

## 高效液相一测多评法测定鼻炎片中羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷

李洪彬<sup>1</sup>, 徐信峰<sup>1</sup>, 王静<sup>2</sup>

1. 菏泽市中医医院, 山东 菏泽 274035

2. 菏泽市食品药品检验检测研究院, 山东 菏泽 274000

**摘要:** 目的 建立高效液相一测多评(HPLC-QAMS)法测定鼻炎片中羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷。方法 以乙腈-0.2%磷酸为流动相, 梯度洗脱, 体积流量1.0 mL/min; Agilent HC-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温30 ℃; 检测波长203 nm (测定羧基苍术苷和苍术苷)、275 nm (测定连翘酯苷B、连翘酯苷A和连翘苷)和254 nm (测定升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷)。进行专属性试验、线性关系考察、精密度试验、稳定性试验、重复性试验、加样回收率试验; 以连翘苷为内参物, 建立该成分与羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷间的相对校正因子, 并计算鼻炎片中9种成分的含量, 同时与外标法(ESM)的测定结果进行比较, 验证该方法的可行性。结果 建立了鼻炎片中9种成分的定量控制方法, 方法学验证结果符合要求。鼻炎片中各成分的计算值与实测值无显著性差异。结论 HPLC-QAMS法适用于鼻炎片的多指标成分质量评价模式, 可以为鼻炎片质量控制方法的建立提供参考。

**关键词:** 鼻炎片; 高效液相一测多评法; 相对校正因子; 羧基苍术苷; 苍术苷; 连翘酯苷B; 连翘酯苷A; 连翘苷; 升麻素苷; 升麻素; 5-O-甲基维斯阿米醇苷; 亥茅酚苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 08-1681-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.08.016

## Determination of carboxyatractyloside, atractyloside, forsythoside B, forsythoside A, forsythin, prim-O-glucosylcimifugin, cimifugin, 5-O-methylvisammioside and sec-O-glucosylhamaudol in Biyan Tablets by HPLC-QAMS

LI Hongbin<sup>1</sup>, XU Xinfeng<sup>1</sup>, WANG Jing<sup>2</sup>

1. Heze Hospital of Traditional Chinese Medicine, Heze 274035, China

2. Heze Institute for Food and Drug Control, Heze 274000, China

**Abstract: Objective** To develop a HPLC-QAMS method for simultaneous determination of carboxyatractyloside, atractyloside, forsythoside B, forsythoside A, forsythin, prim-O-glucosylcimifugin, cimifugin, 5-O-methylvisammioside and sec-O-glucosylhamaudol in Biyan Tablets. **Methods** The analysis was carried out on an analytical column Agilent HC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with gradient elution by acetonitrile and 0.2% phosphoric acid solution, at the detection wavelength of 203, 275 and 254 nm and a flow rate of 1.0 mL/min; the column temperature was 30 ℃. Using forsythin as an internal standard, the RCFs of carboxyatractyloside, atractyloside, forsythoside B, forsythoside A, prim-O-glucosylcimifugin, cimifugin, 5-O-methylvisammioside and sec-O-glucosylhamaudol were calculated. The RCFs value were used to calculate the contents of nine components in Biyan tablets, and compared with the results of the external standard method (ESM) to verify the feasibility of the method. Different chromatographic columns were used to determine the relative retention time, and the feasibility and accuracy of one test and multiple assessment method for the determination of nine components in Biyan tablets were evaluated. **Results** The method for quantitative control of nine components in Biyan Tablets was established, and the validation results met the requirements. There was no

收稿日期: 2021-06-01

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0938)

第一作者: 李洪彬,男,本科,副主任药师,主要从事药物质量控制、中药鉴定与炮制等研究工作。Tel:13805309239 E-mail:dvxp45889@163.com

significant difference between the calculated values and the measured values of nine active components in Biyan tablets. **Conclusion** The HPLC-QAMS is suitable for the multi-index component quality evaluation mode of Biyan tablets, which can provide reference for the establishment of quality control method of Biyan Tablets.

**Key words:** Biyan Tablets; HPLC-QAMS; RCF; carboxyatractyloside; atractyloside; forsythoside B; forsythoside A; forsythin; prim-*O*-glucosylcimifugin; cimifugin; 5-*O*-methylvisammioside; sec-*O*-glucosylhamaudol

鼻炎片由苍耳子、连翘、防风、辛夷、荆芥、麻黄、甘草等14味中药经提取、浓缩、制粒、压片、包衣、包装等工序加工而成,为独家生产品种,现代研究表明鼻炎片可用于变应性鼻炎<sup>[1-2]</sup>、慢性鼻窦炎<sup>[3-4]</sup>、过敏性鼻炎<sup>[5]</sup>和慢性肥厚性鼻炎<sup>[6]</sup>的治疗,可以显著降低患者的血清C-反应蛋白、白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)及IL-4水平,且疗效显著。《中国药典》2020年版一部<sup>[7]</sup>对鼻炎片辛夷中木兰脂素进行了定量检测,相关研究<sup>[8-9]</sup>仅对该制剂1~2种成分进行了定量分析,难以体现该制剂的整体特点,更不能全面反映鼻炎片的内在整体质量。中成药所含成分繁多复杂,且成分间相互作用,多指标的定量控制显现出其科学合理性,本研究以君药苍耳子特征成分羧基苍术苷和苍术苷,臣药防风代表性成分升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷,佐药连翘药效成分连翘酯苷B、连翘酯苷A和连翘苷为目标成分,选取质量稳定、含量较高、出峰位置较为居中的连翘苷为内参物,采用高效液相色谱一测多评(HPLC-QAMS)法同时测定鼻炎片上述9种成分含量,探讨QAMS法用于鼻炎片多指标成分含量测定的可行性。

## 1 材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1200型,美国Agilent公司;LC-20AT型,日本岛津公司);电子分析天平(OHAUS AX224ZH/E型,苏州赛恩斯仪器有限公司);超声波清洗器(JK-250DB型,合肥金尼机械制造有限公司);液相色谱柱(Agilent HC-C<sub>18</sub>柱、Kromasil C<sub>18</sub>、Capcell C<sub>18</sub>柱,规格均为250 mm×4.6 mm,5 μm)。

### 1.2 药物与主要试剂

对照品连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷和5-*O*-甲基维斯阿米醇苷(批号分别为111811-201603、111810-201707、110821-201816、111522-201913、111523-201811,质量分数分别为96.6%、97.2%、99.1%、94.6%、97.4%,中国食品药品检定研究院);对照品羧基苍术苷、苍术苷、升麻素和亥茅酚苷(批号分别为PRF8032444、PRF9122905、

PRF9122902、PRF9121702,质量分数分别为99.6%、99.9%、99.5%、99.1%,成都普瑞法科技开发有限公司);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;鼻炎片(批号分别为200110、200317、210105,国药集团中联药业有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 混合对照品溶液的配制

取羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷对照品适量,精密称定,用50%甲醇制得含羧基苍术苷0.992 mg/mL、苍术苷0.118 mg/mL、连翘酯苷B 0.254 mg/mL、连翘酯苷A 1.310 mg/mL、连翘苷0.492 mg/mL、升麻素苷0.748 mg/mL、升麻素0.216 mg/mL、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷0.334 mg/mL、亥茅酚苷0.178 mg/mL的混合贮备液。精密吸取上述贮备液2.5 mL,用50%甲醇定容至50 mL,制得混合对照品溶液(羧基苍术苷49.6 μg/mL、苍术苷5.9 μg/mL、连翘酯苷B 12.7 μg/mL、连翘酯苷A 65.5 μg/mL、连翘苷24.6 μg/mL、升麻素苷37.4 μg/mL、升麻素10.8 μg/mL、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷16.7 μg/mL、亥茅酚苷8.9 μg/mL)。

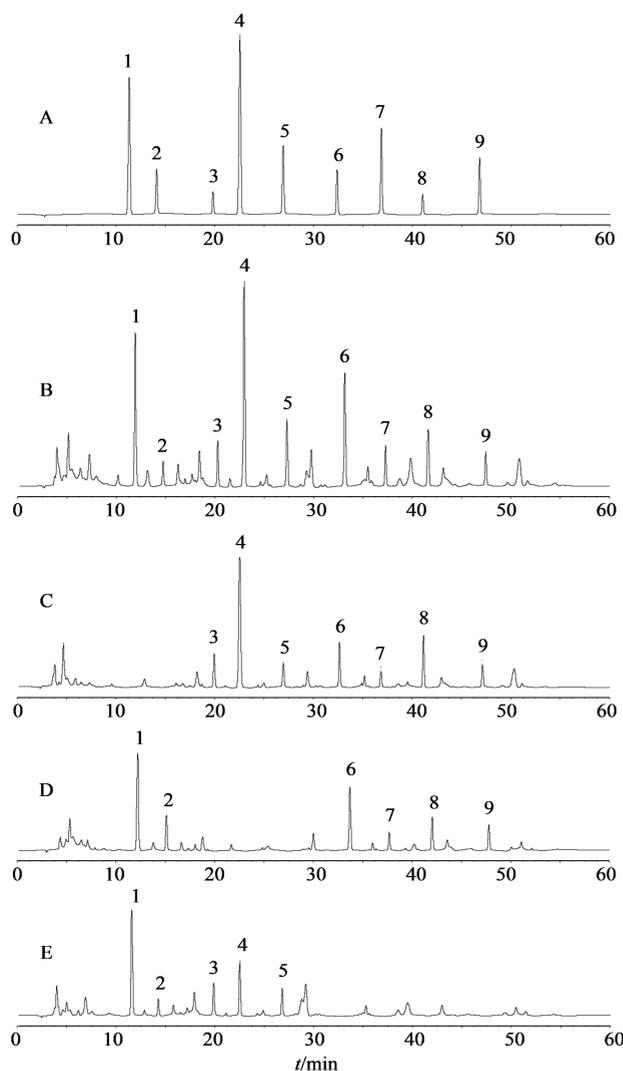
### 2.2 供试品溶液的配制

取鼻炎片适量,除去包衣,研细,精密称定1.0 g,置25 mL量瓶中,加50%甲醇20 mL,超声45 min,放冷,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,续滤液即为鼻炎片供试品溶液。取按鼻炎片处方和制法制备的缺苍耳子、缺连翘、缺防风的阴性供试品适量,同法制得各阴性供试品溶液。

### 2.3 色谱条件及专属性试验

乙腈-0.2%磷酸为流动相,梯度洗脱:0~10 min,15.0%乙腈;10~16 min,15.0%→20.0%乙腈;16~29 min,20.0%→35.0%乙腈;29~50 min,35.0%→48.0%乙腈;50~60 min,48.0%→15.0%乙腈,体积流量1.0 mL/min;Agilent HC-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱,柱温30℃;检测波长203 nm(0~16 min,测定羧基苍术苷、苍术苷)、275 nm(16~29 min,测定连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷)、254 nm(29~60 min,测定升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥

茅酚苷);进样量 10  $\mu\text{L}$ 。取“2.1”项混合对照品溶液及“2.2”项 4 种供试品溶液按上述色谱条件进样分析,见图 1。鼻炎片供试品溶液中羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷与相邻色谱峰分离良好(分离度均 $>1.5$ );理论板数以各成分色谱峰计 $\geq 5000$ ;阴性供试品对鼻炎片中 9 种成分的同时定量控制不产生干扰。



A-混合对照品; B-鼻炎片; C-苍耳子阴性供试品; D-连翘阴性供试品; E-防风阴性供试品; 1-羧基苍术苷; 2-苍术苷; 3-连翘酯苷 B; 4-连翘酯苷 A; 5-连翘苷; 6-升麻素苷; 7-升麻素; 8-5-*O*-甲基维斯阿米醇苷; 9-亥茅酚苷

A-mixed reference substances; B-Biyan Tablets; C-sample without *Xanthii Fructus*; D-sample without *Porsythiae Fructus*; E-sample without *Saposhnikoviae Radix*; 1-carboxyatractyloside; 2-atractyloside; 3-forsythoside B; 4-forsythoside A; 5-forsythoside; 6-prim-*O*-glucosylcimifugin; 7-cimifugin; 8-5-*O*-methylvisammiolide; 9-sec-*O*-glucosylhamaudol

图 1 混合对照品及供试品 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances and samples

## 2.4 线性关系考察

精密吸取“2.1”项混合对照品贮备液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,分别用 50% 甲醇定容至 20 mL,制得 6 个系列溶液,按“2.3”项条件进样分析,以羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷峰面积对各自质量浓度进行线性回归,得回归方程及线性范围(表 1)。

表 1 鼻炎片中 9 种成分的回归方程及线性范围

Table 1 Regression equations and linear ranges of nine components in Biyan tablets

成分	回归方程	线性范围/ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>r</i>
羧基苍术苷	$Y=2.1091 \times 10^6 X - 1276.4$	4.96~124.00	0.9997
苍术苷	$Y=6.7522 \times 10^3 X - 581.9$	0.59~14.75	0.9994
连翘酯苷 B	$Y=1.2320 \times 10^6 X + 965.6$	1.27~31.75	0.9992
连翘酯苷 A	$Y=2.3606 \times 10^6 X - 858.9$	6.55~163.75	0.9991
连翘苷	$Y=1.5737 \times 10^6 X + 1353.2$	2.46~61.50	0.9992
升麻素苷	$Y=1.8763 \times 10^6 X - 372.6$	3.74~93.50	0.9995
升麻素	$Y=1.0442 \times 10^6 X - 817.2$	1.08~27.00	0.9997
5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷	$Y=1.3807 \times 10^6 X + 260.0$	1.67~41.75	0.9996
亥茅酚苷	$Y=8.0484 \times 10^3 X - 1038.5$	0.89~22.25	0.9992

## 2.5 精密度试验

精密吸取“2.1”项混合对照品溶液,按“2.3”项条件重复 6 次进样分析,记录羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的峰面积,计算得 9 种成分峰面积的 RSD 值分别为 0.66%、1.19%、1.03%、0.54%、0.85%、0.76%、1.10%、1.05%、1.22%。

## 2.6 稳定性试验

取鼻炎片(批号 200110),按“2.2”项步骤制备供试品溶液,于 0、2、4、6、12、24 h 按“2.3”项条件进样分析,记录羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的峰面积。鼻炎片供试品溶液 24 h 内稳定,9 种成分峰面积的 RSD 值分别为 0.75%、1.22%、0.98%、0.57%、0.90%、0.86%、1.11%、1.03%、1.16%。

## 2.7 重复性试验

取鼻炎片(批号 200110),按“2.2”项步骤制备供试品溶液,在“2.3”项条件下进样分析,连续 6 次平行试验,记录羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的峰面积并计算其含量,9 种成分

含量的RSD值分别为1.09%、1.86%、1.55%、0.97%、1.61%、1.17%、1.74%、1.53%、1.80%。

## 2.8 加样回收率试验

取已知羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷含量的鼻炎片(批号200110)9份,除去包衣,研细,精密称取0.5 g,分成3组,每组分别精密加入混合对照品溶液(羧基苍术苷0.673 mg/mL、苍术苷0.090 mg/mL、连翘酯苷B 0.185 mg/mL、连翘酯苷A 0.936 mg/mL、连翘苷0.287 mg/mL、升麻素苷0.475 mg/mL、升麻素0.162 mg/mL、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷0.244 mg/mL、亥茅酚苷0.137 mg/mL)0.5、1.0、1.5 mL,按“2.2”项步骤制得加样供试品溶液,在“2.3”项条件下进样分析,记录羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷峰面积并计算各成分加样回收率。9种成分的平均加样回收率及RSD分别为99.73%(1.01%)、98.04%(1.39%)、98.80%(0.98%)、100.03%(0.65%)、99.22%(1.05%)、100.08%(0.70%)、97.41%(1.52%)、96.96%(1.37%)、98.11%(1.18%)。

## 2.9 相对校正因子的建立

精密吸取“2.4”项下6个系列溶液进样检测,在“2.3”项条件下进样分析,记录羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的峰面积,以连翘苷为内参物,分别计算得羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的平均相对校正因子分别为0.749 7、2.330 3、1.277 9、0.668 4、0.844 4、1.517 9、1.142 8、1.958 1,RSD值分别为1.37%、1.21%、0.46%、1.30%、1.76%、1.61%、0.96%、0.29%。

$$f_{ks} = f_k / f_s = (W_k \times A_s) / (W_s \times A_k)$$

$f$ 、 $W$ 和 $A$ 分别代表相对校正因子、质量浓度和峰面积, $k$ 和 $s$ 分别代表其他待测成分和内参物

## 2.10 相对校正因子耐用性考察

在不同高效液相色谱仪(Agilent 1200型、LC-20AT型)、色谱柱(Agilent HC-C<sub>18</sub>柱、Kromasil C<sub>18</sub>柱、Capcell C<sub>18</sub>柱)、体积流量(0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 mL/min)和柱温(28、29、30、31、32 °C)条件下,精密吸取“2.1”项混合对照品溶液进样分析,记录9种成分的峰面积,计算羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的相对校正因子,考察所建立

的相对校正因子耐用性(表2)。不同仪器、色谱柱、体积流量和柱温对所建立的相对校正因子无显著影响,表明所建立的方法耐用性良好,可用于鼻炎片中9种成分的同时测定。

## 2.11 目标化合物色谱峰的定位

色谱峰的准确定位是确保一测多评法得以应用的前提。本实验在不同高效液相色谱仪(Agilent 1200型、LC-20AT型)和色谱柱(Agilent HC-C<sub>18</sub>柱、Kromasil C<sub>18</sub>柱、Capcell C<sub>18</sub>柱)条件下,精密吸取“2.1”项混合对照品溶液进样分析,记录9种成分的保留时间,采用羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷与内参物连翘苷的相对保留时间值对色谱峰进行定位,结果见表3。

## 2.12 样品含量测定及验证

取3批鼻炎片,按“2.2”项步骤制备供试品溶液,在“2.3”项条件下进样分析检测羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的峰面积,分别采用外标法(ESM)和QAMS法计算羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷的含量,验证所建立的QAMS法准确性(表4)。QAMS法计算值与ESM实测值无显著差异(RAD < 2.0%),表明本实验所建立的HPLC-QAMS法可用于鼻炎片中羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷含量的同时测定。

## 3 讨论

### 3.1 指标成分的选择

鼻炎片由苍耳子、连翘、防风、辛夷、荆芥、麻黄、甘草等14味中药组成,方中苍耳子、辛夷散风寒、通鼻窍、祛风湿,二者合为君药;防风祛风解表、胜湿止痛,荆芥解表散风,白芷解表燥湿、祛风止痛、宣通鼻窍,桔梗宣肺利咽,四药合为臣药;连翘、野菊花清热解毒,知母、黄柏清热泻火、燥湿泻火,麻黄、细辛解表散风、宣肺通窍,五味子收敛固涩、益气生津,七药合为佐药;甘草清热解毒、调和诸药,为使药。方中药物所含化学成分相互协同、相互制约,以达祛风宣肺、清热解毒之功,用于急慢性鼻炎风热蕴肺症所致鼻塞、流涕、发热、头痛等临床症状的治疗。为全面评价鼻炎片的整体质量,依据中药质量标志物以君药(苍耳子)所含成分为首选,兼顾臣药(防风)、佐药(连翘)和使药成分的确认真

表2 不同因素对相对校正因子的影响  
Table 2 Influence of different factors on RCF

考察因素		相对校正因子							
		羧基苍术苷	苍术苷	连翘酯苷B	连翘酯苷A	升麻素苷	升麻素	5-O-甲基维斯阿米醇苷	亥茅酚苷
HPLC 色 谱仪	Agilent 1200	0.759 8	2.348 3	1.286 6	0.678 5	0.853 6	1.527 4	1.150 9	1.975 9
	LC-20AT	0.746 1	2.328 6	1.275 1	0.670 3	0.837 1	1.508 8	1.133 0	1.956 6
	色谱柱	Agilent HC-C <sub>18</sub>	0.752 2	2.333 6	1.280 1	0.671 5	0.847 9	1.519 0	1.145 3
	Kromasil C <sub>18</sub>	0.741 6	2.300 2	1.267 5	0.663 0	0.828 5	1.480 3	1.126 1	1.947 4
	Capcell C <sub>18</sub>	0.770 3	2.370 9	1.299 3	0.691 2	0.870 8	1.548 5	1.164 7	1.980 3
体积流量	0.8 mL/min	0.730 6	2.280 4	1.259 1	0.650 2	0.820 6	1.483 9	1.127 5	1.939 4
	0.9 mL/min	0.738 1	2.300 9	1.266 0	0.657 9	0.831 9	1.500 2	1.133 9	1.940 6
	1.0 mL/min	0.746 3	2.328 7	1.275 5	0.666 0	0.841 2	1.516 1	1.140 3	1.955 9
	1.1 mL/min	0.751 8	2.349 1	1.279 3	0.671 3	0.849 5	1.526 7	1.148 8	1.967 8
	1.2 mL/min	0.757 9	2.350 8	1.287 8	0.674 6	0.857 3	1.549 0	1.162 4	1.981 3
柱温	28 °C	0.762 9	2.371 5	1.294 0	0.684 1	0.863 7	1.548 7	1.161 4	1.970 5
	29 °C	0.753 6	2.346 1	1.285 5	0.675 2	0.854 4	1.530 9	1.153 3	1.963 2
	30 °C	0.747 1	2.328 8	1.274 7	0.663 5	0.840 2	1.515 2	1.140 9	1.956 3
	31 °C	0.734 4	2.312 9	1.266 1	0.660 9	0.832 6	1.506 1	1.134 0	1.950 8
	32 °C	0.729 8	2.291 3	1.259 9	0.655 7	0.826 5	1.482 5	1.128 5	1.941 9
	平均值	0.748 2	2.329 5	1.277 1	0.668 9	0.843 7	1.516 2	1.143 4	1.959 4
	RSD/%	1.59	1.19	0.94	1.64	1.73	1.53	1.15	0.71

表3 不同仪器、色谱柱对相对保留时间的影响

Table 3 Influence of different instruments and columns on relative retention time value

仪器		相对保留时间							
		色谱柱	羧基苍术苷	苍术苷	连翘酯 苷B	连翘酯 苷A	升麻素苷	升麻素	5-O-甲基维斯 阿米醇苷
Agilent 1200	Agilent HC-C <sub>18</sub>	0.421 4	0.524 2	0.735 9	0.836 7	1.201 6	1.367 0	1.522 2	1.735 9
	Kromasil C <sub>18</sub>	0.430 9	0.530 6	0.748 6	0.841 8	1.229 3	1.395 5	1.555 7	1.755 1
	Capcell C <sub>18</sub>	0.417 2	0.513 9	0.720 3	0.818 2	1.187 6	1.342 3	1.509 3	1.720 6
LC-20AT	Agilent HC-C <sub>18</sub>	0.418 6	0.517 1	0.725 5	0.829 5	1.215 9	1.378 1	1.534 8	1.740 8
	Kromasil C <sub>18</sub>	0.427 5	0.523 8	0.734 1	0.830 7	1.217 0	1.374 9	1.537 6	1.744 3
	Capcell C <sub>18</sub>	0.423 8	0.524 7	0.733 0	0.834 4	1.196 5	1.357 5	1.529 1	1.735 0
	平均值	0.423 2	0.522 4	0.732 9	0.831 9	1.208 0	1.369 2	1.531 5	1.738 6
	RSD/%	1.24	1.14	1.32	0.96	1.28	1.33	1.02	0.66

则,选取苍耳子特征成分羧基苍术苷和苍术苷,防风代表性成分升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷,连翘药效成分连翘酯苷B、连翘酯苷A和连翘苷9种指标成分进行定量分析。

### 3.2 色谱条件的优化

在优化色谱条件时,以羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷色谱峰分离度、杂质干扰、检测用时以及基线平稳情况为指标,重

点考察了乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液<sup>[10-11]</sup>、乙腈-0.2% 磷酸溶液<sup>[12]</sup>、乙腈-水<sup>[14]</sup>和甲醇-水<sup>[13]</sup>共4个流动相体系,最终采用乙腈-0.2% 磷酸溶液为流动相,按“2.3”项梯度洗脱程序对鼻炎片中9种成分进行同时检测。

### 3.3 供试品提取方法的选择

在进行鼻炎片供试品溶液制备时,以羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷综

表4 鼻炎片中9种成分含量测定结果 (n=3)

Table 4 Determination results of nine components in Biyan tablets (n=3)

批号	连翘苷			羧基苍术苷			苍术苷		
	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %
200110	0.583	—	—	1.359	1.344	0.55	0.176	0.179	0.85
200317	0.471	—	—	1.626	1.591	1.09	0.211	0.209	0.48
210105	0.696	—	—	1.087	1.102	0.69	0.142	0.145	1.05
批号	连翘酯苷B			连翘酯苷A			升麻素苷		
	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %
200110	0.374	0.366	1.08	1.851	1.879	0.75	0.971	0.954	0.88
200317	0.299	0.305	0.99	1.185	1.192	0.29	1.163	1.18	0.73
210105	0.448	0.439	1.01	2.22	2.193	0.61	0.777	0.761	1.04
批号	升麻素			5-O-甲基维斯阿米醇苷			亥茅酚苷		
	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %	ESM/ (mg·g <sup>-1</sup> )	QAMS/ (mg·g <sup>-1</sup> )	RAD/ %
200110	0.318	0.324	0.93	0.492	0.497	0.51	0.256	0.259	0.58
200317	0.38	0.376	0.53	0.394	0.401	0.88	0.204	0.209	1.21
210105	0.255	0.262	1.35	0.588	0.58	0.68	0.307	0.301	0.99

合提取率及杂质干扰为考察指标,对比考察不同溶剂(水<sup>[10-11]</sup>、50%甲醇、70%甲醇<sup>[12]</sup>、甲醇<sup>[13-14]</sup>)、提取方式(超声<sup>[11-12]</sup>、加热回流<sup>[13-14]</sup>)及提取时间(30、45、60 min),最终以50%甲醇超声45 min对鼻炎片供试品进行制备。

本实验以连翘苷为内参物,建立了鼻炎片中羧基苍术苷、苍术苷、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷和亥茅酚苷9种成分的HPLC-QAMS法,所建立的方法重复性和准确性好,检测用时短,降低了检验成本,可用于鼻炎片中多成分的综合评价,为稳定鼻炎片产品质量和确保临床疗效的稳定提供了参考依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 薛圣峰,薛军芳.观察分析激素喷雾联合鼻炎片治疗变应性鼻炎的临床效果[J].智慧健康,2020,6(23):114-116.  
Xue S F, Xue J F. Observation and analysis of hormone spray combined with rhinitis tablets in the treatment of allergic rhinitis [J]. Smart Healthcare, 2020, 6(23): 114-116.
- [2] 薛芊芊,白广平,吴红敏.激素喷雾联合鼻炎片治疗变应性鼻炎临床效果观察[J].临床合理用药,2016,9(5A):37-38.  
Xue Q Q, Bai G P, Wu H M. Effect observation of

hormone spray combined with rhinitis tablets in treatment of allergic rhinitis [J]. Chin J Clin Rational Drug Use, 2016, 9(5A): 37-38.

- [3] 朱 姝,王 平,谢卓君,等.鼻炎片联合布地奈德鼻内雾化对慢性鼻-鼻窦炎术后的效果[J].临床和实验医学杂志,2020,19(19):2064-2067.  
Zhu S, Wang P, Xie Z Z, et al. Effect of Biyan tablet combined with budesonide nasal atomization on chronic rhinosinusitis after operation [J]. J Clin Exp Med, 2020, 19(19): 2064-2067.
- [4] 周锦良.鼻炎片联合克拉霉素片治疗慢性鼻窦炎的效果[J].北方药学,2019,16(6):12-13.  
Zhou J L. Effect of Biyan Tablets combined with Clarithromycin tablets on chronic sinusitis [J]. North Pharm, 2019, 16(6): 12-13.
- [5] 张亚兵,邓阿黎,吴朝妍,等.中联鼻炎片对过敏性鼻炎TNF- $\alpha$ 及IL-4的影响[J].中国药师,2008,11(8):963-964.  
Zhang Y B, Deng A L, Wu C Y, et al. Influence of ZhongLian Biyan Tablet on TNF- $\alpha$  and IL-4 of allergic rhinitis [J]. China Pharm, 2008, 11(8): 963-964.
- [6] 曾文利.中联鼻炎片治疗慢性肥厚性鼻炎的疗效观察[J].内蒙古中医药,2017,11(20):16-17.  
Zeng W L. Clinical observation of Zhonglian Biyan Tablets in the treatment of chronic hypertrophic rhinitis [J]. Inner Menglia J Tradit Chin Med, 2017, 11(20): 16-17.

- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1832-1833.  
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020: 1832-1833.
- [8] 刘莎, 高幼衡, 侯媛芳, 等. RP-HPLC法测定鼻炎片中五味子醇甲的含量 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(1): 54-56.  
Liu S, Gao Y H, Hou Y F, et al. Determination of schizandrin in Biyan tablets by RP-HPLC [J]. Acad J Guangdong Coll Pharm, 2011, 27(1): 54-56.
- [9] 侯媛芳, 高幼衡. 鼻炎片中升麻素昔, 欧前胡素的含量测定及防风药材指纹图谱研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.  
Hou Y F, Gao Y H. Determination of Prim-ogluosylcimifugin as well as imperstorin in Biyan tablet and HPLC fingerprint of the *Saposhnikovia Radix* [D]. Guangzhou: J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2011.
- [10] 刘鹏, 刘玉红, 刘云华, 等. 离子色谱法测定苍耳子中毒性成分羧基苍术苷和苍术苷含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 61-64.  
Liu P, Liu Y H, Liu Y H, et al. Ion chromatography method for determination of toxic ingredients carboxyatractyloside and atractyloside in *Xanthii Fructus* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2016, 22(4): 61-64.
- [11] 徐玉田. 不同炮制温度对苍耳子成分及药效影响的分析 [J]. 四川中医, 2020, 38(4): 74-77.  
Xu Y T. Effects of different processing temperatures on components and pharmacodynamics of *Fructus Xanthii* [J]. Sichuan J Tradit Chin Med, 2020, 38(4): 74-77.
- [12] 付云飞, 李清, 毕开顺. RP-HPLC法同时测定不同产地连翘中的7种成分 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 1043-1046.  
Fu Y F, Li Q, Bi K S. Determination of seven components in *Forsythia suspensa* by RP-HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2013, 44(8): 1043-1046.
- [13] 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.  
Xu R. Study on fingerprint and multi-component quantitation by one marker method of *Radix Saposhnikovia* from northeast [J]. Chin J Pharm Anal, 2019, 39(3): 458-466.
- [14] 张丹, 木盼盼, 郭梅, 等. 基于高效液相指纹图谱和化学计量法的防风药材及其伪品的鉴别 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31: 373-379.  
Zhang D, Mu P P, Guo M, et al. Identification of *Saposhnikovia Radix* and their counterfeits based on HPLC fingerprint and stoichiometry [J]. Nat Prod Res Dev, 2019, 31: 373-379.

[责任编辑 兰新新]