

当归补血汤基准样品质量控制方法研究

陈锦霞, 高永坚, 林碧珊, 陈伟钢, 洪婉婷, 张汝莹, 陈文慧, 梁浩明*

国药集团广东环球制药有限公司, 广东 佛山 528303

摘要: 目的 建立经典名方当归补血汤基准样品系统的的多维指纹图谱, 为其质量评价提供参考。方法 制备26批基准样品, 在同一供试品溶液下, 基于超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA)、UPLC-蒸发光散射检测器(ELSD)、亲水相互作用色谱-二极管阵列检测器(HILIC-PDA)法建立当归补血汤基准样品多维指纹图谱, 明确其指纹图谱的峰归属和相似程度范围。对毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸、总多糖进行定量分析, 确定其含量限度范围。结果 建立当归补血汤基准样品三维指纹图谱方法, 共标定了32个共有峰, 通过与对照品比对, 指认了其中17个共有峰, 使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”计算相似度, 其相似度均大于0.9。26批基准样品毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸、总多糖的含量均值±30%范围分别为0.075%~0.140%、0.023%~0.043%、0.103%~0.191%、4.69%~8.70%。结论 建立经典名方当归补血汤多维指纹图谱及多成分含量测定方法, 适用性强, 重复性、稳定性良好, 可为当归补血汤基准样品及其制剂的质量控制提供依据。

关键词: 经典名方; 当归补血汤; 基准样品; 超高效液相色谱(UPLC); 指纹图谱; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 毛蕊异黄酮; 黄芪甲苷; 阿魏酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)11-2247-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.011

Quality control method of substance benchmarks for Danggui Buxue Decoction

CHEN Jinxia, GAO Yongjian, LIN Bishan, CHEN Weigang, HONG Wanting, ZHANG Ruying, CHEN Wenhui, LIANG Haoming

Sinopharm Group Guangdong Medi-Word Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528303, China

Abstract: **Objective** A comprehensive and systematic quality control method was established to provide reference for quality control and evaluation of substance benchmarks for Danggui Buxue Decoction, in order to provide reference for establishing the quality control standard. **Methods** Twenty-six batches of substance benchmarks were prepared. Based on a same sample solution, a multidimensional fingerprint of substance benchmarks was established by UPLC-PDA, UPLV-ELSD and HILIC-PDA to definite the common peaks and the similarity range. Five quality markers, including calycosin-7-O- β -D-glucopyranoside and calycosin, astragaloside IV, ferulic acid, and total polysaccharides, were analyzed to determine the quantitative ranges. **Results** According to the three-dimensional fingerprint Spectrum, thirty-two common peaks could be demarcated, while seventeen of these could be identified by reference substances. Besides, their similarities were all more than 0.9 based on the Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System (2012). The ranges of mean content about calycosin-7-O- β -D-glucopyranoside plus calycosin, astragaloside IV, ferulic acid, and total polysaccharides from twenty-six batches of substance benchmarks were 0.075%—0.140%, 0.023%—0.043%, 0.103%—0.191%, and 4.69%—8.70%, respectively. **Conclusion** With high applicability, well repeatability and stability, the multidimensional fingerprint and multicomponent determination of DangguiBuxue Decoction can provide reference for establishing the quality control of substance benchmarks and preparations.

Key words: classic prescriptions; Danggui Buxue Decoction; substance benchmark; UPLC; fingerprint; calycosin-7-O- β -D-glucopyranoside; calycosin; astragaloside IV; ferulic acid

国家药品监督管理局药品审评中心于2021年8月发布的《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》^[1](以下简称“指导原则”)提到,基准样品承载古代经典名方的有效

收稿日期: 2022-03-27

基金项目: 2019年容桂街道战略性新兴产业项目(RG202004001)

第一作者: 陈锦霞(1982—),女,制药工程师,主要从事经典名方研究。E-mail:43874588@qq.com

*通信作者: 梁浩明(1991—),男,主管中药师,主要从事经典名方研究。E-mail:L_haoming@163.com

性、安全性,应采用指纹图谱、多指标含量测定等进行整体质量研究,必要时研究建立多张指纹/特征图谱,指标成分的含量波动范围一般不超过均值的±30%。

当归补血汤出自金代李东垣的《内外伤辨惑论》^[2],收录于2018年4月公布的《古代经典名方目录(第一批)》^[3]，“黄芪一两,当归二钱(酒洗)上件咀,都作一服。水二盏,煎至一盏,去渣,温服,空心食前”。目前已有大量研究表明当归补血汤中主要含有皂苷类、黄酮类、挥发油、有机酸、多糖类等质量标志成分^[4-7]。因此,本研究按照“指导原则”要求制备了26批基准样品,分别以超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA)、UPLC-蒸发光散射检测器(ELSD)、亲水相互作用色谱-二极管阵列检测器(HILIC-PDA)法建立了当归补血汤基准样品多维指纹图谱,对共有峰进行了药味归属和指认。此外,分别测定了毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸和总多糖的含量,初步制定基准样品的含量波动范围。本研究针对当归补血汤基准样品定性与定量多角度展开全面评价和控制,为当归补血汤基准样品及其经典名方复方制剂质量控制的研究提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

H-class超高效液相色谱仪(沃特世公司);UV-2600i可见光-紫外分光光度计(岛津公司);MS105DU十万分之一天平、万分之一天平(梅特勒-托利多公司);KQ-500DE超声清洗机(昆山市超声仪器有限公司);MILLIPORE Synergy UV超纯水系统(默克股份有限公司);YMW机械分体煎药壶(深圳一枚王有限公司)。

1.2 试药与主要试剂

对照品阿魏酸(批号110733-201915,质量分数99.4%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号111920-201907,质量分数96.8%)、色氨酸(批号140686-201904,质量分数99.9%)、藁本内酯(批号111737-101608)、黄芪甲苷(批号110781-202118,质量分数96.8%)、腺苷(批号110879-201703,质量分数99.7%)、鸟苷(批号111977-201501,质量分数93.6%)、无水葡萄糖(批号110833-201707,质量分数99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;对照品毛蕊异黄酮(批号7851,质量分数98%)、洋川芎内酯I(批号5845,质量分数99.4%)、芒柄花苷(批号1948,质量分数98%)、尿苷(批号6213,质量分数

99.8%)、黄芪皂苷I(批号6107,质量分数98.0%)、黄芪皂苷II(批号3824,质量分数98.0%)、黄芪皂苷III(批号5698,质量分数98.0%)、异黄芪皂苷I(批号6174,质量分数98.0%)、异黄芪皂苷II(批号3022,质量分数98.0%)购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;芒柄花素(批号F111388,质量分数98%)购自阿拉丁。磷酸、甲酸、乙腈、甲醇为色谱纯,均购自美国BCR试剂公司;乙醇为分析纯,购自广州化学试剂厂;超纯水,实验室自制。

1.3 药材信息

黄芪、当归均来源于道地产区或主产区,产地信息见表1。经国药集团广东环球制药有限公司质量部刘国慧副主任中药师鉴定,黄芪为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根,当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。本实验室参考《中国药典》2020年版黄芪、当归项下炮制方法制成黄芪饮片和酒当归^[8]。

2 方法与结果

2.1 当归补血汤基准样品的制备

参考“指导原则”要求,基准样品一般为煎液、浓缩浸膏或干燥品。本研究以冷冻干燥品作为当归补血汤基准样品的基本形态,对其进行研究。通过随机数表法随机匹配各批次饮片,制备26批当归补血汤基准样品,编号为S1~S26。按《内外伤辨惑论》中记载的处方剂量和用法用量考证,确定当归补血汤基准样品制法如下:黄芪饮片40.00 g,酒当归8.00 g,粉碎成粗粒,加水400 mL,煎至200 mL,趁热滤过。精密移取5 mL水煎液于15 mL棕色西林瓶中,-50℃预冷冻12 h后冷冻干燥72 h(冻干温度为-80℃,真空度为10 Pa),压盖密塞,即得当归补血汤基准样品。分别取处方量单味饮片,同法制备,即得各单味药饮片的基准样品。

2.2 指纹图谱研究

2.2.1 对照品溶液的制备 取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、色氨酸、阿魏酸、洋川芎内酯I、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素和藁本内酯对照品适量,精密称定,加70%甲醇制成含毛蕊异黄酮葡萄糖苷0.05 mg·mL⁻¹、色氨酸0.01 mg·mL⁻¹、阿魏酸0.01 mg·mL⁻¹、洋川芎内酯I 0.05 mg·mL⁻¹、芒柄花苷0.05 mg·mL⁻¹、毛蕊异黄酮0.05 mg·mL⁻¹、芒柄花素0.05 mg·mL⁻¹和藁本内酯0.01 mg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

取黄芪甲苷、黄芪皂苷I、黄芪皂苷II、黄芪皂苷

表1 26批当归补血汤基准样配对药材产地信息
Table 1 Origin information of reference samples of Danggui Buxue Decoction

| 编号 | 黄芪 | 当归 |
|-----|-----------|-----------|
| S1 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省陇南市宕昌县 |
| S2 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S3 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省定西市岷县 |
| S4 | 内蒙古自治区赤峰市 | 青海省海东市互助县 |
| S5 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省定西市陇西县 |
| S6 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S7 | 甘肃省定西市岷县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S8 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省定西市渭源县 |
| S9 | 内蒙古自治区赤峰市 | 青海省海东市互助县 |
| S10 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省定西市漳县 |
| S11 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省定西市岷县 |
| S12 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省陇南市礼县 |
| S13 | 甘肃省定西市岷县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S14 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省陇南市礼县 |
| S15 | 内蒙古自治区赤峰市 | 青海省西宁市互助县 |
| S16 | 内蒙古自治区赤峰市 | 青海省西宁市互助县 |
| S17 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省陇南市礼县 |
| S18 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省定西市岷县 |
| S19 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S20 | 甘肃省定西市陇西县 | 青海省西宁市互助县 |
| S21 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S22 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省陇南市宕昌县 |
| S23 | 甘肃省张掖市民乐县 | 甘肃省陇南市宕昌县 |
| S24 | 甘肃省定西市陇西县 | 甘肃省定西市岷县 |
| S25 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省陇南市礼县 |
| S26 | 内蒙古自治区赤峰市 | 甘肃省陇南市宕昌县 |

III、异黄芪皂苷I和异黄芪皂苷II对照品适量,精密称定,加70%甲醇制成各含 $0.05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

取尿苷、腺苷和鸟苷对照品适量,精密称定,加70%甲醇制成各含 $0.05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取当归补血汤基准样品约 0.1 g ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇 50 mL ,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W 、 50 kHz) 30 min ,放冷,再称定质量,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜滤过,即得。

2.2.3 色谱条件

(1)指纹图谱I 通过对流动相、柱温、体积流量、检测波长等系统适应性条件的优化,确定色谱

条件如下:以HSS T3($10\text{ cm}\times 2.1\text{ mm}$, $1.8\text{ }\mu\text{m}$)为色谱柱;以乙腈为流动相A, 0.02% 甲酸溶液为流动相B,梯度洗脱: $0\sim 7\text{ min}$, $20\%\sim 40\%\text{ A}$; $7\sim 13\text{ min}$, $40\%\sim 80\%\text{ A}$; $13\sim 15\text{ min}$, $80\%\sim 20\%\text{ A}$;体积流量为 $0.30\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 $30\text{ }^\circ\text{C}$;PDA检测波长 260 nm ,进样量为 $2\text{ }\mu\text{L}$ 。

(2)指纹图谱II 通过对流动相、体积流量、漂移管温度、气体体积流量等系统适应性条件的优化,确定色谱条件如下:以YMC Trait C₁₈($10\text{ cm}\times 2.1\text{ mm}$, $1.9\text{ }\mu\text{m}$)为色谱柱;以乙腈为流动相A, 0.2% 甲酸溶液为流动相B,梯度洗脱: $0\sim 4\text{ min}$, $35\%\text{ A}$; $4\sim 18\text{ min}$, $35\%\sim 45\%\text{ A}$; $18\sim 27\text{ min}$, $45\%\sim 80\%\text{ A}$; $27\sim 28\text{ min}$, $80\%\sim 35\%\text{ A}$;体积流量为 $0.20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 $30\text{ }^\circ\text{C}$;进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$;蒸发光检测器检测,气体体积流量 $1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$;漂移管温度为 $85\text{ }^\circ\text{C}$,增益值为1。

(3)指纹图谱III 通过对流动相、柱温、体积流量、检测波长等系统适应性条件的优化,确定色谱条件如下:以Diol-HILIC-120($10\text{ cm}\times 2.1\text{ mm}$, $1.9\text{ }\mu\text{m}$)为色谱柱;以乙腈为流动相A, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液为流动相B,梯度洗脱: $0\sim 10\text{ min}$, $94\%\text{ A}$; $10\sim 30\text{ min}$, $94\%\sim 80\%\text{ A}$,体积流量为 $0.20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 $25\text{ }^\circ\text{C}$;检测波长为 260 nm ;进样量为 $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2.4 指纹图谱方法学考察

(1)精密度试验 取当归补血汤基准样品(S1),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,连续进样6次,按“2.2.3”项下色谱条件测定。分别计算指纹图谱I(以毛蕊异黄酮为参照峰)、指纹图谱II(以黄芪皂苷I为参照峰)和指纹图谱III(以鸟苷为参照峰)各特征峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间RSD值均小于 2.0% ,相对峰面积RSD值均小于 4.0% ,仪器精密度良好。

(2)稳定性试验 精密吸取同1供试品溶液(S1),按“2.2.3”项下色谱条件,分别在 0 、 2 、 4 、 8 、 12 、 16 、 20 、 24 h 进样检测。分别计算指纹图谱I(以毛蕊异黄酮为参照峰)、指纹图谱II(以黄芪皂苷I为参照峰)和指纹图谱III(以鸟苷为参照峰)各特征峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间RSD值均小于 3.0% ,相对峰面积RSD值均小于 4.0% ,供试品溶液在 24 h 内稳定。

(3)重复性试验 取同1批号样品(S1),分别精密称取6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件测定,分别计算指纹图谱

I(以毛蕊异黄酮为参照峰)、指纹图谱II(以黄芪皂苷I为参照峰)和指纹图谱III(以鸟苷为参照峰)各特征峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间RSD值均小于2.0%,相对峰面积RSD值均小于4.0%,3个指纹图谱方法重复性良好。

2.2.5 指纹图谱方法的建立及相似度评价

(1)指纹图谱I 分别精密吸取“2.2.2”项下制备的各批次供试品溶液,按“2.2.3”项下指纹图谱I色谱条件测定记录色谱图。采用国家药典委员会推荐的中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)对26批当归补血汤基准样品指纹图谱I进行相似度分析(中位数法,时间窗为0.1 min)。26批当归补血汤基准样品的指纹图谱I和对照指纹图谱I见图1。共标定了10个共有峰,以对照指纹图谱I为参照进行相似度计算,相似度结果见表2。各批样品的相似度均大于0.90,表明所建立的指纹图谱I质量稳定,可以反映其指纹特征。

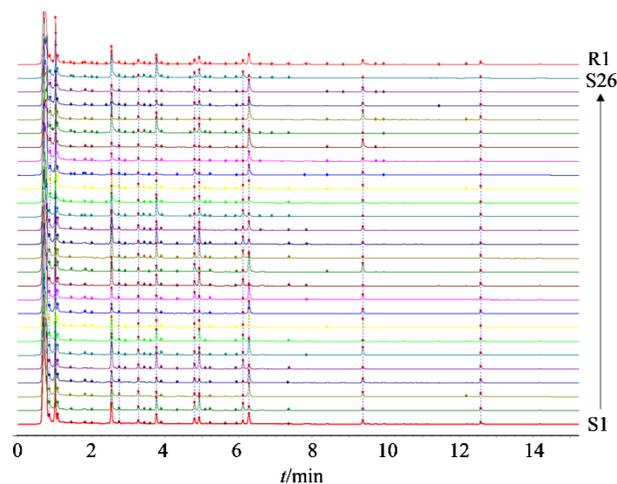


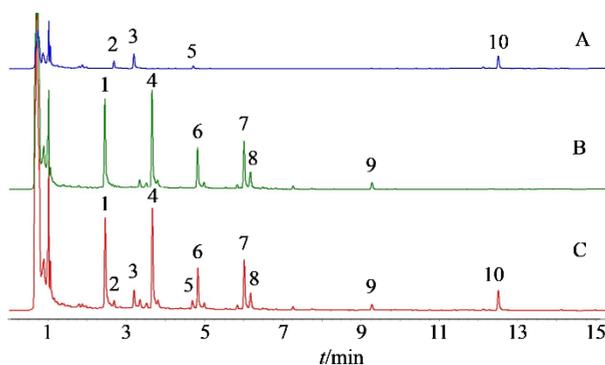
图1 26批当归补血汤基准样品(S1~S26)的指纹图谱I和对照指纹图谱I(R1)

Fig. 1 Fingerprint I of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction (S1—S26) and reference fingerprint I (R1)

将26批当归补血汤基准样品生成的对照指纹图谱I与单味饮片不同批次样品的对照指纹图谱进行比对,见图2。对指纹图谱I进行色谱峰归属,共归属10个共有峰,其中峰1、4、6、7、8和9归属于黄芪,峰2、3、5和10归属于酒当归。采用对照品指认上述共有峰,其中峰1为毛蕊异黄酮葡萄糖苷,峰2为色氨酸,峰3为阿魏酸,峰5为洋川芎内酯I,峰6为芒柄花苷,峰8为毛蕊异黄酮,峰9为芒柄花素,峰10为藁本内酯。

表2 26批当归补血汤基准样品指纹图谱I相似度
Table 2 Similarities of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction from fingerprint I

| 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 |
|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| S1 | 0.996 | S10 | 0.932 | S19 | 0.976 |
| S2 | 0.937 | S11 | 0.946 | S20 | 0.992 |
| S3 | 0.926 | S12 | 0.924 | S21 | 0.944 |
| S4 | 0.924 | S13 | 0.930 | S22 | 0.928 |
| S5 | 0.915 | S14 | 0.937 | S23 | 0.951 |
| S6 | 0.976 | S15 | 0.991 | S24 | 0.969 |
| S7 | 0.941 | S16 | 0.919 | S25 | 0.935 |
| S8 | 0.956 | S17 | 0.934 | S26 | 0.933 |
| S9 | 0.928 | S18 | 0.989 | | |



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷;2-色氨酸;3-阿魏酸;5-洋川芎内酯I;6-芒柄花苷;8-毛蕊异黄酮;9-芒柄花素;10-藁本内酯;A-酒当归对照指纹图谱;B-黄芪饮片对照指纹图谱;C-当归补血汤基准样品对照指纹图谱

1-glucoside of calycosin; 2-tryptophan; 3-ferulic acid; 5-ligustrolide I; 6-ononin; 8-calycosin; 9-formononetin; 10-ligustilide; A-wine *Angelicae Sinensis Radix* control fingerprint; B-*Astragalus Radix* control fingerprint; C-Danggui Buxue Decoction reference sample control fingerprint

图2 当归补血汤基准样品指纹图谱I的共有峰归属
Fig. 2 Identification of common peaks in fingerprint I of reference samples of Danggui Buxue Decoction

(2)指纹图谱II 分别精密吸取“2.2.2”项下制备的各批次供试品溶液,按“2.2.3”项下指纹图谱II色谱条件测定记录色谱图。进行相似度分析(中位数法,时间窗为0.1 min),26批当归补血汤基准样品的指纹图谱II和对照指纹图谱II见图3。共标定了8个共有峰,以对照指纹图谱II为参照进行相似度计算,相似度结果见表3。各批样品的相似度均大于0.90,表明所建立的当归补血汤指纹图谱II质量稳定,可以反映其指纹特征。

将26批当归补血汤基准样品生成的对照指纹图谱II与单味饮片不同批次样品的对照指纹图谱进行比对,见图4。对指纹图谱II进行色谱峰归属,共归属8个共有峰,均归属于黄芪。采用对照品指认

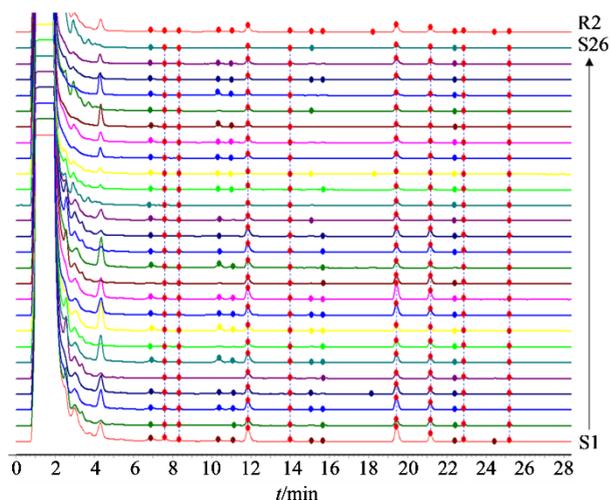


图3 26批当归补血汤基准样品(S1—S26)的指纹图谱II和对照指纹图谱II(R2)

Fig. 3 Fingerprint II of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction (S1—S26) and reference fingerprint II (R2)

表3 26批当归补血汤基准样品指纹图谱II相似度

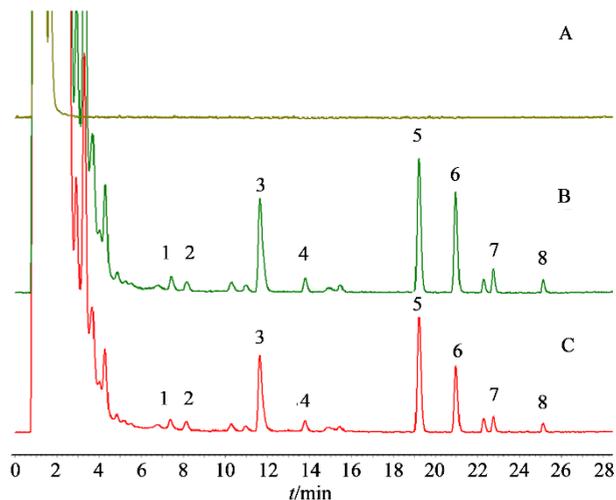
Table 3 Similarities of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction from fingerprint II

| 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 |
|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| S1 | 0.993 | S10 | 0.994 | S19 | 0.995 |
| S2 | 0.971 | S11 | 0.950 | S20 | 0.980 |
| S3 | 0.997 | S12 | 0.944 | S21 | 0.917 |
| S4 | 0.990 | S13 | 0.962 | S22 | 0.975 |
| S5 | 0.958 | S14 | 0.978 | S23 | 0.935 |
| S6 | 0.972 | S15 | 0.986 | S24 | 0.994 |
| S7 | 0.965 | S16 | 0.931 | S25 | 0.969 |
| S8 | 0.933 | S17 | 0.991 | S26 | 0.918 |
| S9 | 0.992 | S18 | 0.983 | | |

上述共有峰,其中峰1为黄芪甲苷,峰2为黄芪皂苷III,峰3为黄芪皂苷II,峰4为异黄芪皂苷II,峰5为黄芪皂苷I,峰6为异黄芪皂苷I。

(3) 指纹图谱III 分别精密吸取“2.2.2”项下制备的各批次供试品溶液,按“2.2.3”项下指纹图谱III色谱条件测定记录色谱图。进行相似度分析(中位数法,时间窗为0.1 min),26批当归补血汤基准样品的指纹图谱III和对照指纹图谱III见图5。共标定了14个共有峰,以对照指纹图谱III为参照进行相似度计算,相似度结果见表4。各批样品的相似度均大于0.90,表明所建立的指纹图谱III质量稳定,可以反映其指纹特征。

将26批当归补血汤基准样品生成的对照指纹图谱III与单味饮片不同批次样品的对照指纹图谱



1-黄芪甲苷;2-黄芪皂苷III;3-黄芪皂苷II;4-异黄芪皂苷II;5-黄芪皂苷I;6-异黄芪皂苷I;A-酒当归对照指纹图谱;B-黄芪饮片对照指纹图谱;C-当归补血汤基准样品对照指纹图谱

1-astragaloside IV; 2-astragaloside III; 3-astragaloside II; 4-iso-astragaloside II; 5-astragaloside I; 6-iso-astragaloside I; A-wine *Angelicae Sinensis Radix* control fingerprint; B-*Astragali Radix* control fingerprint; C-Danggui Buxue Decoction reference sample control fingerprint

图4 当归补血汤基准样品指纹图谱II的共有峰归属
Fig. 4 Identification of common peaks in fingerprint II of reference samples of Danggui Buxue Decoction

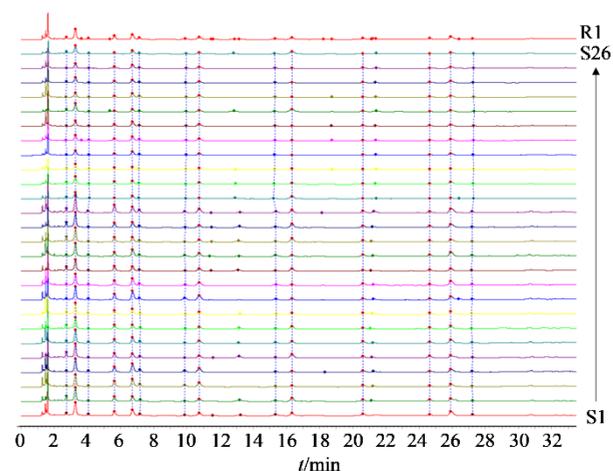


图5 26批当归补血汤基准样品(S1—S26)的指纹图谱III和对照指纹图谱III(R3)

Fig. 5 Fingerprint III of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction (S1—S26) and reference fingerprint III (R3)

进行比对,见图6。对指纹图谱III进行色谱峰归属,共归属14个共有峰,其中峰1、3、5、8、9、10、13和14归属于黄芪,峰6归属于酒当归,峰2、4、7、11和12为共有成分。采用对照品指认上述共有峰,其中峰2为尿苷,峰4为腺苷,峰7为鸟苷。

2.3 定量测定

2.3.1 毛蕊异黄酮和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测

表4 26批当归补血汤基准样品指纹图谱III相似度
Table 4 Similarities of 26 batches of reference samples of Danggui Buxue Decoction from fingerprint III

| 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 |
|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| S1 | 0.989 | S10 | 0.988 | S19 | 0.958 |
| S2 | 0.980 | S11 | 0.969 | S20 | 0.913 |
| S3 | 0.967 | S12 | 0.978 | S21 | 0.955 |
| S4 | 0.977 | S13 | 0.984 | S22 | 0.989 |
| S5 | 0.961 | S14 | 0.914 | S23 | 0.964 |
| S6 | 0.977 | S15 | 0.986 | S24 | 0.926 |
| S7 | 0.994 | S16 | 0.981 | S25 | 0.905 |
| S8 | 0.971 | S17 | 0.953 | S26 | 0.928 |
| S9 | 0.978 | S18 | 0.962 | | |

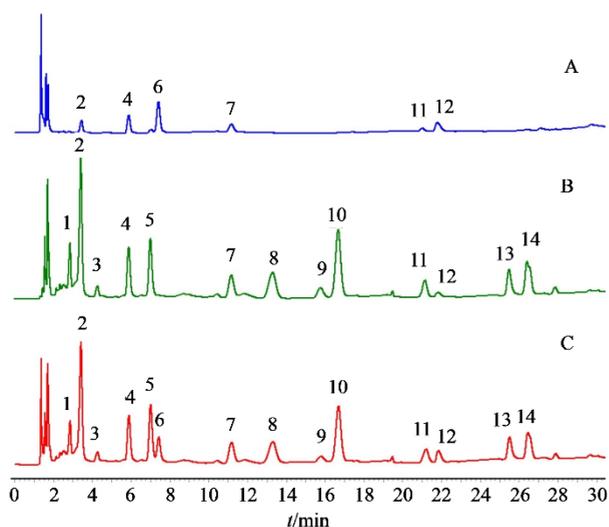


图6 当归补血汤基准样品指纹图谱III的共有峰归属
Fig. 6 Identification of common peaks in fingerprint III of reference samples of Danggui Buxue Decoction

定 参照黄芪(蒙古黄芪)配方颗粒国家药品标准(YBZ-PFKL-2021065)^[9],确定毛蕊异黄酮和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定方法。

对照品溶液的制备:取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮对照品适量,精密称定,置量瓶中,加70%甲醇分别制成质量浓度为0.500 mg·mL⁻¹的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取约1 g的供试品(S1),置圆底烧瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,密塞,称定质量,加热回流1 h,再称定质量,用70%甲醇补足缺失的质量,摇匀、过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,

即得。按上述供试品溶液制备方法,分别制备缺黄芪饮片、酒当归的阴性样品供试品溶液。

色谱条件:以HSS T3(100 mm×2.1 mm,1.8 μm)为色谱柱;以乙腈为流动相A,0.02%甲酸溶液为流动相B,梯度洗脱:0~5.5 min,20%~40%A;5.5~8.5 min,40%A;8.5~8.6 min,40%~20%A;8.6~12.0 min,20%A;体积流量为0.3 mL·min⁻¹;柱温30 °C;检测波长260 nm,进样量为2 μL。

2.3.2 黄芪甲苷含量测定 参照黄芪(蒙古黄芪)配方颗粒国家药品标准(YBZ-PFKL-2021065)^[8],确定黄芪甲苷含量测定方法如下:

对照品溶液的制备:取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,置量瓶中,加80%甲醇制成质量浓度为0.200 mg·mL⁻¹的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取约1 g的供试品(S1),置锥形瓶中,精密加入含4%浓氨试液的80%甲醇溶液(取浓氨试液4 mL,加80%甲醇至100 mL,摇匀)50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率250 W、频率40 kHz)30 min,放冷,用含4%浓氨试液的80%甲醇溶液补足失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液25 mL,蒸干,残渣用80%甲醇溶解,转移至5 mL量瓶中,加80%甲醇至刻度,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。按上述供试品溶液制备方法,分别制备缺黄芪饮片、酒当归的阴性样品供试品溶液。

色谱条件:以BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm,1.7 μm)为色谱柱;以乙腈-水(32:68)为流动相;蒸发光检测器检测,气体体积流量1.5 L·min⁻¹;漂移管温度为85 °C,增益值为1。

2.3.3 阿魏酸含量测定 参照当归配方颗粒国家药品标准(YBZ-PFKL-2021037)^[10],确定阿魏酸含量测定方法如下:

对照品溶液的制备:取阿魏酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加70%甲醇制成质量浓度为0.500 mg·mL⁻¹的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取约1 g的供试品(S1),精密称定,置锥形瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率250 W、频率50 kHz)30 min后,取出,放冷,用70%甲醇补足失质量,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。按上述供试品溶液制备方法,分别制备缺黄芪饮片、酒当归的阴性样品供试品溶液。

色谱条件:以BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)为色谱柱;以乙腈-0.085%磷酸溶液(17:83)为流动

相;体积流量为 $0.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$;检测波长 316 nm ,进样量为 $2\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.3.4 总多糖含量测定 参照文献报道方法^[11-12],优化、确定总多糖含量测定方法。

对照品溶液的制备:取无水葡萄糖对照品适量,精密称定,置量瓶中,加水制成质量浓度为 $0.400\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,即得。

标准曲线的配制:精密量取对照品溶液 $1、2、3、4、5、6\text{ mL}$,分别置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述各溶液 2 mL ,置具塞试管中,分别加 5% 苯酚溶液 1 mL ,涡旋,混匀,迅速加入硫酸 7.0 mL ,涡旋,混匀,于沸水浴中保温 15 min ,取出,置冰水浴中迅速冷却至室温,取出,以相应试剂为空白,在 490 nm 的波长处测定吸光度(A)值,以 A 值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备及测定方法:取约 0.3 g 的供试品(S_1),精密称定,置 50 mL 量瓶,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL ,加乙醇 26 mL ,涡旋,混匀,离心,取沉淀加水溶解,置 100 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,精密量取 2 mL ,按照标准曲线的制备项下的方法,自“加 5% 苯酚溶液 1 mL ”起,依法测定 A 值,从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的质量(mg),计算,即得。

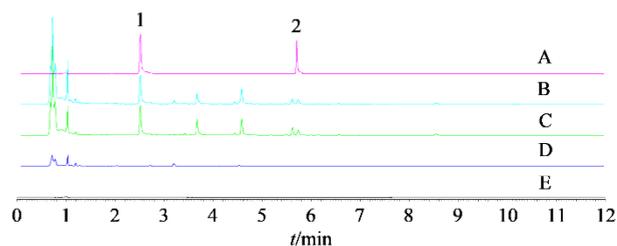
2.3.5 含量测定方法学考察

(1)专属性试验 分别取“2.3.1~2.3.3”项下的各对照品溶液和供试品溶液,按各成分相应的测定方法进行检测,记录色谱图和光谱图,见图7~9。结果表明,样品中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、阿魏酸和黄芪甲苷的分离较好,无阴性干扰。无水葡萄糖对照品溶液和供试品溶液的光谱轮廓一致,最大吸收波长均在 490 nm ,且无空白溶剂干扰。

(2)线性关系考察 精密吸取“2.3.1~2.3.3”项下各对照品溶液适量,用相应溶剂分别稀释配制成6个不同质量浓度的系列对照品溶液。毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸分别按相应色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积对质量浓度进行线性回归,分别绘制标准曲线。总多糖按“2.3.4”项下方法测定,记录 A 值。以 A 值为纵坐标,浓度为横坐标,进行线性回归,绘制标准曲线。

结果如表5所示,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸和总多糖在各自的质量浓度范围内线性关系良好。

(3)精密度试验 分别取“2.3.1~2.3.4”项下的

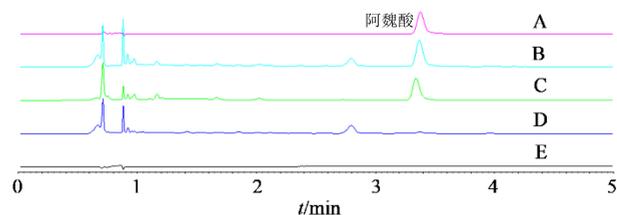


1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷;2-毛蕊异黄酮;A-对照品;B-当归补血汤基准样品;C-酒当归阴性样品;D-黄芪阴性样品;E-空白溶剂

1-glucoside of calycosin; 2-calycosin; A-reference substance; B-reference sample of Danggui Buxue Decoction; C-wine *Angelicae Sinensis Radix* negative sample; D-*Astragali Radix* negative sample; E-blank solvent

图7 当归补血汤基准样品毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮含量测定专属性考察

Fig. 7 Specificity study on content determination of calycosin-7-O- β -D-glucopyranoside and calycosin in reference samples of Danggui Buxue Decoction

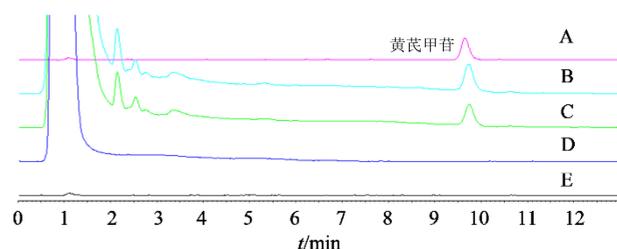


A-对照品;B-当归补血汤基准样品;C-黄芪阴性样品;D-酒当归阴性样品;E-空白溶剂

A-reference substance; B-reference sample of Danggui Buxue Decoction; C-*Astragali Radix* negative sample; D-wine *Angelicae Sinensis Radix* negative sample; E-blank solvent

图8 当归补血汤基准样品阿魏酸含量测定专属性考察

Fig. 8 Specificity study on content determination of ferulic acid in reference samples of Danggui Buxue Decoction



A-空白溶剂;B-黄芪阴性样品;C-酒当归阴性样品;D-当归补血汤基准样品;E-对照品

A-blank solvent; B-*Astragali Radix* negative sample; C-wine *Angelicae Sinensis Radix* negative sample; D-reference sample of Danggui Buxue Decoction; E-reference substance

图9 当归补血汤基准样品黄芪甲苷含量测定专属性考察

Fig. 9 Specificity study on content determination of astragaloside IV in reference samples of Danggui Buxue Decoction

各供试品溶液,按相应的检测方法分别连续测定6次,记录峰面积或 A 值,计算各供试品溶液峰面积和 A 值的RSD值。结果表明,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和阿魏酸峰面积的RSD值分别

表 5 当归补血汤基准样品中各指标成分的线性关系考察结果

Table 5 Linearity study on content determination of index components in reference samples of Danggui Buxue Decoction

| 指标成分 | 回归方程 | <i>r</i> | 线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) |
|-----------|-------------------------|----------|---|
| 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 | $y=24\,587x-7\,472$ | 0.999 9 | 1.2~62.1 |
| 毛蕊异黄酮 | $y=23\,567x-5\,997$ | 0.999 8 | 1.0~60.0 |
| 黄芪甲苷 | $y=1.503\,0x+7.750\,0$ | 0.999 1 | 48.5~291.0 |
| 阿魏酸 | $y=35\,739x+30.336$ | 0.999 9 | 1.0~50.4 |
| 总多糖 | $y=13.120\,8x+0.013\,1$ | 0.999 2 | 8.2~49.2 |

为 0.44%、0.83%、1.03%、0.61%，总多糖 *A* 值的 RSD 值为 0.76%，表明仪器精密度良好。

(4) 重复性试验 取同 1 批基准样品 (S1)，按“2.3.1~2.3.4”项下各供试品溶液要求，分别平行制备 6 份供试品溶液。按相应的检测方法进行测定，记录峰面积和 *A* 值，计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸和总多糖含量的 RSD 值。结果表明，毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸和总多糖平均质量分数分别为 0.078%、0.007%、0.113%、0.033%、6.40%，RSD 值分别为 1.33%、1.24%、0.75%、0.81%、2.13%，表明上述方法重复性良好。

(5) 稳定性试验 取“2.3.1~2.3.4”项下各供试品溶液 (S1) 各 1 份，分别在放置 0、2、4、8、12、16、20、24 h 后检测分析。结果表明，毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸含量的 RSD 值分别为 1.92%、1.11%、1.67%、1.64% 表明在 24 h 内稳定。总多糖含量的 RSD 值为 2.01%，在 8 h 内稳定。

(6) 加样回收率试验 取已知含量的基准样品 (S1)，分别以指标成分含量的 50%、100% 和 150% 的比例加入各对照品，按“2.3.1~2.3.4”项下各供试品溶液要求平行制备 3 份供试品溶液，按“2.3”项下相应的检测方法进行测定，计算各指标成分的回收率。结果表明，毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、阿魏酸和总多糖的平均加样回收率分别为 97.6%、98.2%、102.1%、104.4%、101.5%，RSD 值分别为 2.0%、2.7%、3.8%、2.0%、0.9%。

2.3.6 样品含量测定 取 26 批当归补血汤基准样品供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进行测定，结果见表 6。26 批当归补血汤基准样品的毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮的平均质量分数为 0.108%，均值 \pm 30% 为 0.075%~0.140%；阿魏酸的平均质量

表 6 26 批当归补血汤基准样品 5 种指标成分的含量
Table 6 Contents of five index components in 26 batched of reference samples of Danggui Buxue Decoction

| 批号 | 毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮/% | 阿魏酸/% | 黄芪甲苷/% | 总多糖/% |
|--------------|-------------------|-------------|-------------|-----------|
| S1 | 0.110 | 0.030 | 0.182 | 4.78 |
| S2 | 0.100 | 0.031 | 0.102 | 5.23 |
| S3 | 0.083 | 0.050 | 0.182 | 7.42 |
| S4 | 0.086 | 0.046 | 0.146 | 8.13 |
| S5 | 0.117 | 0.035 | 0.121 | 6.98 |
| S6 | 0.113 | 0.034 | 0.143 | 8.27 |
| S7 | 0.087 | 0.032 | 0.129 | 6.40 |
| S8 | 0.110 | 0.027 | 0.111 | 5.49 |
| S9 | 0.090 | 0.031 | 0.176 | 7.93 |
| S10 | 0.089 | 0.034 | 0.210 | 8.41 |
| S11 | 0.085 | 0.029 | 0.130 | 9.85 |
| S12 | 0.104 | 0.025 | 0.134 | 8.55 |
| S13 | 0.112 | 0.034 | 0.134 | 7.49 |
| S14 | 0.115 | 0.027 | 0.139 | 6.57 |
| S15 | 0.120 | 0.049 | 0.137 | 8.20 |
| S16 | 0.163 | 0.028 | 0.182 | 6.74 |
| S17 | 0.109 | 0.025 | 0.123 | 3.78 |
| S18 | 0.120 | 0.046 | 0.131 | 6.65 |
| S19 | 0.067 | 0.025 | 0.166 | 4.05 |
| S20 | 0.073 | 0.037 | 0.149 | 4.10 |
| S21 | 0.098 | 0.029 | 0.112 | 5.92 |
| S22 | 0.197 | 0.032 | 0.167 | 4.73 |
| S23 | 0.094 | 0.039 | 0.125 | 6.48 |
| S24 | 0.096 | 0.027 | 0.157 | 5.43 |
| S25 | 0.084 | 0.030 | 0.209 | 8.52 |
| S26 | 0.176 | 0.030 | 0.129 | 7.83 |
| 均值 | 0.108 | 0.033 | 0.147 | 6.69 |
| 均值 \pm 30% | 0.075~0.140 | 0.023~0.043 | 0.103~0.191 | 4.69~8.70 |

分数为 0.033%，均值 \pm 30% 为 0.023%~0.043%；黄芪甲苷的平均质量分数为 0.147%，均值 \pm 30% 为 0.103%~0.191%；总多糖的平均质量分数为 6.65%，均值 \pm 30% 为 4.66%~8.65%。

3 讨论

当归补血汤的药效物质基础包括皂苷、黄酮、苯胺、苯丙素、碱基、核苷、糖类等，采用单一的检测手段难以获得全面的谱图信息^[13]。本研究依据药效成分特性建立多维指纹图谱。其中，黄酮、苯胺、苯丙素等多具有共轭基团，指纹图谱 I 采用 PDA 检测器，在优选的 260 nm 波长下色谱峰信息更为丰

富,共捕获已知黄酮成分4个、酚酸2个、苯胺2个。参考文献报道方法^[14-15],指纹图谱II采用ELSD可获取8个紫外吸收较弱的黄芪皂苷类成分,弥补常规紫外检测器的不足。反相色谱无法保留水煎煮所得的大极性成分,是目前经典名方药效物质基础研究的难点。本研究采用HILIC模式建立指纹图谱III,同在260 nm波长延伸检测到指纹图谱I反相模式下无法保留的14个强极性成分。3个指纹图谱方法基于UPLC下开发,总分析时间73 min内可反映32个特征共有成分,相似度均高于0.9,具有分析时间短、互补性强、稳定性高、信息丰富的特点。此外,经过提取溶剂、方法和时间等供试品溶液制备方法优化,3个指纹图谱方法共用同1份供试品溶液,进一步提高日常质量检测的便捷性。

指导原则要求建立多指标含量测定进行整体质量研究。《中国药典》2020年版一部当归和黄芪的“含量测定”项分别收载了阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷。有报道指出毛蕊异黄酮活性强,水煎煮过程较稳定,适合作为黄芪饮片及其制剂的含量测定的指标成分^[16]。本研究发现,毛蕊异黄酮葡萄糖苷和毛蕊异黄酮单个成分在26批基准样品的离散程度均较大,RSD值分别达56.4%和62.5%,部分批次不符合均值±30%范围。但以二者总量计算,离散程度明显缩小,RSD值降至28.0%,考虑到2个异黄酮成分的母核相同,生物活性相近,制定二者总量均值±30%的限度范围或更适用于当归补血汤基准样品的质量评价。毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、阿魏酸和黄芪甲苷4个指标成分的总量在基准样品中仅占约0.3%,不足以有效反映物质基础的相关性。当归补血汤总多糖可提高机体免疫和造血功能,与补气生血功效密切相关,是当归补血汤的质量标志物^[17]。26批当归补血汤基准样品总多糖含量较高,均值大于4%,且离散程度较小,绝大部分批次均可落入均值±30%范围内,可作为基准样品含量测定的指标性成分。

基准样品是古代经典名方实现“古为今用”的重要桥梁。当归补血汤复方制剂需要经历提取、浓缩、干燥和成型的全过程,高温加热、水解、氧化等外界影响因素容易引起水溶性物质基础的内在变化。因此,为了实现制剂的全过程质量控制和量值传递关系分析,后续工作将引入基准样品的指纹图谱、含量测定等质控方法和质量标准到“饮片-中间体-颗粒”整个制剂生产链中,探讨不同组分的变化趋势,从当归补血汤复方制剂角度,建立全面性、科

学性和适用性的质量控制方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局药品审评中心. 关于发布《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》的通告(2021年第36号)[EB/OL]. (2021-08-31)[2022-02-27]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/1c18dd163e7c9221786e5469889367d0>. Center for Drug Evaluation, State Medical Products Administration. Notice on Promulgations of Technical Guidelines for Pharmaceutical Research of TCM Compound Preparations Managed According to the Catalogue of Ancient Classic and Famous Prescriptions (Trial) (No. 36 of 2021)[EB/OL]. (2021-08-31)[2022-02-27]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/1c18dd163e7c9221786e5469889367d0>.
- [2] 金·李东垣著,田翠时校注. 内外伤辨惑论[M]. 北京:中国医药科技出版社,2011. (Jin) Written by Li D Y, annotated by Tian C S. *Differentiation of Internal and External Wounds* [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2011.
- [3] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知[EB/OL]. (2018-04-16)[2022-02-27]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>. National Administration of Traditional Chinese Medicine (NATCM). About release « ancient classic square directory (first batch) » notice [EB/OL]. (2018-04-16)[2022-02-27]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [4] 靳如娜,齐晓甜,孙蓉,等. 经典名方当归补血汤的药效物质基础和质量控制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(16):220-228. Jin R N, Qi X T, Sun R, et al. Research progress on pharmacodynamic material basis and quality control of Danggui buxue Tang [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2019, 25(16): 220-228.
- [5] 杨飞霞,王玉,夏鹏飞,等. 当归补血汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志,2021,46(11):2677-2685. Yang F X, Wang Y, Xia P F, et al. Review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of Danggui Buxue Decoction and prediction and analysis of its Q-markers [J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(11): 2677-2685.

- [6] 曾宇, 张三印, 胡冠英. 当归补血汤的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2016(2): 422-424.
Zhang M Z, Guan L C, Chen Y J, et al. Research progress of *Angelica* blood-enriching decoction [J]. Lishizhen J Tradit Chin Med, 2016(2): 422-424.
- [7] 胡静, 李科, 李爱平等. 当归补血汤物质基础研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5658-5663.
Hu J, Li K, Li A P, et al. Research progress on material basis of Danggui Buxue Decoction [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(21): 5658-5663.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [9] 国家药典委员会. 国家药品监督管理局国家药品标准——黄芪(蒙古黄芪)配方颗粒 [EB/OL]. (2021-04-29) [2022-02-27]. <https://www.chp.org.cn/ydw/u/cms/www/202104/281554245rtc.pdf>.
National Pharmacopoeia Commission. National Drug Standard of National Medical Products Administration - Huangqi (Mengguhuangqi) Peifangkeli [EB/OL]. (2021-04-29) [2022-02-27]. <https://www.chp.org.cn/ydw/u/cms/www/202104/281554245rtc.pdf>.
- [10] 国家药典委员会. 国家药品监督管理局国家药品标准——当归配方颗粒 [EB/OL]. (2021-04-29) [2022-02-27]. <https://www.chp.org.cn/ydw/u/cms/www/202104/28154911mguw.pdf>.
National Pharmacopoeia Commission. National Drug Standard of National Medical Products Administration - Danggui Peifangkeli [EB/OL]. (2021-04-29) [2022-02-27]. <https://www.chp.org.cn/ydw/u/cms/www/202104/28154911mguw.pdf>.
- [11] 李霞, 马家骅, 李楠, 等. 当归补血汤相状态的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 1-5.
Li X, Ma J H, Li N, et al. Study on phase state of Danggui Buxue Decoction [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(2): 1-5.
- [12] 赵强强, 韩丽, 潘媛, 等. 黄芪中黄芪多糖含量的测定 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(7): 29-30, 37.
Zhao Q Q, Han L, Pan Y, et al. Determination of *Astragalus* polysaccharides in *Astragalus* [J]. Mod Chin Med, 2011, 13(7): 29-30, 37.
- [13] 雷冬梅, 姚长良, 陈雪冰, 等. 基于RP-Q-TOF-MS和HILIC-Q-TOF-MS的经典名方当归补血汤成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2109-2120.
Lei D M, Yao C L, Chen X B, et al. Analysis of chemical constituents in classical prescription Danggui Buxue Decoction based on RP-Q-TOF-MS and HILIC-Q-TOF-MS [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(8): 2109-2120.
- [14] 王伟, 李家春, 刘俊超, 等. HPLC-CAD法同时测定注射用芪红脉通中的7个黄芪皂苷类成分 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(1): 24-28.
Wang W, Li J C, Liu J C, et al. Simultaneous determination of seven astragalosides in Qihong Maitong injection by HPLC with charged aerosol detector [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(1): 24-28.
- [15] 覃红萍, 鲁静, 林瑞超. HPLC-ELSD法测定黄芪药材中黄芪皂苷I、II、III、IV [J]. 中草药, 2009, 40(3): 471-473.
Qin H P, Lu J, Lin R C. Determination of astragaloside I, II, III and IV in *Radix Astragalus* by HPLC-ELSD [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2009, 40(3): 471-473.
- [16] 王东博, 赵曼佳, 代云桃, 等. 黄芪分析方法的优化和黄芪标准汤剂的质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 119-123.
Wang D B, Zhao M J, Dai Y T, et al. Optimization of analysis methods for *Astragali Radix* and quality evaluation of standard decoction of *Astragali Radix* [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(1): 119-123.
- [17] Lin P L, Li Z C, Xie R F, et al. Compatibility study of Danggui buxue Tang on chemical ingredients, angiogenesis and endothelial function [J]. Sci Rep, 2017, 7: 45111.

[责任编辑 兰新新]