

HPLC-DAD 法同时测定益肺清化颗粒的 10 种成分

钱钧强¹, 朱宏明², 房志仲³, 潘占宇^{1*}

1. 天津医科大学肿瘤医院 药学部 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060
2. 天津医科大学中新生态城医院, 天津 300467
3. 天津医科大学药学院, 天津 300070

摘要: 目的 建立 HPLC-DAD 法同时测定益肺清化颗粒中苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的方法。方法 采用反相液相色谱法, 色谱柱为 Waters Symmetry-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm); 流动相为 KH₂PO₄ 缓冲溶液 (KH₂PO₄ 1.0 g, 加水 1 000 mL 使溶解, 磷酸调节 pH 值至 3.5) - (乙腈-甲醇 1:1), 梯度洗脱, 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 40 ℃。结果 苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮 10 种成分能够达到良好分离; 其线性范围分别为 0.2~2.0 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、0.4~4.0 μg/mL ($r=0.999\ 4$)、0.3~3.0 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、0.1~1.0 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、0.5~5.0 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、0.15~1.50 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、0.25~2.50 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、0.6~6.0 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、0.45~4.50 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、0.12~1.20 μg/mL ($r=0.999\ 4$), 平均加样回收率分别为 98.7%、98.0%、99.6%、98.0%、99.1%、99.4%、98.8%、101.1%、100.6%、101.7%, RSD 分别为 0.7%、1.3%、1.4%、1.4%、1.1%、0.8%、0.9%、0.5%、0.5%、0.8%。10 批次供试品中苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮质量浓度分别为 0.104~0.123、0.600~0.621、0.501~0.523、0.100~0.121、0.103~0.122、0.231~0.260、0.043~0.065、0.055~0.069、0.061~0.079、0.031~0.043 mg/g。结论 本方法操作简便, 结果准确可靠, 可用于益肺清化颗粒的质量控制。

关键词: 益肺清化颗粒; HPLC-DAD; 质量控制; 苦杏仁苷; 齐墩果酸; 熊果酸; 仙鹤草酚 B; 甘草苷; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 鲁斯可皂苷元; 没食子酸; 补骨脂素; 紫菀酮

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4561-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.014

Simultaneous determination of ten constituents in Yifei Qinghua Granules by HPLC-DAD

QIAN Jun-qiang¹, ZHU Hong-ming², FANG Zhi-zhong³, PAN Zhan-yu¹

1. Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Clinical Research Center for Cancer, National Clinical Research Center for Cancer, Department of Pharmacy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China
2. Tianjin Medical University Zhongxin Eco-city Hospital, Tianjin 300467, China
3. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To establish an HPLC-DAD method for the simultaneous determination of amygdalin, oleanolic acid, ursolic acid, agrimol B, liquiritin, calycosin-7-glucoside, ruscogenin, gallic acid, psoralen, and shionone in Yifei Qinghua Granules (YQG). **Methods** The chromatographic separation was achieved on an Waters Symmetry-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm) column with mobile phase consisted of (1.0 g potassium phosphate monobasic in 1 000 mL water, the pH value was adjusted to 3.5 with phosphate)-(acetonitrile-methanol 1:1) for gradient elution, at the flow rate of 0.8 mL/min; The column temperature was 40 ℃. **Results** The linear ranges of amygdalin, oleanolic acid, ursolic acid, agrimol B, liquiritin, calycosin-7-glucoside, ruscogenin, gallic acid, psoralen,

收稿日期: 2018-05-11

作者简介: 钱钧强, 男, 研究方向为医院药学。Tel: (022)23340123 E-mail: lvn1314@126.com

*通信作者 潘占宇, 男, 主任医师, 研究方向为中西医结合临床治疗。Tel: (022)23340123

and shionone were 0.2—2.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), 0.4—4.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), 0.3—3.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 0.1—1.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), 0.5—5.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 1$), 0.15—1.50 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 2$), 0.25—2.50 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), 0.6—6.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 1$), 0.45—4.50 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), and 0.12—1.20 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), respectively. These ten components were well resolved. Their average recoveries ($n = 6$) respectively were 98.7% (RSD = 0.7%), 98.0% (RSD = 1.3%), 99.6% (RSD = 1.4%), 98.0% (RSD = 1.4%), 99.1% (RSD = 1.1%), 99.4% (RSD = 0.8%), 98.8% (RSD = 0.9%), 101.1% (RSD = 0.5%), 100.6% (RSD = 0.5%), and 101.7% (RSD = 0.8%). The content of ten batches of the amygdalin, oleanolic acid, ursolic acid, agrimol B, liquiritin, calycosin-7-glucoside, ruscogenin, gallic acid, psoralen, and shionone was 0.104—0.123, 0.600—0.621, 0.501—0.523, 0.100—0.121, 0.103—0.122, 0.231—0.260, 0.043—0.065, 0.055—0.069, 0.061—0.079, 0.031—0.043 mg/g, respectively. **Conclusion** The method is accurate, sensitive, credible, and repeatable, which can be applied to the quality control of YQG.

Key words: Yifei Qinghua Granules; HPLC-DAD; quality control; amygdalin; oleanolic acid; ursolic acid; agrimol B; liquiritin; calycosin-7-glucoside; ruscogenin; gallic acid; psoralen; shionone

益肺清化颗粒 (Yifei Qinghua Granula, YQG) 原名为肺瘤平膏, 由黄芪、党参、北沙参、麦冬、仙鹤草、拳参、败酱草、白花蛇舌草、川贝母、紫菀、桔梗、苦杏仁、甘草组成, 具益气养阴、清热解毒、化痰止咳的作用, 适用于气阴两虚、阴虚内热型晚期肺癌 (症见气短、乏力、咳嗽、咯血、胸痛等) 的辅助治疗^[1-2], 临床上主要治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)^[3-7]。YQG 以“益气养阴、清热解毒、活血化瘀”为组方原则, 黄芪、沙参、麦冬益气养阴; 党参健脾益肺; 白花蛇舌草、拳参、败酱草清热解毒抗癌; 甘草为使药, 调和诸药^[2]。由于 YQG 由十几味中药组成, 单指标的含量控制难以客观反映其药品质量, 多指标的定量测定更适合中成药的质量评价^[8-9], 基于药理活性确定了 10 种指标成分作为研究对象, 苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮具有抗肿瘤活性或抗炎活性^[10-14]。本实验采用梯度洗脱法与分段变波长检测法, 首次建立了 YQG 中苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮 10 种指标成分同时测定的高效液相色谱的方法; 结果表明, 该方法准确、高效, 为 YQG 的质量控制研究提供参考。

1 仪器与试药

Waters 2695 高效液相色谱仪, 包括 996 PDA 检测器, 美国沃特世公司; CPA225D 型电子天平, 德国赛多利斯公司; KH3000 超声仪, 昆山禾创超声仪器有限公司。

对照品苦杏仁苷 (批号 110820-201506, 质量分数 93.4%)、齐墩果酸 (批号 110709-201206, 质量分数 94.9%)、熊果酸 (批号 110742-201421, 质

量分数 93.8%)、甘草苷 (批号 111610-201607, 质量分数 93.1%)、鲁斯可皂苷元 (批号 111909-201204, 质量分数 98.4%)、没食子酸 (批号 110831-201605, 质量分数 90.8%)、补骨脂素 (批号 110739-201416, 质量分数 99.9%)、紫菀酮 (批号 111581-201605, 质量分数 99.8%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 111920-201505, 质量分数 97.1%), 中国食品药品检定研究院; 对照品仙鹤草酚 B (批号 170203, 质量分数 96.7%), 上海纯优生物科技有限公司; 乙腈、甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 天津康科德科技发展有限公司。黄芪 *Astragali Radix*、党参 *Codonopsis Radix*、北沙参 *Glehniae Radix*、麦冬 *Ophiopogonis Radix*、仙鹤草 *Agrimoniae Herba*、拳参 *Bistortae Rhizoma*、败酱草 *Thlaspi Herba*、白花蛇舌草 *Hedyotis Diffusae Herba*、川贝母 *Fritillariae Cirrhosae Bulbus*、紫菀 *Asteris Radix et Rhizoma*、桔梗 *Platycodonis Radix*、苦杏仁 *Armeniacae Semen Amarum*、甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* 经天津医科大学王金生副教授鉴定均为正品, 其基原植物黄芪为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 党参为桔梗科党参属植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根, 北沙参为伞形科植物珊瑚菜属植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq. 的干燥根, 麦冬为百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f) Ker-Gawl 的干燥块根, 仙鹤草为蔷薇科龙芽草属植物龙芽草 *Agrimonia pilosa* Ldb. 的干燥地上部分, 拳参为蓼科蓼属植物拳参 *Polygonum bistorta* L. 的干燥根茎, 败酱草为十字花科蔊菜属植物蔊菜 *Thlaspi arvense* Linn. 的地上部分, 白花蛇舌草为茜草科耳草属植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd 的干燥全草, 川贝母为百

合科贝母属植物川贝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don 的干燥鳞茎, 紫菀为菊科紫菀属植物紫菀 *Aster tataricus* L. f. 的干燥根和根茎, 桔梗为桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. 的干燥根, 苦杏仁为蔷薇科杏属植物杏 *Prunus armeniaca* L. 的干燥成熟种子, 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。10批 YQG, 批号 170509、170510、170511、170822、170823、170824、171111、171112、171227、171228, 北京华神制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验

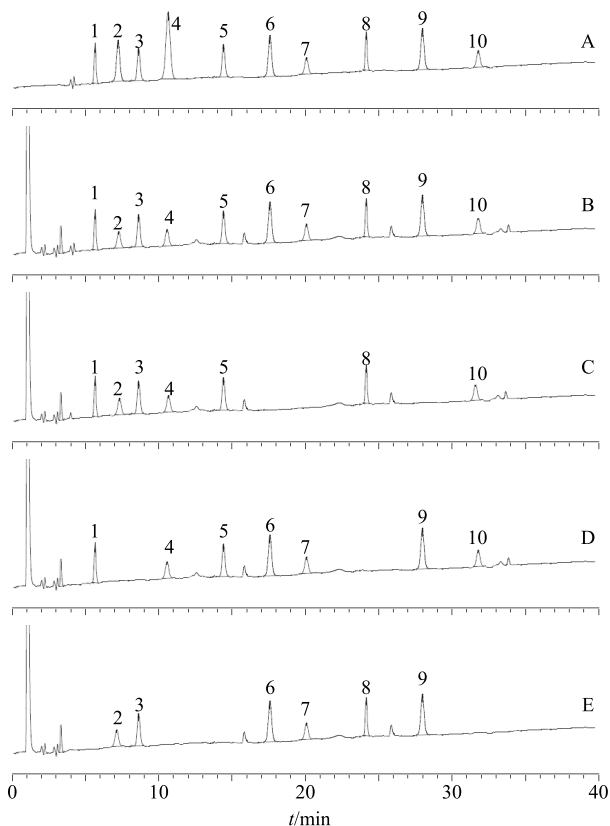
色谱柱 Waters Symmetry-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 40 ℃; 流动相 A 为乙腈-甲醇(1:1), 流动相 B 为 KH₂PO₄ 缓冲溶液 (KH₂PO₄ 1.0 g, 加水 1 000 mL 使溶解, 磷酸调节 pH 值至 3.5), 体积流量 0.8 mL/min; 梯度洗脱: 0~3 min, 5% A; 3~7 min, 5%~25% A; 7~33 min, 25%~65% A; 33~34 min, 65%~5% A; 34~40 min, 5% A; 体积流量为 0.8 mL/min; 分段变波长测定: 0~12.0 min 为 210 nm, 12.0~15.0 min 为 237 nm, 15.0~18.0 min 为 260 nm, 18.0~21.0 min 为 280 nm, 25.0~30.0 min 为 272 nm, 25.0~30.0 min 为 295 nm, 30.0~33.0 min 为 200 nm, 33.0~40.0 min 为 210 nm。进样量为 10 μL。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液制备

精密称取苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮适量, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇-乙腈-水 (1:1:2) 溶解并稀释至刻度, 得各对照品储备液, 备用。再精密吸取各对照品储备液适量置 10 mL 量瓶中, 甲醇-乙腈-水 (1:1:2) 稀释至刻度, 得含苦杏仁苷 20 μg/mL、齐墩果酸 40 μg/mL、熊果酸 30 μg/mL、仙鹤草酚 B 10 μg/mL、甘草苷 50 μg/mL、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 15 μg/mL、鲁斯可皂苷元 25 μg/mL、没食子酸 60 μg/mL、补骨脂素 45 μg/mL 和紫菀酮 12 μg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液制备

取装量差异项下的本品内容物, 混匀, 取适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 25 kHz) 30 min, 放冷, 再称定



1-苦杏仁苷 2-齐墩果酸 3-熊果酸 4-仙鹤草酚 B 5-甘草苷
6-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 7-鲁斯可皂苷元 8-没食子酸 9-补骨脂素 10-紫菀酮
1-amygdalin 2-oleanolic acid 3-ursolic acid 4-agrimol B
5-liquiritin 6-calycosin-7-glucoside 7-ruscogenin 8-gallic acid
9-psoralen 10-shionone

图 1 混合对照品 (A), 样品 (B), 缺黄芪、沙参、麦冬的阴性样品 (C), 缺党参、白花蛇舌草、拳参、败酱草的阴性样品 (D), 缺仙鹤草、苦杏仁、紫菀、甘草的阴性样品 (E) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), samples (B), blank sample without *Astragali Radix*, *Glehniae Radix*, *Ophiopogonis Radix* (C), blank sample without *Codonopsis Radix*, *Hedyotis diffusa Herba*, *Bistortae Rhizoma*, *Thlaspi Herba* (D), and blank sample without *Agrimoniae Herba*, *Armeniaca Semen Amarum*, *Asteris Radix et Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* (E)

质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照样品溶液制备

按 YQG 处方比例和工艺, 分别制备缺少黄芪、沙参、麦冬药材的阴性对照样品; 缺少党参、白花蛇舌草、拳参、败酱草药材的阴性对照样品; 缺少仙鹤草、苦杏仁、紫菀、甘草药材的阴性对照样品; 并按“2.3”项下方法制备各阴性对照样品溶液。

2.5 专属性试验

移取“2.2~2.4”项下的各溶液适量,依法进样测定,供试品溶液中测定成分毛苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮分离度良好,均符合《中国药典》2015 年版四部的要求,各阴性样品溶液在所测成分相应的位置处未见色谱峰,说明阴性样品溶液对测定没有干扰。

2.6 线性关系考察

精密吸取按“2.2”项下方法制备的混合对照品储备液 0.5、0.8、1.2、1.6、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 50 mL 量瓶中,以甲醇-乙腈-水(1:1:2)定容,摇匀,即得系列质量浓度的混合对照品溶液。分别吸取上述系列混合对照品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积积分值(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程见表 1。

表 1 10 种成分的线性回归方程

Table 1 Linear regression equations of 10 components

成分	回归方程	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	r
苦杏仁苷	$Y=11.34 X+2.54$	0.20~2.00	0.999 5
齐墩果酸	$Y=145.64 X+11.58$	0.40~4.00	0.999 4
熊果酸	$Y=7.82 X+22.83$	0.30~3.00	0.999 6
仙鹤草酚 B	$Y=451.50 X+83.37$	0.10~1.00	0.999 3
甘草苷	$Y=77.88 X-3.85$	0.50~5.00	0.999 1
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=119.53 X-72.28$	0.15~1.50	0.999 2
鲁斯可皂苷元	$Y=34.26 X+8.56$	0.25~2.50	0.999 5
没食子酸	$Y=672.52 X+111.61$	0.60~6.00	0.999 1
补骨脂素	$Y=234.61 X+104.63$	0.45~4.50	0.999 3
紫菀酮	$Y=1.62 X-4.37$	0.12~1.20	0.999 4

2.7 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 10 μ L,重复进样 6 次,记录峰面积。结果显示,苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的峰面积的 RSD 值分别为 0.9%、0.8%、1.4%、1.2%、0.9%、1.0%、0.6%、0.7%、1.5%、0.4%,表明精密度良好。

2.8 重复性试验

取同一批 YQG(批号 171228)6 份,按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,结果显示,苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的平均质量分数分别为 0.112、0.612、0.524、0.114、0.119、0.258、0.061、0.071、0.067、0.042 mg/g,平均质量分数的 RSD 分别为 1.1%、1.2%、0.9%、0.8%、1.1%、0.5%、0.7%、0.6%、1.6%、0.4%,表明方法的重复性良好。

2.9 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液(批号 171228)各 10

μ L,按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12、18、24 h 进样测定,结果显示苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的平均质量分数分别为 0.110、0.610、0.521、0.111、0.115、0.253、0.058、0.066、0.059、0.041 mg/g,平均质量分数的 RSD 分别为 1.3%、1.6%、1.8%、1.1%、1.1%、1.9%、1.0%、1.2%、1.8%、1.6%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.10 加样回收率试验

取同一批号样品(批号为 171228)9 份,每份约 0.5 g,精密称定,分成 3 组,分别按已知质量分数的 50%、100%、150% 3 个水平加入混合对照品溶液,按“2.3”项下方法制备,依法测定,计算回收率。苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的平均回收率分别为 98.7%、98.0%、99.6%、98.0%、99.1%、99.4%、98.8%、101.1%、100.6%、101.7%,回收率的 RSD 分别为 0.7%、1.3%、1.4%、1.4%、1.1%、0.8%、0.9%、0.5%、0.5%、0.8%。

2.11 样品测定

取收集到的 10 批样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,依法测定,用外标法计算样品中苦

杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮的量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Table 2 Determination results of samples

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	鲁斯可皂苷元	苦杏仁苷	齐墩果酸	熊果酸	仙鹤草酚 B	甘草苷	没食子酸	补骨脂素	紫菀酮
170509	0.244	0.051	0.122	0.603	0.512	0.100	0.103	0.056	0.071	0.033
170510	0.233	0.043	0.112	0.611	0.518	0.101	0.109	0.068	0.075	0.035
170511	0.231	0.050	0.114	0.612	0.506	0.115	0.107	0.055	0.072	0.041
170822	0.245	0.051	0.104	0.601	0.508	0.113	0.114	0.068	0.079	0.039
170823	0.249	0.057	0.106	0.617	0.519	0.111	0.114	0.065	0.077	0.043
170824	0.241	0.047	0.118	0.612	0.523	0.118	0.118	0.061	0.079	0.036
171111	0.256	0.061	0.121	0.621	0.517	0.121	0.122	0.064	0.067	0.037
171112	0.240	0.065	0.123	0.620	0.501	0.114	0.110	0.062	0.061	0.031
171227	0.259	0.059	0.121	0.617	0.510	0.110	0.117	0.067	0.063	0.042
171228	0.260	0.058	0.119	0.600	0.514	0.118	0.116	0.069	0.065	0.038

10 批次供试品中苦杏仁苷、齐墩果酸、熊果酸、仙鹤草酚 B、甘草苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、没食子酸、补骨脂素和紫菀酮质量分数分别为 0.104~0.123、0.600~0.621、0.501~0.523、0.100~0.121、0.103~0.122、0.231~0.260、0.043~0.065、0.055~0.069、0.061~0.079、0.031~0.043 mg/g。其中熊果酸与齐墩果酸的量较高,紫菀酮的量最低。

3 讨论

本实验首次建立了 HPLC 法同时测定 YQG 中 10 种指标成分的方法,该方法高效、准确,为 YQG 的质量控制提供了研究基础。

中成药的药理作用机制是十分复杂的,本研究中 10 种指标成分的选择是基于《中国药典》2015 年版^[15]与相关文献方法^[10-14],首先是基于其药理活性,具有抗肿瘤的活性,其次基于中药材中的药典指标性成分,最终确定甘草中指标成分为甘草苷,麦冬中的指标成分为鲁斯可皂苷元,苦杏仁中的指标成分为苦杏仁苷,紫菀中的指标成分为紫菀酮,黄芪中的指标成分为毛蕊异黄酮葡萄糖苷,北沙参的指标成分为补骨脂素,仙鹤草的指标成分为仙鹤草酚 B,拳参的指标成分为没食子酸,败酱草与白花蛇舌草的指标成分为齐墩果酸与熊果酸,通过多种化学成分测定客观反应 YQG 的质量。

YQG 中的 10 种指标性成分的极性差异较大,

选择合适的流动相体系对于成分的测定至关重要。参考相关文献^[16-20]流动相重点考察了磷酸盐体系、乙酸体系、甲酸体系、乙酸胺体系,优选磷酸体系;在此基础上对有机相比比例、盐种类、盐浓度、不同 pH 值、梯度洗脱程序进行了优化,最终确定初始流动相为 KH₂PO₄ 缓冲溶液(KH₂PO₄ 1.0 g,加水 1 000 mL 使溶解,磷酸调节 pH 值至 3.5) - (乙腈-甲醇 1:1)。

不同的提取工艺得到的结果会有差异,本实验对供试品提取工艺进行了考察,分别对提取溶剂与提取时间进行了系统考察。考察了甲醇-乙醇、甲醇-乙醇-水、乙醇、乙醇-水、甲醇、甲醇-水等提取溶剂,最终优选甲醇-水为提取溶剂;考察了不同比例的甲醇-水,优选 1:1;考察了 10、15、20、25、30、35 min 的提取时间,优选 30 min。

参考文献

- [1] 朴炳奎. 益肺清化颗粒的开发和研究 [A] // 国际中西医结合肿瘤研究论坛论文专辑 [C]. 上海: 国际中西医结合肿瘤研究论坛, 2008.
- [2] 李斐斐. 益肺清化颗粒对 Lewis 肺癌小鼠血管生成因子 VEGF、Endostatin 影响的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [3] 范明文, 江瑜. 益肺清化颗粒治疗晚期肺癌 30 例 [J]. 光明中医, 2009, 24(9): 1691-1692.
- [4] 崔一鸣, 周斌, 李斐斐, 等. 益肺清化颗粒对人肺癌 PG 细胞增殖、迁移与侵袭能力的影响 [J]. 中华中医

- 药杂志, 2014, 29(11): 3592-3595.
- [5] 李斐斐, 崔一鸣, 陈露, 等. 益肺清化颗粒治疗非小细胞肺癌研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(7): 2067-2070.
- [6] 刘长春, 戚利坤. 益肺清化颗粒联合化疗用于中晚期非小细胞肺癌的临床观察 [J]. 中国药房, 2016, 27(32): 4536-4538.
- [7] 李斐斐, 崔一鸣, 陈璐, 等. 益肺清化颗粒对人脐静脉内皮细胞增殖的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(9): 2920-2923.
- [8] 钱钧强, 石芸, 傅琳, 等. HPLC-DAD 法同时测定参芪十一味颗粒的 11 种成分 [J]. 中草药, 2017, 48(7): 1344-1349.
- [9] 刘娟, 钟瑞娜, 刘肖, 等. 一测多评法在肝能滴丸质量控制中的应用研究 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1075-1080.
- [10] 常军, 肖依文, 吴文婷, 等. 苦杏仁苷抗肿瘤机理研究进展 [J]. 药物生物技术, 2014, 21(6): 597-599.
- [11] 曲正义, 刘宏群, 郑培和, 等. 齐墩果酸型皂苷药理活性研究 [J]. 中成药, 2012, 34(6): 1143-1147.
- [12] 宋伟红, 郝晓玲. 仙鹤草的药理活性和临床应用 [J]. 中国医学创新, 2011, 8(1): 185-186.
- [13] 张冬梅. 毛蕊异黄酮-7-*O*- β -D-葡萄糖苷对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bcl-2/Bax 表达的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1498-1502.
- [14] 高雅, 李骅, 王四旺, 等. 没食子酸药理作用及其药物代谢动力学研究进展 [J]. 中成药, 2014, 29(4): 435-438.
- [15] 中国药典 [S]. 二部. 2015.
- [16] 毛红梅, 平欲晖, 宗星星, 等. HPLC 同时测定败酱草中常春藤皂苷元、齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 89-92.
- [17] 周献词. 不同产地败酱草中齐墩果酸、熊果酸含量测定 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(12): 32-33.
- [18] 张才华, 郭兴杰, 李芳, 等. HPLC 法同时测定白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 358-360.
- [19] 贺成, 秦文杰, 唐晓晶, 等. 仙鹤草地上部分仙鹤草酚 B 的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 255-256.
- [20] 郑旭光, 陈钟, 项峰, 等. 河北道地药材北沙参 HPLC-PDA 指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1683-1688.