

## UHPLC 法分析补肺活血胶囊中 12 种指标成分

李 全<sup>1</sup>, 任 慧<sup>2</sup>, 郭 盛<sup>2\*</sup>, 王恒斌<sup>1</sup>, 耿婉丽<sup>3</sup>, 钱大玮<sup>2</sup>, 段金廛<sup>2\*</sup>

1. 雷允上药业集团有限公司, 江苏 苏州 215003

2. 南京中医药大学 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023

3. 广东雷允上药业有限公司, 广东 云浮 527300

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱法 (UHPLC) 同时测定补肺活血胶囊 (Bufei Huoxue Capsules, BHC) 中 12 种指标成分没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷的含量。 **方法** 采用 Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱; 体积流量 0.4 mL/min, 柱温 35 ℃, 进样量 4 μL, 检测波长 246 nm。 **结果** BHC 中 12 种指标成分在 18 min 内色谱峰分离良好, 没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素和苯甲酰芍药苷分别在 0.38~195.20 ( $r=0.999\ 9$ )、0.17~21.44 ( $r=0.999\ 6$ )、0.85~433.80 ( $r=0.999\ 9$ )、0.68~345.60 ( $r=0.999\ 9$ )、1.11~566.60 ( $r=0.999\ 8$ )、0.47~241.40 ( $r=0.999\ 9$ )、0.08~39.36 ( $r=0.999\ 8$ )、0.05~26.16 ( $r=0.999\ 9$ )、0.03~16.42 ( $r=0.999\ 9$ )、0.25~129.10 ( $r=0.999\ 8$ )、0.26~133.10 ( $r=0.999\ 7$ )、0.09~47.28 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ) 线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性、加样回收率均符合分析要求。11 批补肺活血胶囊中没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素和苯甲酰芍药苷平均质量分数分别为 2.624 2、0.222 4、16.409 9、7.459 5、18.974 2、7.887 5、0.505 7、0.109 9、0.170 7、1.364 7、1.170 0、0.203 6 mg/g。 **结论** 所建立的方法分析速度快、准确度高、重复性好, 为 BHC 质量标准提升提供了方法支撑。

**关键词:** 补肺活血胶囊; 超高效液相色谱法; 黄芪; 赤芍; 补骨脂; 没食子酸; 氧化芍药苷; 芍药内酯苷; 补骨脂苷; 芍药苷; 异补骨脂苷; 毛蕊异黄酮苷; 芒柄花苷; 毛蕊异黄酮; 补骨脂素; 异补骨脂素; 苯甲酰芍药苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)13-3991-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.13.012

## Determination of 12 components in Bufei Huoxue Capsule by UHPLC

LI Quan<sup>1</sup>, REN Hui<sup>2</sup>, GUO Sheng<sup>2</sup>, WANG Heng-bin<sup>1</sup>, GENG Wan-li<sup>3</sup>, QIAN Da-wei<sup>2</sup>, DUAN Jin-ao<sup>2</sup>

1. Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Suzhou 215003, China

2. National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, and Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, and Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of Traditional Chinese Medicine Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Guangdong Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Yunfu 527300, China

**Abstract: Objective** An ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) method was established for simultaneous determination of gallic acid, oxypaeoniflora, albiflorin, psoralenoside, paeoniflorin, isopsoraloside, calycosin 7-*O*-glucoside, ononin, calycosin, psoralen, isopsoralen and benzoylpaeoniflorin in Bufei Huoxue Capsules (BHC). **Methods** The UHPLC analysis was performed on an Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 江苏省高校自然科学研究重大项目 (18KJA360006); 江苏省研究生科研创新项目 (KYCX21\_1728)

作者简介: 李 全, 硕士, 从事中药新药研发及中药大品种二次开发。E-mail: liquan@lys.cn

\*通信作者: 郭 盛, 博士, 副研究员, 从事中药资源化学与功效物质基础研究。Tel: (025)85811917 E-mail: guosheng@njucm.edu.cn

段金廛, 教授, 从事中药资源化学与资源循环利用研究。E-mail: dja@njucm.edu.cn

solution, gradient elution at the flow rate of 0.4 mL/min, and detection wavelength of 246 nm. The column temperature and injection volume were 35 °C and 4 µL, respectively. **Results** The chromatographic peaks of 12 target components in BHC were well separated in 18 min. The linear ranges for gallic acid, oxypaeoniflora, albiflorin, psoralenoside, paeoniflorin, isopsoraloside, calycosin 7-*O*-glucoside, ononin, calycosin, psoralen, isopsoralen and benzoylpaeoniflorin were 0.38—195.20 ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.17—21.44 ( $r = 0.999\ 6$ ), 0.85—433.80 ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.68—345.60 ( $r = 0.999\ 9$ ), 1.11—566.60 ( $r = 0.999\ 8$ ), 0.47—241.40 ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.08—39.36 ( $r = 0.999\ 8$ ), 0.05—26.16 ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.03—16.42 ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.25—129.10 ( $r = 0.999\ 8$ ), 0.26—133.10 ( $r = 0.999\ 7$ ), 0.09—47.28 µg/mL ( $r = 0.999\ 9$ ), respectively. The precision, stability repeatability and recovery all met the requirements of analysis. The average contents of gallic acid, oxypaeoniflora, albiflorin, psoralenoside, paeoniflorin, isopsoraloside, calycosin 7-*O*-glucoside, ononin, calycosin, psoralen, isopsoralen and benzoylpaeoniflorin in 11 batches of BHC were 2.624 2, 0.222 4, 16.409 9, 7.459 5, 18.974 2, 7.887 5, 0.505 7, 0.109 9, 0.170 7, 1.364 7, 1.170 0, 0.203 6 mg/g, respectively. **Conclusion** The established method has the advantages of fast analysis speed, high accuracy and good repeatability, which provides a reference for the internal quality evaluation of BHC.

**Key words:** Bufei Huoxue Capsules; UHPLC; content determination; *Astragali Radix*; *Paeoniae Radix Rubra*; *Psoraleae Fructus*; gallic acid; oxypaeoniflora; albiflorin; psoralenoside; paeoniflorin; isopsoraloside; calycosin 7-*O*-glucoside; ononin; calycosin; psoralen; isopsoralen; benzoylpaeoniflorin

补肺活血胶囊 (Bufei Huoxue Capsules, BHC) 收载于《中国药典》2020 年版, 具有益气活血、补肺固肾之功<sup>[1]</sup>。现代研究显示, 其可显著改善患者肺通气功能, 降低体内全血黏度, 增强机体免疫力<sup>[2-5]</sup>, 是第 1 个被国家医保目录纳入“滋补心肺类”的治疗性药物。近年来也常用于慢性阻塞性肺炎 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 以及新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 恢复期的治疗, 目前已列入多个省市的 COVID-19 恢复期治疗用药推荐目录<sup>[6-8]</sup>。

中药复方制剂常由多成分协同发挥治疗作用, 药材产区、采收时间、加工方法、贮藏条件等因素都将导致成分含量均一性差, 各成分含量高低将直接影响生物体内药效学评价。BHC 由黄芪、赤芍、补骨脂 3 味药材组成, 方中各药材包含的化学成分类型众多, 但《中国药典》2020 年版仅对黄芪中黄芪甲苷、赤芍中芍药苷含量做出了明确规定, 指标相对单一, 不能全面评价制剂质量。前人已尝试开展了 BHC 中多类型成分的定量方法研究, 但多存在分析时间长、测定成分数量较少等不足<sup>[9-10]</sup>, 因此, 有必要建立一种在较短分析时间可测定多类成分的含量测定方法, 从而评价其整体质量。

本实验建立了基于超高效液相色谱 (ultra high pressure liquid chromatography, UHPLC) 法在 18 min 内可同时测定 BHC 中没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷 12 种指标成分的含量测定方法, 以期全面评价该制剂质量提供方法参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Milli-Q 型超纯水制备仪, Millipore 公司; KQ-250E 型超声波清洗器, 频率 40 kHz, 功率 250 W, 昆山禾创超声仪器有限公司; MS105 型万分之一、ML204 型十万分之一电子分析天平, 瑞士梅特勒托利多公司; D3024R 型高速台式离心机, 大龙兴创实验仪器北京有限公司。

### 1.2 试药及试剂

对照品没食子酸 (批号 Y19M8C36143)、氧化芍药苷 (批号 Z14J9S63652)、芍药内酯苷 (批号 Y15D8H50784)、补骨脂苷 (批号 Y07A7S12664)、芍药苷 (批号 X12A8C33672)、异补骨脂苷 (批号 Y27A9S60238)、毛蕊异黄酮苷 (批号 Y27F9H54731)、芒柄花苷 (批号 R28O8F46957)、毛蕊异黄酮 (批号 Y24N9Y75652)、补骨脂素 (批号 C22A9Q68562)、异补骨脂素 (批号 C05M10Q82078)、苯甲酰芍药苷 (批号 P02D7F26004), 以上对照品均购自上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均 ≥ 98%。11 批 BHC (批号 012001、012007、012048、012049、012053、012054、012112、022004、022014、022102、202007, 规格 0.35 g/粒) 及补骨脂 (批号 BGZ20001)、黄芪 (批号 HQ20001)、赤芍 (批号 CS20001) 药材均由广东雷允上药业有限公司提供。经南京中医药大学段金廛教授鉴定, 黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia*

*lactiflora* Pall. 的干燥根、补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 均符合《中国药典》2020 年版各项要求。甲醇、乙腈均为色谱纯, 德国 Merck 公司; 甲酸为色谱纯, 美国 ACS 公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液制备** 分别精密称取没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷对照品适量, 加甲醇溶解, 定容, 配制成一定质量浓度的单一对照品储备液。分别精密量取上述单一对照品储备液适量, 转移至量瓶配制成质量浓度分别为没食子酸 195.2  $\mu\text{g/mL}$ 、氧化芍药苷 21.44  $\mu\text{g/mL}$ 、芍药内酯苷 433.8  $\mu\text{g/mL}$ 、补骨脂苷 345.6  $\mu\text{g/mL}$ 、芍药苷 566.6  $\mu\text{g/mL}$ 、异补骨脂苷 241.4  $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊异黄酮苷 39.36  $\mu\text{g/mL}$ 、芒柄花苷 26.16  $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊异黄酮 16.42  $\mu\text{g/mL}$ 、补骨脂素 129.1  $\mu\text{g/mL}$ 、异补骨脂素 133.1  $\mu\text{g/mL}$ 、苯甲酰芍药苷 47.28  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品储备溶液。以 50% 甲醇逐级稀释成 10 个质量浓度, 待用。

**2.1.2 供试品溶液制备** 取 BHC 内容物 0.5 g, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 1 h, 放置至室温后再次称量, 补足减失的质量, 摇匀, 16 060  $\times g$  离心 10 min, 上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

称取黄芪、赤芍、补骨脂药材适量, 按 BHC 处方用量及制备工艺分别制备缺黄芪、缺赤芍、缺补骨脂的阴性样品, 并分别按照上述方法制备阴性样品供试品溶液。

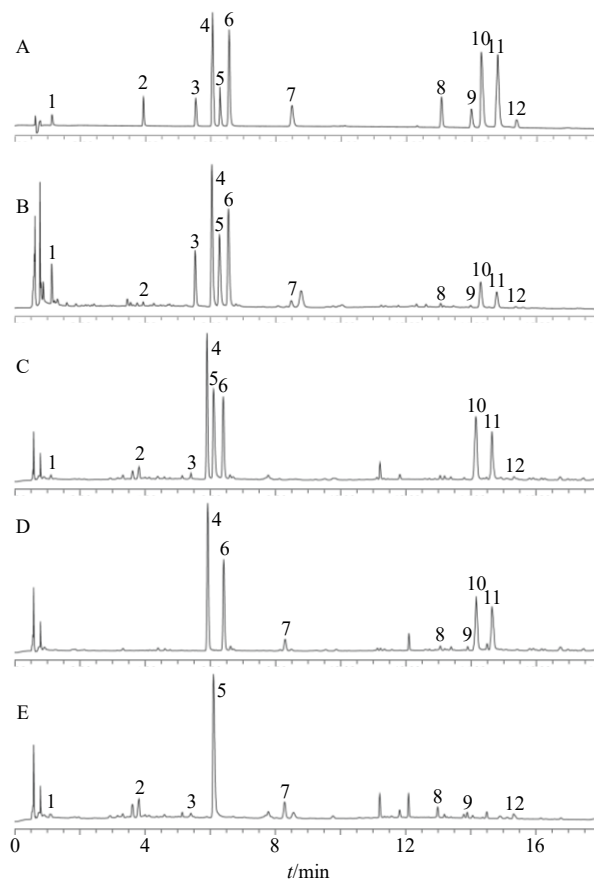
### 2.2 色谱条件

Acquity UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱程序: 0~1 min, 5% 乙腈; 1~4 min, 5%~12% 乙腈; 4~9 min, 12%~14% 乙腈; 9~15 min, 14%~32% 乙腈; 15~17 min, 32%~40% 乙腈; 17~18 min, 40%~5% 乙腈; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 4  $\mu\text{L}$ ; 检测波长 246 nm。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 专属性试验** 取经稀释的混合对照品溶液、BHC (批号 012053) 样品溶液、缺黄芪阴性对照样

品溶液、缺赤芍阴性对照样品溶液及缺补骨脂阴性对照样品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别进样, 记录色谱图。经考察, 各色谱峰不存在重叠情况, 且与相邻峰不存在干扰, 各色谱峰专属性及分离度良好, 见图 1。峰 7 (毛蕊异黄酮苷)、8 (芒柄花苷)、9 (毛蕊异黄酮) 归属于黄芪药材, 峰 1 (没食子酸)、2 (氧化芍药苷)、3 (芍药内酯苷)、5 (芍药苷)、12 (苯甲酰芍药苷) 归属于赤芍药材, 峰 4 (补骨脂苷)、6 (异补骨脂苷)、10 (补骨脂素)、11 (异补骨脂素) 归属于补骨脂药材。



1-没食子酸 2-氧化芍药苷 3-芍药内酯苷 4-补骨脂苷 5-芍药苷 6-异补骨脂苷 7-毛蕊异黄酮苷 8-芒柄花苷 9-毛蕊异黄酮 10-补骨脂素 11-异补骨脂素 12-苯甲酰芍药苷  
1-gallic acid 2-oxypaeoniflora 3-albiflorin 4-psoralenoside 5-paeoniflorin 6-isopsoraloside 7-calycosin-7-O- $\beta$ -D-glucoside 8-ononin 9-calycosin 10-psoralen 11-isopsoralen 12-benzoylpaeoniflorin

图 1 混合对照品 (A)、BHC 样品 (B)、缺黄芪阴性样品 (C)、缺赤芍阴性样品 (D) 及缺补骨脂阴性样品 (E) 溶液 UHPLC 图

Fig. 1 UHPLC of mixed reference substances (A) and BHC sample (B), negative sample without *Astragali Radix* (C), negative sample without *Paeoniae Radix Rubra* (D), and negative sample without *Psoraleae Fructus* (E)

**2.3.2 线性关系考察** 精密吸取“2.1.1”项下经稀释的系列混合对照品溶液,按“2.2”项色谱条件进样测定,以被测物质质量浓度为横坐标( $X$ ),相应峰面积为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线。得没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异

补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷线性回归方程(表 1)。结果表明,12 种指标成分在一定的质量浓度范围内线性关系良好。

**2.3.3 精密度试验** 精密吸取“2.1.1”项混合对照

表 1 12 种指标成分的线性回归方程及线性范围

Table 1 Linear regression equations and linear ranges of 12 components

| 成分     | $t_R/\text{min}$ | 回归方程                                  | $r$     | 线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ |
|--------|------------------|---------------------------------------|---------|------------------------------------------|
| 没食子酸   | 1.2              | $Y=2.25\times 10^3 X-349$             | 0.999 9 | 0.38~195.20                              |
| 氧化芍药苷  | 3.9              | $Y=9.80\times 10^3 X+2.45\times 10^3$ | 0.999 6 | 0.17~21.44                               |
| 芍药内酯苷  | 5.1              | $Y=4.17\times 10^3 X+5.50\times 10^3$ | 0.999 9 | 0.85~433.80                              |
| 补骨脂苷   | 6.2              | $Y=2.72\times 10^4 X+2.46\times 10^4$ | 0.999 9 | 0.68~345.60                              |
| 芍药苷    | 6.3              | $Y=5.18\times 10^3 X+4.81\times 10^3$ | 0.999 8 | 1.11~566.60                              |
| 异补骨脂苷  | 6.6              | $Y=3.28\times 10^4 X+1.78\times 10^3$ | 0.999 9 | 0.47~241.40                              |
| 毛蕊异黄酮苷 | 8.5              | $Y=2.97\times 10^4 X+5.69\times 10^3$ | 0.999 8 | 0.08~39.36                               |
| 芒柄花苷   | 13.2             | $Y=3.06\times 10^4 X+3.67\times 10^3$ | 0.999 9 | 0.05~26.16                               |
| 毛蕊异黄酮  | 14.0             | $Y=3.64\times 10^4 X+2.30\times 10^3$ | 0.999 9 | 0.03~16.42                               |
| 补骨脂素   | 14.3             | $Y=5.76\times 10^4 X+3.41\times 10^4$ | 0.999 8 | 0.25~129.10                              |
| 异补骨脂素  | 14.8             | $Y=5.23\times 10^4 X+3.48\times 10^4$ | 0.999 7 | 0.26~133.10                              |
| 苯甲酰芍药苷 | 15.4             | $Y=7.28\times 10^3 X+228$             | 0.999 9 | 0.09~47.28                               |

品溶液适量,按“2.2”项色谱条件重复进样 6 次,记录各成分峰面积。测得没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷峰面积的 RSD 分别为 0.77%、0.91%、1.01%、1.15%、0.88%、1.08%、0.69%、1.64%、1.21%、0.95%、0.76%、1.20%,表明仪器精密度良好。

**2.3.4 稳定性试验** 称取批号为 012053 的 BHC 内容物 0.5 g,按“2.1.2”项方法制备供试品溶液,分别于室温条件下放置 0、2、4、8、12、24 h 后,按“2.2”项色谱条件进行测定,记录峰面积。测得没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷峰面积的 RSD 分别为 1.10%、0.60%、0.42%、0.20%、0.20%、0.16%、0.69%、0.48%、0.33%、0.79%、0.50%、0.60%,表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内稳定。

**2.3.5 重复性试验** 称取批号为 012053 的 BHC 内容物 0.5 g,平行 6 份,分别按“2.1.2”项方法制备供试品溶液,按“2.2”项色谱条件测定,记录峰面积,测得没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补

骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷质量分数的 RSD 分别为 1.40%、0.12%、0.14%、0.22%、0.34%、0.18%、0.72%、1.68%、1.08%、0.28%、0.21%、1.49%,表明该方法重复性良好。

**2.3.6 加样回收率试验** 取同一批已测定 12 种指标成分含量的 BHC(批号 012053)内容物 6 份,每份 0.25 g,精密称定,分别加入混合对照品溶液(含没食子酸 129.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、氧化芍药苷 12.65  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、芍药内酯苷 742.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、补骨脂苷 351.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、芍药苷 941.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异补骨脂苷 337.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、毛蕊异黄酮苷 32.49  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、芒柄花苷 4.285  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、毛蕊异黄酮 9.160  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、补骨脂素 68.41  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异补骨脂素 68.87  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、苯甲酰芍药苷 11.11  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 5 mL,按“2.1.2”项方法制备供试品溶液,按“2.2”项色谱条件进样测定,分别计算各成分的平均加样回收率及 RSD,结果没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷的平均加样回收率分别为 99.37%、100.1%、99.77%、100.2%、101.0%、100.8%、99.49%、100.8%、100.0%、101.0%、

99.53%、99.59%，RSD 分别为 0.81%、0.72%、0.63%、0.79%、0.81%、0.96%、1.23%、1.02%、0.35%、0.41%、1.05%、0.87%，表明该方法准确度良好。

## 2.4 样品含量测定

取 11 批 BHC 内容物粉末，按“2.1.2”项方法每个批次平行制备供试品溶液 3 份，按“2.2”项色谱条件进样测定，记录没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷的峰面积，采用外标一点

法计算 12 种指标成分的含量，结果见表 2。

结果显示，BHC 中芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、异补骨脂苷含量相对较高，其平均质量分数分别达 18.974 2、16.409 9、7.459 5、7.887 5 mg/g。11 批次样品中，芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药内酯苷、异补骨脂素的 RSD 值较小，表明批间差异较小，成分质量较为稳定；异补骨脂苷、补骨脂苷、氧化芍药苷成分的 RSD 值较大，推测可能与不同批次制剂所用药材的产地、采收期、储存环境等因素不同有关。

表 2 11 批样品中 12 种指标成分含量测定结果 ( $n=3$ )

Table 2 content results of 12 compounds in 11 batches of samples ( $n=3$ )

| 批号     | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |          |          |          |          |         |         |         |         |         |         |
|--------|----------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|        | 没食子酸                       | 氧化芍药苷   | 芍药内酯苷    | 补骨脂苷     | 芍药苷      | 异补骨脂苷    | 毛蕊异黄酮苷  | 芒柄花苷    | 毛蕊异黄酮   | 补骨脂素    | 异补骨脂素   | 苯甲酰芍药苷  |
| 012001 | 2.196 8                    | 0.324 4 | 21.182 9 | 5.309 6  | 18.335 7 | 5.300 3  | 0.679 9 | 0.158 5 | 0.182 1 | 1.768 2 | 1.482 2 | 0.220 0 |
| 012007 | 2.278 9                    | 0.247 1 | 17.344 3 | 8.523 1  | 17.914 9 | 9.317 2  | 0.469 2 | 0.109 0 | 0.163 8 | 1.417 9 | 1.203 9 | 0.229 0 |
| 012048 | 2.701 5                    | 0.234 4 | 16.374 2 | 5.085 6  | 20.510 2 | 5.633 1  | 0.466 3 | 0.113 6 | 0.149 4 | 1.581 7 | 1.195 9 | 0.223 2 |
| 012049 | 3.325 0                    | 0.216 8 | 15.828 6 | 6.544 5  | 20.774 6 | 7.043 4  | 0.553 9 | 0.121 3 | 0.173 5 | 1.120 0 | 0.904 0 | 0.187 2 |
| 012053 | 2.998 3                    | 0.188 8 | 16.531 2 | 6.639 7  | 19.129 3 | 6.739 7  | 0.518 0 | 0.116 3 | 0.172 6 | 1.226 1 | 1.137 9 | 0.199 3 |
| 012054 | 2.781 0                    | 0.212 0 | 16.985 2 | 6.706 1  | 20.051 8 | 7.188 9  | 0.506 0 | 0.105 0 | 0.183 6 | 1.286 0 | 1.140 9 | 0.215 7 |
| 012112 | 2.486 5                    | 0.263 0 | 16.710 4 | 9.502 3  | 21.895 3 | 10.518 8 | 0.465 8 | 0.088 1 | 0.136 5 | 1.188 9 | 1.069 7 | 0.223 2 |
| 022004 | 2.215 2                    | 0.226 6 | 14.672 6 | 10.374 7 | 17.863 2 | 11.144 2 | 0.513 5 | 0.118 5 | 0.173 8 | 1.3955  | 1.108 3 | 0.224 3 |
| 022014 | 2.480 0                    | 0.194 6 | 15.627 2 | 7.482 9  | 19.108 1 | 7.623 4  | 0.376 9 | 0.096 1 | 0.190 4 | 1.473 2 | 1.311 0 | 0.169 1 |
| 022102 | 3.008 4                    | 0.209 5 | 16.476 5 | 6.781 5  | 18.500 7 | 6.473 4  | 0.582 9 | 0.087 5 | 0.210 7 | 1.338 0 | 1.256 4 | 0.194 6 |
| 202007 | 2.394 6                    | 0.128 9 | 12.775 4 | 9.104 8  | 14.632 4 | 9.779 8  | 0.430 8 | 0.095 0 | 0.141 5 | 1.216 3 | 1.057 2 | 0.154 6 |
| 平均值    | 2.624 2                    | 0.222 4 | 16.409 9 | 7.459 5  | 18.974 2 | 7.887 5  | 0.505 7 | 0.109 9 | 0.170 7 | 1.364 7 | 1.170 0 | 0.203 6 |
| RSD/%  | 14.11                      | 21.93   | 12.37    | 22.95    | 10.17    | 25.20    | 16.00   | 18.28   | 12.87   | 13.99   | 12.84   | 12.24   |

## 3 讨论

中药是一个复杂的有机整体，中药复方制剂更是通过多成分协同起效。对中药复方制剂进行成分分析，进而阐明其化学物质基础，有助于提高中药制剂质量标准及疗效稳定性。据文献报道，补骨脂苷、异补骨脂苷在体内可代谢为补骨脂素、异补骨脂素<sup>[11-12]</sup>。补骨脂素可有效减轻特发性肺纤维化小鼠的肺实质性炎症，预防呼吸功能障碍<sup>[13]</sup>；异补骨脂素对脂多糖诱导的急性肺损伤及卵清蛋白诱发的小鼠过敏性哮喘具有保护作用<sup>[14-16]</sup>；芍药苷及其衍生物如氧化芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷多具有较好的抗炎、抗氧化损伤以及免疫调节作用<sup>[17]</sup>；上述结果提示这些化学组分应为 BHC 发挥防治 COPD 等药效的主要活性成分。黄芪甲苷具有抗氧化、抗炎、抗细胞凋亡等活性，对机体免疫具有调

节作用<sup>[18]</sup>，但由于其属四环三萜皂苷类成分，在紫外光谱中呈现末端吸收，紫外检测灵敏度低，干扰因素多，故本实验中并未检测黄芪甲苷，而以黄芪药材中含有的毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷和毛蕊异黄酮作为质控指标。11 批 BHC 测定结果显示，异补骨脂苷、补骨脂苷、氧化芍药苷的 RSD 值较大，表明不同批次间 3 种成分的含量存在较大差异，提示进行 BHC 质量评价时应关注上述 3 种成分的含量差异。《中国药典》2020 年版未规定 BHC 中补骨脂药材相关含量测定指标，建议应增加补骨脂香豆素类成分的质量检测，以提高产品质量均一性，使临床疗效更加稳定。

本实验在供试品溶液制备过程比较了不同提取方式（回流、超声）、不同提取溶剂（水、50%甲醇、甲醇、50%乙醇）、不同提取时间（20、40、60、80

min) 下各成分溶出情况, 结果显示, 以 50% 甲醇为提取溶剂、超声提取 60 min 可使所测定的 12 种指标成分达到较高的提取率, 故选择该条件为样品处理方法。

色谱条件优化过程中, 分别比较了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水溶液的流动相系统, 结果显示以乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为流动相各色谱峰无前沿或拖尾现象, 可良好分离; 采用光电二级阵列管检测器 (photo-diode array, PDA) 全波长扫描, 比较了 12 个目标成分最大吸收波长, 显示多数化合物在 246 nm 处有最大吸收, 且在此波长下色谱基线较为平稳, 故选择 246 nm 作为检测波长。

本实验建立了超高效液相色谱法同时测定 BHC 中没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、补骨脂苷、芍药苷、异补骨脂苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、苯甲酰芍药苷 12 个成分的含量测定方法, 并显示出分析速度快、准确度高、重复性好的特点, 可为提升 BHC 质量控制方法提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1072.
- [2] Jing Y, Zhang H C, Cai Z, *et al.* Bufei Huoxue Capsule attenuates PM<sub>2.5</sub>-induced pulmonary inflammation in mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 1575793.
- [3] 樊琪, 尹娇, 肖丽. 补肺活血胶囊联合沙美特罗替卡松治疗支气管哮喘慢性持续期的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(2): 280-284.
- [4] 孟泳, 杨舒雅. 补肺活血胶囊治疗气虚血瘀型慢性肺心病的临床观察 [J]. *中外医学研究*, 2018, 16(16): 46-48.
- [5] 马治刚, 余洁, 黎怡, 等. 补肺活血胶囊对支气管哮喘缓解期患者炎症因子及免疫功能的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(19): 2746-2748.
- [6] Chen Y Q, Liu C L, Wang T P, *et al.* Efficacy and safety of Bufei Huoxue capsules in the management of convalescent patients with COVID-19 infection: A multicentre, double-blind, and randomised controlled trial [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114830.
- [7] 饶鸿宇, 谌攀, 李沛波, 等. 基于网络药理学探讨补肺活血胶囊用于重症肺炎患者康复期治疗的关键成分和作用机制 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2021, 60(4): 42-49.
- [8] 郭盛, 武文星, 谢红, 等. 基于网络药理学与分子对接技术的补肺活血胶囊用于新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 恢复期治疗的分子机制研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(9): 2307-2316.
- [9] 舒婷, 黄湘杰. 补肺活血胶囊高效液相色谱特征指纹图谱研究及多成分含量测定 [J]. *中国药业*, 2019, 28(23): 19-23.
- [10] 唐清, 朱晓泉, 郑玉莹, 等. 补肺活血胶囊高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. *中南药学*, 2018, 16(9): 1200-1204.
- [11] Wang Y F, Liu Y N, Xiong W, *et al.* A UPLC-MS/MS method for *in vivo* and *in vitro* pharmacokinetic studies of psoralenoside, isopsoralenoside, psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 609-617.
- [12] 颜冬梅, 高秀梅, 康立源, 等. 补骨脂中苯并呋喃苷类成分在大鼠血浆中的移行特征 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(11): 85-88.
- [13] Du M Y, Duan J X, Zhang C Y, *et al.* Psoralen attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice through inhibiting myofibroblast activation and collagen deposition [J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(1): 98-107.
- [14] Wei D Z, Guo X Y, Lin L N, *et al.* Effects of angelicin on ovalbumin (OVA)-Induced airway inflammation in a mouse model of asthma [J]. *Inflammation*, 2016, 39(6): 1876-1882.
- [15] Liu F, Sun G Q, Gao H Y, *et al.* Angelicin regulates LPS-induced inflammation via inhibiting MAPK/NF- $\kappa$ B pathways [J]. *J Surg Res*, 2013, 185(1): 300-309.
- [16] Chen Y Q, He W J, Lu W J, *et al.* Bufei Huoxue capsules in the management of convalescent COVID-19 infection: study protocol for a multicenter, double-blind, and randomized controlled trial [J]. *Pulm Circ*, 2021, 11(3): 20458940211032125.
- [17] Tan Y Q, Chen H W, Li J, *et al.* Efficacy, chemical constituents, and pharmacological actions of *Radix Paeoniae Rubra* and *Radix Paeoniae Alba* [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1054.
- [18] Du X, Wang X, Cui K, *et al.* Tanshinone II<sub>A</sub> and astragaloside IV inhibit miR-223/JAK2/STAT1 signalling pathway to alleviate lipopolysaccharide-induced damage in nucleus pulposus cells [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021: 6554480.

[责任编辑 郑礼胜]