 R_d 的平均回收率分别为 101.9%、101.6%、100.9%、96.32%、101.8%、100.5%、97.65%、98.30%，RSD 分别为 0.77%、1.0%、0.83%、0.26%、0.58%、0.39%、0.95%、0.88%。

2.9 相对校正因子 (f) 的确定

根据公式 $f_{s/k} = [\lg(M_k \times 1\ 000) \times \lg(A_s \times 1\ 000)] / [\lg(M_s \times 1\ 000) \times \lg(A_k \times 1\ 000)]$ 计算 f 值，其中 A_s 为参照物峰面积， M_s 为参照物进样质量； A_k 为待测组分峰面积； M_k 为待测组分进样质量。将多个不同进样量所计算出 $f_{s/k}$ 的平均值作为最终校正因子 $f_{s/k}$ ，然后根据校正因子可以计算待测组分进样量，进而算出样品中待测组分的量。

取“2.2”项下混合对照品溶液，测定各成分的峰面积。根据计算公式，以 R_{b_1} 为内参物计算 R_{g_1} 、 R_e 、 R_f 、 R_{b_1} 、 R_c 、 R_{b_2} 、黄芪甲苷和 R_d 的 f 值及 RSD 值。结果见表 1。

2.10 各皂苷化合物 f 的耐用性和系统适用性评价

2.10.1 不同柱温对 f 的影响 考察了不同柱温 23、25、26、27 $^{\circ}\text{C}$ 的影响，结果各校正因子的 RSD 依次为 0.64%、0.51%、0.08%、0.76%、1.1%、1.1%、0.74%，表明微调柱温对各成分的 f 值无显著影响。

2.10.2 不同仪器对 f 的影响 考察了 Ultimate 3000、SEDEX80 LT-ELSD 检测器和 Aglient 1200、Altech ELSD2000 检测器对各 f 的影响，结果各校正因子的 RSD 依次为 0.68%、0.64%、0.06%、0.66%、0.78%、0.82%、0.63%，表明不同仪器对各成分的 f 值无显著影响。

表 1 各皂苷类成分的 f

Table 1 Relative correction factors of saponins

样品号	$f_{R_{g_1}/R_{b_1}}$	$f_{R_e/R_{b_1}}$	$f_{R_f/R_{b_1}}$	$f_{R_c/R_{b_1}}$	$f_{R_{b_2}/R_{b_1}}$	$f_{\text{黄芪甲苷}/R_{b_1}}$	$f_{R_d/R_{b_1}}$
1	1.245	1.068	1.140	1.089	1.079	0.958	1.080
2	1.239	1.081	1.141	1.083	1.069	0.976	1.075
3	1.256	1.074	1.135	1.085	1.072	0.977	1.079
4	1.204	1.072	1.128	1.079	1.070	0.984	1.066
5	1.254	1.076	1.129	1.089	1.075	0.978	1.051
6	1.257	1.078	1.126	1.080	1.068	0.956	1.072
7	1.253	1.076	1.130	1.075	1.067	0.939	1.067
平均值	1.244	1.075	1.133	1.083	1.071	0.967	1.070
RSD/%	1.5	0.4	0.5	0.5	0.4	1.7	0.9

2.10.3 不同色谱柱对 f 的影响 考察了 Agilent Extend C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 2 根色谱柱对各 f 的影响, 结果各校正因子的 RSD 依次为 0.68%、1.3%、0.12%、0.66%、0.79%、1.6%、0.63%, 表明不同色谱柱对各成分的 f 值无显著影响。

2.10.4 不同实验人员对 f 的影响 考察了 3 名实验人员对各 f 的影响, 结果各校正因子的 RSD 依次为 0.55%、0.52%、0.05%、0.93%、1.1%、0.67%、0.52%, 表明不同实验人员对各成分的 f 值无显著影响。

2.10.5 f 耐用性影响因素 综合所得各成分的分析结果表明, Rg₁、Re、Rf、Rc、Rb₂、黄芪甲苷和 Rf 的 f 重现性良好, RSD 分别为 0.53%、0.73%、

0.11%、0.70%、1.1%、0.93%、0.58%。

2.11 待测组分色谱峰的定位

本实验采取 8 种皂苷类成分相对保留值进行待测组分色谱峰的定位, Rg₁、Re、Rf、Rc、Rb₂、黄芪甲苷和 Rd 的相对保留时间分别为 0.623、0.642、0.927、1.037、1.078、1.095、1.164, RSD 为 0.08%、0.05%、0.03%、0.01%、0.01%、0.03%、0.02%。

2.12 QAMS 法与外标法测定结果的比较

取芪白平肺颗粒 10 批, 首先按照上述所建立的 QAMS 法进行待测皂苷类化合物色谱峰的定位, 并对其量进行实际测算, 得到保留时间及质量分数的计算值; 再以多成分同步测定法进行反证, 结果见表 2、3。2 种测量方法测得的皂苷类的量无显著性

表 2 外标法与 QAMS 法测得的芪白平肺颗粒中皂苷类成分质量分数比较 (n = 3)

Table 2 Contents of saponins in QPG by external standard method and QAMS (n = 3)

批号	Rb ₁ (mg·g ⁻¹)	R ₁ (mg·g ⁻¹)			Re(mg·g ⁻¹)			Rf(mg·g ⁻¹)			Rc(mg·g ⁻¹)			Rb ₂ (mg·g ⁻¹)			黄芪甲苷(mg·g ⁻¹)			Rd(mg·g ⁻¹)		
		外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%	外标法	QAMS 法	R/%
141101	0.271	0.466	0.466	0.03	0.171	0.172	0.43	0.151	0.151	0.19	0.252	0.251	-0.22	0.192	0.192	-0.06	0.661	0.661	0.01	0.108	0.108	0.07
141102	0.275	0.458	0.458	-0.08	0.173	0.172	-0.15	0.149	0.149	-0.16	0.250	0.249	-0.38	0.186	0.187	0.33	0.674	0.673	-0.05	0.113	0.113	0.02
141103	0.271	0.494	0.494	-0.11	0.186	0.186	-0.15	0.149	0.148	-0.68	0.250	0.250	-0.02	0.182	0.182	-0.12	0.673	0.672	-0.12	0.111	0.111	0.03
141201	0.263	0.324	0.324	-0.04	0.116	0.117	0.49	0.131	0.131	0.35	0.224	0.223	-0.55	0.194	0.193	-0.08	0.694	0.692	-0.21	0.107	0.107	-0.12
141202	0.266	0.333	0.332	-0.31	0.110	0.118	-0.09	0.131	0.131	-0.21	0.245	0.244	-0.21	0.194	0.194	-0.07	0.697	0.696	-0.12	0.112	0.111	-0.70
141203	0.296	0.526	0.525	-0.16	0.230	0.231	0.43	0.133	0.133	0.00	0.268	0.267	-0.26	0.201	0.201	-0.06	0.690	0.690	0.05	0.118	0.118	0.08
141204	0.294	0.582	0.582	-0.03	0.238	0.238	0.07	0.155	0.155	0.24	0.270	0.269	-0.26	0.201	0.201	-0.02	0.710	0.703	-1.03	0.117	0.116	-0.45
150201	0.286	0.618	0.618	-0.02	0.248	0.248	-0.24	0.144	0.144	-0.08	0.260	0.260	-0.08	0.199	0.199	-0.07	0.688	0.687	-0.08	0.113	0.113	-0.15
150202	0.300	0.667	0.667	-0.04	0.261	0.261	-0.11	0.145	0.146	0.65	0.268	0.268	-0.05	0.193	0.193	0.01	0.712	0.710	-0.25	0.119	0.119	0.34
150203	0.286	0.660	0.660	-0.02	0.261	0.261	-0.09	0.141	0.140	-0.47	0.261	0.261	0.07	0.187	0.187	-0.01	0.684	0.685	0.09	0.114	0.114	-0.11

表 3 芪白平肺颗粒待测成分色谱峰定位

Table 3 Identification of the saponins peaks in QPG

批号	Rb ₁ 外标法/min	Rg ₁			Re			Rf			Rc			Rb ₂			黄芪甲苷			Rd		
		外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%	外标法	QAMS	R/%
141101	39.76	24.76	24.77	0.06	25.52	25.53	0.03	36.84	36.86	0.06	41.26	41.23	-0.08	42.89	42.86	-0.06	43.58	43.54	-0.09	46.31	46.28	-0.05
141102	39.71	24.72	24.74	0.07	25.50	25.50	-0.03	36.81	36.81	0.00	41.20	41.18	-0.05	42.84	42.81	-0.06	43.51	43.48	-0.06	46.24	46.22	-0.02
141103	39.72	24.72	24.75	0.13	25.48	25.50	0.10	36.81	36.82	0.04	41.22	41.19	-0.06	42.85	42.82	-0.06	43.51	43.50	-0.04	46.24	46.24	-0.01
141201	39.71	24.72	24.74	0.09	25.48	25.49	0.05	36.81	36.81	-0.01	41.21	41.17	-0.08	42.85	42.81	-0.09	43.53	43.48	-0.11	46.25	46.22	-0.06
141202	39.72	24.71	24.74	0.13	25.49	25.50	0.04	36.82	36.82	-0.02	41.21	41.18	-0.08	42.82	42.81	-0.02	43.52	43.49	-0.07	46.25	46.23	-0.05
141203	39.71	24.71	24.74	0.11	25.48	25.49	0.04	36.80	36.81	0.03	41.20	41.18	-0.05	42.83	42.81	-0.04	43.52	43.48	-0.09	46.23	46.22	-0.02
141204	39.72	24.70	24.74	0.18	25.47	25.50	0.09	36.80	36.82	0.03	41.21	41.18	-0.06	42.83	42.81	-0.03	43.50	43.49	-0.03	46.25	46.23	-0.04
150201	39.71	24.72	24.74	0.09	25.48	25.49	0.07	36.81	36.81	0.01	41.20	41.17	-0.05	42.83	42.81	-0.06	43.51	43.48	-0.06	46.23	46.22	-0.02
150202	39.71	24.69	24.74	0.19	25.46	25.49	0.14	36.83	36.81	-0.05	41.20	41.17	-0.06	42.82	42.80	-0.04	43.51	43.48	-0.06	46.23	46.22	-0.03
150203	39.71	24.71	24.74	0.11	25.47	25.49	0.08	36.80	36.81	0.03	41.21	41.17	-0.08	42.83	42.81	-0.05	43.51	43.48	-0.07	46.23	46.22	-0.03

差异, 相对误差 $[R, R=(X_i-\mu)/\mu, X_i$ 为 QAMS 法计算值, μ 为外标法实测值] 均在 0.5%~ -0.5%, 表明建立的方法有较好的可信度。

3 讨论

本实验基于中药配伍君臣佐使的基本原则, 对君药人参和黄芪中 8 种质量分数较高的皂苷类成分进行研究, 建立了 QAMS 法, 同时考察了温度、仪器、色谱柱、实验人员对此方法的耐用性。结果表明, 实验建立的 f 重现性良好, QAMS 法测得的量与外标法所得的量没有显著性差。

QAMS 中 f 的计算, 文献报道中紫外检测器多采用浓度和峰面积进行计算^[7-8], 而 HPLC-ELSD 有报道选择峰面积和进样量的对数进行计算^[9], 本研究对 2 种方法进行了比较, 选用峰面积和进样量的对数进行计算的时候 RSD 明显小于利用质量浓度和峰面积的 RSD, 且均小于 2%, 表明该计算方法可行。此外, 在计算 f 的时候, 将进样量及峰面积均乘以 1 000, 再取对数, 有效地避免了因进样量及峰面积 (有的大于 1 个单位, 有的小于 1 个单位), 其对数值有正有负, 无法计算 f 的问题。

待测成分色谱峰的准确定位是 QAMS 法成功应用的关键, 一般可采用相对保留时间及其保留时间差来定位待测成分色谱峰。本实验在预试验中考察了相对保留时间和保留时间差在不同的仪器上的重现性, 结果保留时间差的波动比较大, 相对保留时间的波动性较小, 因此本实验选取相对保留时间作为待测成分色谱峰的定位。

本研究首次将 QAMS 法用于芪白平肺颗粒中多指标质量评价, 通过大量实验数据建立了内参物人参皂苷 Rb_1 与其他 7 中皂苷类成分的 f 。所得的 f 中 $f_{Rc/Rb_1}=1.075$ 、 $f_{Rc/Rb_1}=1.090$ 、 $f_{Rb_2/Rb_1}=1.071$ 、

$f_{\text{黄芪甲苷}/Rb_1}=0.967$ 、 $f_{Rd/Rb_1}=1.070$, f 均值接近 1, 且 QAMS 法与外标法测定的量结果差异较小, 准确度较高; 而 $f_{Rg_1/Rb_1}=1.244$ 、 $f_{Re/Rb_1}=1.133$ 偏离 1 较大, 可能原因是其量较少, 峰面积较小, 对照品的质量分数不高, 以后需做进一步的研究验证。

本研究将芪白平肺颗粒中大多数的皂苷类成分进行了检测, 8 种皂苷类成分总量约为 2 mg/g, 且峰面积占总峰的 89%, 可为芪白平肺颗粒定量指纹图谱应用提供方向, 为进一步研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 童佳兵, 王传博, 彭波, 等. 芪白平肺胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证疗效分析 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(1): 44-45.
- [2] 李翼, 项峥, 窦德强. 一测多评法测定几种人参产品中人参皂苷的含量 [J]. 人参研究, 2012(4): 2-7.
- [3] 何兵, 刘艳, 杨世艳, 等. HPLC 一测多评法同时测定双青咽喉片中 10 种成分 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 974-981.
- [4] 朱晶晶, 王智民, 匡艳辉, 等. 一测多评法同步测定人参和三七药材中多种人参皂苷的含量 [J]. 药学报, 2008, 43(12): 1211-1216.
- [5] 陆兔林, 石上梅, 蔡宝昌, 等. 基于一测多评的中药多成分定量研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2525-2529.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [7] 张亚非, 王雪, 毕宇安, 等. 一测多评法测定热毒宁注射液中 9 种成分 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3162-3169.
- [8] 吴珊珊, 胡昌江, 吕非非, 等. 一测多评法测定黄柏中 5 种生物碱 [J]. 中成药, 2014, 36(1): 130-132.
- [9] 蔡雪萍, 李振华, 华俊磊, 等. 一测多评法测定枇杷叶有效部位中 6 种三萜酸成分的量 [J]. 中草药, 2013, 44(21): 3057-3062.