

UPLC 法同时测定乙肝宁颗粒中的 10 种指标成分

王 蕾^{1,2}, 李果果³, 韩 旭¹

1. 天津市第二人民医院, 天津 300192

2. 天津市肝病医学研究所, 天津 300192

3. 天津中医药大学, 天津 301617

摘要: **目的** 建立同时测定乙肝宁颗粒中 10 种指标成分的 UPLC 方法, 为乙肝宁颗粒的质量控制提供科学依据。**方法** 采用 UPLC-DAD 法, 色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-甲醇-0.15%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 45 °C, 进样量 2 μL。**结果** 同时测定了乙肝宁颗粒中绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 10 种有效成分, 各成分在考察的质量浓度范围内线性关系良好($r \geq 0.999 0$), 检测限与定量限分别为 0.006~0.017 μg/mL 和 0.017~0.510 μg/mL, 平均加样回收率为 98.8%~102.5%, RSD 为 1.13%~5.37%。通过对 16 个批次样品的测定, 上述 10 种成分的平均质量浓度依次为 (5.724±0.017)、(0.273±0.003)、(0.854±0.005)、(1.228±0.004)、(0.496±0.003)、(1.287±0.004)、(0.137±0.004)、(3.624±0.014)、(7.366±0.032)、(1.754±0.005) mg/g。**结论** 所建立的 UPLC 方法简单、专属、灵敏, 可用于乙肝宁颗粒质量控制和评价。**关键词:** 乙肝宁颗粒; UPLC; 绿原酸; 白术内酯 I; 芍药苷; 毛蕊异黄酮苷; 二苯乙烯苷; 咖啡酸; 川楝素; 山柰素; 丹皮酚; 丹参酮 II_A

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)22-5754-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.012

Simultaneous determination of 10 active ingredients in Yiganning Granules by UPLC

WANG Lei^{1,2}, LI Guo-guo³, HAN Xu¹

1. Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China

2. Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300192, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: **Objective** To establish a UPLC method to simultaneously determine 10 active ingredients in Yiganning Granules (YG) and provide scientific basis for the quality control, evaluation and standard revision of YG preparations. **Methods** A UPLC method was used with an Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). The mobile phase was acetonitrile-methanol-0.15% phosphoric acid solution with gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min. The column temperature was 45 °C. The injection volume was 2 μL. **Results** Ten active ingredients (chlorogenic acid, atractylenolide I, paeoniflorin, calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, stilbene glycoside, caffeic acid, toosendanin, kaempferol, paeonol and tanshinone II_A) in YG were simultaneously determined. The linearity was good ($r \geq 0.999 0$), the limit of detection and quantification were 0.006—0.017 μg/mL and 0.017—0.510 μg/mL. The average recoveries were 98.8%—102.5% with RSDs of 1.13%—5.37%. Through the determination of 16 batches of samples, the average content of the above 10 ingredients was in turn (5.724 ± 0.017), (0.273 ± 0.003), (0.854 ± 0.005), (1.228 ± 0.004), (0.496 ± 0.003), (1.287 ± 0.004), (0.137 ± 0.004), (3.624 ± 0.014), (7.366 ± 0.032) and (1.754 ± 0.005) mg/g, respectively. **Conclusion** The established UPLC method is simple, specific, sensitive, stable, precise, accurate, and reproducible, which can be used for quality control and evaluation of YG.

Key words: Yiganning Granules; UPLC; chlorogenic acid; atractylenolide I; paeoniflorin; calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside; stilbene glycoside; caffeic acid; toosendanin; kaempferol; paeonol; tanshinone II_A

收稿日期: 2020-06-26

基金项目: 天津市科技计划项目 (No. 18YFZCSY00015)

作者简介: 王 蕾, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为临床药学与药物质量控制研究。Tel: 13920742682 E-mail: wlru@163.com

乙肝宁颗粒(Yiganning Granules, YG)是由白花蛇舌草、白芍、白术、川楝子、丹参、党参、茯苓、黄芪、金钱草、茵陈、牡丹皮、蒲公英、制何首乌 13 味药材提取物组成的复方制剂,收载于《中国药典》2020 年版一部,具有补气健脾、活血化瘀、清热解毒的功效,用于慢性肝炎属脾气虚弱、血瘀阻络、湿热毒蕴证,症见胁痛、腹胀、乏力、尿黄;对急性肝炎属上述症候者亦有一定的疗效^[1-8]。方中黄芪补气健脾利水;茵陈蒿清热利湿,退黄疸;丹参活血祛瘀,通络止痛,三药共为方中之君药。辅以金钱草、蒲公英、白花蛇舌草助茵陈蒿清热利湿、退黄疸;党参、白术、茯苓补气健脾,燥湿利湿,以增强黄芪扶正祛邪之功;丹皮活血祛瘀,清热凉血。佐以何首乌滋补肝肾之阴;川楝子清热行气止痛;白芍养血柔肝,缓急止痛。诸药合用,共奏调气健脾,清热利胆,活血化瘀之功。

《中国药典》2020 年版中 YG 的含量测定方法为 HPLC 测定黄芪甲苷的含量,只对一种君药进行了控制,文献中对于该中成药的指标成分测定包括川楝素、二苯乙烯苷与芍药苷,都是针对单一成分进行测定,并不能全面反映该药的质量^[9-12]。

文献报道绿原酸可以抑制 HBV,其机制是通过抑制 HBV-DNA 复制以及乙型肝炎表面蛋白抗原的产生^[13];白术内酯 I 够使促进炎症巨噬细胞细胞因子表达发生显著变化,具有抗炎活性^[14];芍药苷对非酒精性脂肪肝、化学性肝损伤、放射性肝损伤、免疫性炎症肝损伤、缺血再灌注肝损伤等疾病均有一定的治疗作用^[15];毛蕊异黄酮苷、咖啡酸、川楝素具有抗病毒作用^[16-18];二苯乙烯苷通过抑制过氧化脂质在肝脏中沉积实现保肝护肝作用^[19];山柰素具有抗炎作用^[20];丹皮酚对于肝癌大鼠有明显的降低肝损伤^[21];丹参酮 II_A 以剂量依赖性的方式抑制裸鼠 HepG2 肿瘤细胞的增殖^[22]。

因此,本实验选择绿原酸、白术内酯 I^[23]、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 10 种成分作为其指标成分,通过超高效液相色谱仪建立了同时测定 10 种指标成分含量的方法,为更好、更快控制其质量提供研究基础。

1 仪器与材料

Waters Acquity 超高效液相色谱仪,软件为 Empower 3.0,美国 Waters 公司;Mettler Toledo XSR105/AC 电子天平,瑞士 Mettler Toledo 公司;

KQ400ES 超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司。

对照品二苯乙烯苷(110123-210005,质量分数 99.4%)、绿原酸(批号 110753-201817,质量分数 96.8%)、芍药苷(批号 110736-201842,质量分数 97.4%)、毛蕊异黄酮苷(批号 110715-201826,质量分数 96.8%)、丹参酮 II_A(批号 110766-201721,质量分数 99.5%)、咖啡酸(批号 110885-201703,质量分数 99.7%)、川楝素(批号 111842-201804,质量分数 96.9%)、山柰素(批号 110861-201812,质量分数 93.8%)、丹皮酚(批号 110708-201407,质量分数 99.9%),中国食品药品检定研究院提供;白术内酯 I(批号 201818,质量分数 99.2%),上海云顶生物技术公司提供。

白花蛇舌草 *Spreading Hedyotis Herb*、白芍 *Paeoniae Radix Alba*、白术 *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma*、川楝子 *Toosendan Fructus*、丹参 *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*、党参 *Codonopsis Radix*、茯苓 *Poria*、黄芪 *Astragali Radix*、金钱草 *Lysimachiae Herb*、茵陈 *Artemisiae Scopariae Herb*、牡丹皮 *Moutan Cortex*、蒲公英 *Taraxaci Herb*、制何首乌 *Polygoni Multiflori Radix* 均购自天津市第二人民医院,其基原植物白花蛇舌草为茜草科耳草属植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd.的全草,白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall.的干燥根,白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz.的干燥根茎,川楝子为楝科植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc.的干燥成熟果实,丹参为唇形科植物丹参 *miltiorrhiza* Bge.的干燥根和根茎,党参为桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv.的干燥根,茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,黄芪为豆科黄芪属植物黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根茎,金钱草为报春花科植物过路黄 *Lysimachia christinae* Hance 的干燥全草,茵陈为菊科植物茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb.的干燥地上部分,牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr.的干燥根皮,何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multijiorum* Thunb.的干燥块根。

YG,规格 17 g/袋,共 16 个批次,九芝堂股份有限公司,批号为 171012、171025、171101、171215、180409、180802、181023、181028;广西半亩大康制药有限公司,批号为 190801、190911、190915、191122、200102、200105、200106、200107;分别

编号为 S1~S16。乙腈与甲醇为色谱纯，其他试剂为分析纯，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 A 为乙腈-甲醇 (1:1), 流动相 B 为 0.15% 磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~10 min, 5%~11% A; 10~15 min, 11%~31% A; 15~19 min, 31%~71% A; 19~20 min, 71%~5% A; 20~25 min, 5% A; 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 45 °C, 进样量 2 μL。变波长扫描测定: 0~4.0 min 为 327 nm, 4.0~6.0 min 为 220 nm, 6.0~7.0 min 为 270 nm, 7.0~12.0 min 为 320 nm, 12.0~13.0 min 为 210 nm, 13.0~15.0 min 为 360 nm, 15.0~20.0 min 为 270 nm, 20.0~25.0 min 为 327 nm。

2.2 溶液的制备

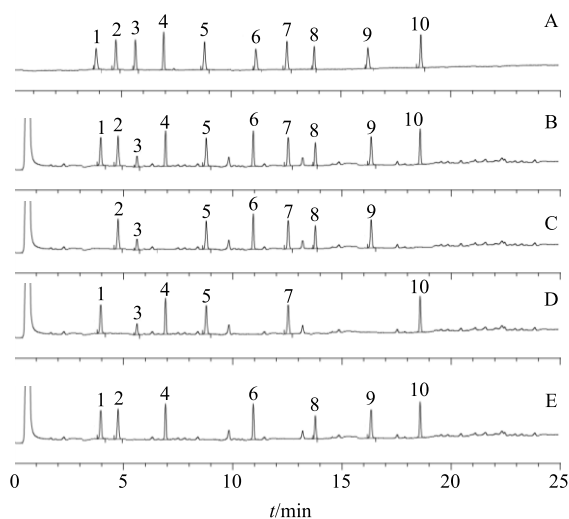
2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 对照品适量, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇-乙腈-水 (40:30:30) 溶解并定容, 摇匀, 得质量浓度分别为 200、10、20、25、15、30、10、60、300、35 μg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品, 取适量, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 50% 乙醇 250 mL, 称定质量, 超声处理 15 min, 放冷, 再称定质量, 用 50% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 离心, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按 YG 处方比例和工艺, 分别制备缺少黄芪、茵陈、丹参药材的阴性对照样品; 缺少金钱草、蒲公英、白花蛇舌草、党参、白术、茯苓、丹皮药材的阴性对照样品; 缺少何首乌、川楝子、白芍药材的阴性对照样品; 并按“2.2.2”项下方法制备各阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密移取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图 (图 1-A)。所有峰的理论板数均大于 2 000, 相邻峰之间分离度均大于 1.5。精密移取“2.2.2”项下供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图 (图 1-B)。所有峰的理论板数均大于 20 000, 相邻峰之间的分离度均大于 1.2。



1-绿原酸 2-白术内酯 I 3-芍药苷 4-毛蕊异黄酮苷 5-二苯乙烯苷 6-咖啡酸 7-川楝素 8-山柰素 9-丹皮酚 10-丹参酮 II_A
1-chlorogenic acid 2-atractylenolide I 3-paeoniflorin 4-calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside 5-stilbene glycoside 6-caffeic acid 7-toosendanin 8-kaempferol 9-paeonol 10-tanshinone II_A

图 1 混合对照品 (A)、样品 (B)、缺黄芪、茵陈、丹参 (C)、缺金钱草、蒲公英、白花蛇舌草、党参、白术、茯苓、丹皮 (D)、缺何首乌、川楝子、白芍 (E) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC of mixed reference solution (A), test solution (B), negative control solution without *Astragali Radix*, *Artemisiae Scopariae Herba*, *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (C), *Lysimachiae Herba*, *Taraxaci Herba*, *Hedyotis diffusa*, *Codonopsis Radix*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Poria*, *Moutan Cortex* (D), and *Polygoni Multiflori Radix*, *Toosendan Fructus*, *Paeoniae Radix Alba* (E)

2.4 线性关系考察

精密移取“2.2.1”项下混合对照品溶液, 用 50% 乙醇稀释, 摇匀, 得系列混合对照品溶液, 其中绿原酸 0.34~120.00 μg/mL, 白术内酯 I 0.017~6.000 μg/mL, 芍药苷 0.034~12.000 μg/mL, 毛蕊异黄酮苷 0.043~15.000 μg/mL, 二苯乙烯苷 0.026~9.000 μg/mL, 咖啡酸 0.051~18.000 μg/mL, 川楝素 0.017~6.000 μg/mL, 山柰素 0.10~36.00 μg/mL, 丹皮酚 0.51~180.00 μg/mL, 丹参酮 II_A 0.06~21.00 μg/mL。取上述混合对照品溶液按“2.1”项下色谱条件测定各成分峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得回归方程, 用流动相将对照品溶液多步稀释后, 逐一进样, 以信噪比不小于 10 确定定量限 (LOQ), 以信噪比不小于 3 确定检测限 (LOD), 得检测限与定量限, 结果见表 1。结果表明, 10 种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好。

表 1 10 种有效成分的回归方程、线性范围、检测限与定量限

Table 1 Regression equation, linear range, limits of detection (LODs), and limits of quantification (LOQs) of 10 ingredients

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
绿原酸	$Y=4\,251\,X-1\,128$	0.999 8	0.340~120	0.110	0.340
白术内酯 I	$Y=1\,278\,X+56.17$	0.999 1	0.017~6	0.006	0.017
芍药苷	$Y=128.6\,X+2.674$	0.999 2	0.034~12	0.010	0.034
毛蕊异黄酮苷	$Y=12.69\,X+9.412$	0.999 2	0.043~15	0.010	0.043
二苯乙烯苷	$Y=536.8\,X-22.51$	0.999 1	0.026~9	0.008	0.026
咖啡酸	$Y=634.8\,X+226.4$	0.999 2	0.051~18	0.017	0.051
川楝素	$Y=115.8\,X-476.8$	0.999 1	0.017~6	0.006	0.017
山柰素	$Y=113.8\,X+10.22$	0.999 4	0.100~36	0.030	0.100
丹皮酚	$Y=383.4\,X-481.7$	0.999 9	0.510~180	0.170	0.510
丹参酮 II _A	$Y=23.94\,X-3.672$	0.999 5	0.060~21	0.020	0.060

2.5 精密度试验

精密移取“2.4”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,进样 6 次,计算得绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 各成分的 RSD 依次为 2.3%、3.8%、3.2%、1.2%、1.6%、1.4%、4.3%、0.5%、0.8%、1.0%,均小于 5%。结果表明,方法的精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取 YG(批号 171012)6 份,分别按“2.2.2”项下方法制备样品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,计算得样品溶液中绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 质量浓度的 RSD 依次为 1.6%、3.2%、2.4%、0.6%、2.5%、1.6%、2.9%、1.5%、2.1%、1.7%,均小于 5%。结果表明,方法的重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取 YG(批号 171012) 0.25 g,加入混合对照品溶液适量,混匀,得混合供试品溶液(混合对照品配制 3 个质量浓度,分别相当于供试品中各成分质量浓度的 50%、100%、150%,每个质量浓度平行操作 3 份),按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,以外标法计算得样品溶液中绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 的加样平均回收率依次为 100.5%、102.5%、101.2%、101.1%、98.8%、99.6%、102.8%、100.1%、99.9%、101.4%,RSD 依次为 2.14%、2.53%、1.52%、2.15%、

2.63%、1.52%、2.88%、1.13%、1.72%、2.41%,均小于 5%。结果表明,方法的准确度良好。

2.8 耐用性试验

保持其他条件不变,分别考察体积流量、流动相起始比例、柱温、不同色谱柱、不同品牌仪器的微小变化对样品检测的影响。分别改变体积流量(0.30±0.01) mL/min、流动相起始比例(5%有机相比例±0.5%)、柱温(45±2)℃、磷酸水溶液浓度(体积分数 0.15%±0.01%)、不同色谱柱,不同品牌仪器,在初始条件及上述各条件下,分别进样对照溶液,供试品溶液,按规定色谱条件测定,按外标法计算样品中各指标含量。初始条件与各色谱条件变化下含量 RSD 均不大于 5%。

2.9 稳定性试验

精密称取 YG(批号 171012) 适量,按“2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液,室温放置 0、1、2、4、6、8、12、24 h,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,计算得样品溶液中绿原酸、白术内酯 I、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、咖啡酸、川楝素、山柰素、丹皮酚、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 依次为 2.11%、4.54%、3.12%、3.15%、4.27%、3.33%、4.66%、2.03%、1.39%、2.51%,均小于 5%。试验结果表明,供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.10 样品测定

精密称取 YG 8 批,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,每批平行测定 3 份,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,计算 YG 中各成分的质量分数,结果见表 2。对比测定结果,发现 16 批 2 个厂家的 YG 中,2 个厂家的各个成分的含量是有差

表 2 YG 中 10 种成分的含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Content of 10 ingredients in YG ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
	绿原酸	白术内酯 I	芍药苷	毛蕊异黄酮苷	二苯乙烯苷	咖啡酸	川楝素	山柰素	丹皮酚	丹参酮 II _A
S1	5.183±0.011	0.313±0.002	0.854±0.006	1.112±0.005	0.573±0.004	1.325±0.002	0.159±0.001	3.224±0.012	7.511±0.047	1.538±0.009
S2	5.129±0.015	0.355±0.003	0.812±0.001	1.175±0.001	0.598±0.005	1.369±0.001	0.151±0.003	3.368±0.017	7.634±0.049	1.566±0.003
S3	5.155±0.013	0.374±0.001	0.863±0.005	1.213±0.001	0.512±0.001	1.383±0.005	0.169±0.002	3.342±0.013	7.722±0.037	1.583±0.004
S4	5.314±0.018	0.388±0.002	0.899±0.008	1.161±0.008	0.623±0.008	1.377±0.003	0.164±0.002	3.336±0.018	7.548±0.022	1.611±0.006
S5	5.163±0.012	0.393±0.006	0.814±0.009	1.183±0.002	0.617±0.003	1.313±0.004	0.153±0.006	3.328±0.017	7.623±0.016	1.627±0.008
S6	5.191±0.017	0.309±0.004	0.876±0.003	1.222±0.004	0.556±0.003	1.333±0.002	0.171±0.004	3.359±0.013	7.842±0.028	1.649±0.008
S7	5.233±0.016	0.363±0.004	0.839±0.001	1.138±0.007	0.591±0.004	1.349±0.007	0.166±0.008	3.474±0.019	7.433±0.031	1.555±0.009
S8	5.253±0.019	0.353±0.007	0.866±0.008	1.141±0.003	0.543±0.002	1.416±0.006	0.153±0.003	3.454±0.011	7.573±0.024	1.515±0.007
S9	5.635±0.022	0.302±0.003	0.811±0.003	1.284±0.001	0.421±0.001	1.211±0.003	0.112±0.002	3.834±0.011	7.122±0.041	1.965±0.008
S10	5.704±0.019	0.254±0.004	0.804±0.002	1.299±0.002	0.413±0.002	1.231±0.005	0.104±0.002	3.896±0.011	7.115±0.042	1.988±0.003
S11	5.611±0.017	0.263±0.002	0.814±0.001	1.275±0.005	0.416±0.002	1.234±0.001	0.109±0.005	3.911±0.015	7.106±0.038	1.887±0.005
S12	5.628±0.024	0.274±0.001	0.819±0.006	1.297±0.006	0.411±0.007	1.205±0.002	0.121±0.003	3.877±0.019	7.128±0.033	1.893±0.002
S13	5.649±0.016	0.241±0.005	0.806±0.006	1.284±0.003	0.431±0.002	1.217±0.005	0.123±0.005	3.905±0.012	7.123±0.019	1.926±0.003
S14	5.711±0.019	0.263±0.002	0.833±0.005	1.286±0.005	0.427±0.005	1.222±0.006	0.111±0.003	3.914±0.011	7.116±0.029	1.937±0.006
S15	5.821±0.012	0.288±0.002	0.831±0.002	1.277±0.003	0.406±0.001	1.203±0.003	0.106±0.007	3.886±0.014	7.133±0.034	1.922±0.004
S16	5.627±0.021	0.273±0.003	0.821±0.007	1.294±0.004	0.402±0.002	1.205±0.004	0.117±0.004	3.879±0.013	7.124±0.027	1.898±0.002

异的, 其中, 丹皮酚与绿原酸的含量比较高, 川楝素、白术内酯 I、二苯乙烯苷的含量比较低。上述 10 种成分的平均质量分数依次为 (5.724±0.017)、(0.273±0.003)、(0.854±0.005)、(1.228±0.004)、(0.496±0.003)、(1.287±0.004)、(0.137±0.004)、(3.624±0.014)、(7.366±0.032)、(1.754±0.005) mg/g。

3 讨论

3.1 确定指标成分

《中国药典》2020 年版中, YG 只用蒸发光散射检测器测定黄芪甲苷, 不仅不能够全面客观反映该中成药的质量, 同时蒸发光检测器的不稳定性和低灵敏度也会影响测定的准确性。本实验通过对该中成药进行组方分析, 参考《中国药典》2020 年版中各味药材的质量标准, 确定了该中成药的 10 种指标成分, 分别为茵陈中的绿原酸、白术中的白术内酯 I、白芍中的芍药苷、黄芪中的毛蕊异黄酮苷、何首乌中的二苯乙烯苷、蒲公英中的咖啡酸、川楝子中的川楝素、金钱草中的山柰素、牡丹皮中的丹皮酚、丹参中的丹参酮 II_A。相对于文献和药典能够更加全面地评价该中成药的质量。

3.2 色谱条件的优化

由于指标成分比较多, 采用 UPLC 法进行测定,

在同样条件下, UPLC 能分离的色谱峰比 HPLC 多出一倍还多。同时考察了多种填料的色谱柱, 包括苯基柱、C₃₀ 柱、C₈ 柱、氨基柱、C₁₈ 柱, 最终优选 C₁₈ 柱。流动相的优选是基于对于多种成分的分度, 同时还要避免中药中复杂成分对指标成分的干扰, 考察了乙酸系统、甲酸系统、磷酸系统等, 优选磷酸系统, 在磷酸系统下各成分的峰型较好, 分离度也符合要求。

3.3 制备供试品溶液方法的优化

基于更有利于各指标成分的测定, 本实验未按照中国药典的要求制备供试品溶液, 采用 50%乙醇进行提取, 同时系统考察了提取溶剂的用量, 超声时间, 最终确定最优的制备供试品溶液的方法。

本实验采用 UPLC 技术, 完成了 YG 中 10 种指标成分的同时测定, 并对方法进行了全面系统的验证, 并对 16 批样品进行了测定, 为乙肝宁颗粒的质量控制提供研究基础。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
- [2] 伍一文, 张登科, 喻长远. 乙肝宁颗粒对肝损伤动物模型的保肝降酶及免疫调节作用的研究 [J]. 湖南中医学院学报, 2001, 21(2): 14-15.

- [3] 杨恭友. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性肝炎疗效分析 [J]. 中草药, 1998, 29(5): 357-357.
- [4] 陈丽艳, 王洪荣, 曹铁公, 等. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性乙型肝炎 54 例疗效观察 [J]. 中草药, 1998, 29(11): 791-792.
- [5] 王津生, 刘宏元, 路福兴, 等. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性乙型肝炎的疗效观察 [J]. 中草药, 1998, 29(4): 285-286.
- [6] 陈 珊, 龙云升, 伍灵南, 等. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性乙型肝炎的临床观察 [J]. 中国实用医药, 2018, 13(35): 104-105.
- [7] 田夏元, 喻长远. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性乙型肝炎的临床观察 [J]. 中成药, 1999, 21(7): 355-356.
- [8] 戴 庆, 何 杰. 乙肝宁颗粒剂治疗慢性肝炎效果临床观察 [J]. 传染病药学, 2003, 13(1): 20-21.
- [9] 曹湘萍, 梁建宁, 何晓艳, 等. HPLC-ELSD 法测定乙肝宁颗粒中黄芪甲苷含量 [J]. 中成药, 2005, 27(2): 165-167.
- [10] 张秋蓉, 周 浓, 杨 敏. HPLC 测定乙肝宁颗粒中川楝素 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 78-80.
- [11] 尹思泳, 陈钟扬, 梁华伦, 等. HPLC 法测定乙肝宁颗粒中二苯乙烯苷含量 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(15): 11-12.
- [12] 李 丹, 姜家书, 付 彬. 高效液相色谱法测定乙肝宁颗粒中芍药苷含量 [J]. 河南中医, 2010, 30(5): 450-451.
- [13] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.
- [14] 张晓娟, 左冬冬. 白术化学成分及药理作用研究新进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(6): 101-106.
- [15] 张育贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3735-3740.
- [16] 李亮亮, 黄金智. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷药理作用的研究进展 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(2): 156-160.
- [17] 孙皓熠, 郝宝燕, 张浩超, 等. 咖啡酸研究概况 [J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 151-154.
- [18] 骆玮玮, 陆金健, 陈修平, 等. 川楝素的药理作用及机制研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(4): 161-164.
- [19] 鲁 坚, 侯双菊, 千 梅, 等. 二苯乙烯苷的研究进展 [J]. 安徽化工, 2006, 141(3): 10-13.
- [20] 周运江, 王 虎, 李 丽, 等. 山柰酚对脂多糖诱导的肥大细胞炎症反应的抑制作用 [J]. 药学学报, 2015, 50(6): 702-707.
- [21] 胡云飞, 徐国兵. 牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展 [J]. 安徽医药, 2014, 18(4): 589-592.
- [22] 刘 璐, 张丽娟, 闵 瑶, 等. 丹参酮IIA 药理作用的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2020, 41(3): 212-214.
- [23] 段 启, 李彩萍, 赵珍东, 等. 高效液相色谱法测定清炒白术中白术内酯 I、II、III [J]. 中南药学, 2009, 7(5): 321-323.