基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量测定的痹祺胶囊质量评价

刘　冰[1]，赵　晨[1]，王　静[1]，杜思邈[2]，卜睿臻[2]，郑新元[1]，周　军[1]，王　杰[1*]

1. 天津市药品检验研究院，天津　300070
2. 天津达仁堂京万红药业有限公司，天津　300112

摘　要：目的　建立痹祺胶囊的 HPLC 指纹图谱及甘草苷、阿魏酸、丹酚酸 B 的含量测定方法，更为全面地评价痹祺胶囊的质量。**方法**　采用 Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），指纹图谱以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相，梯度洗脱，体积流量 1.0 mL/min，检测波长 203 nm，柱温为 35 ℃，测定 19 批痹祺胶囊指纹图谱，结合中药色谱指纹图谱相似度评价系统进行全面分析；含量测定以乙腈-水-0.1%磷酸水溶液（21∶79∶0.1）为流动相；体积流量 1.0 mL/min；以二极管阵列检测器检测，甘草苷检测波长为 276 nm，阿魏酸检测波长为 321 nm，丹酚酸 B 检测波长为 286 nm；柱温为 40 ℃；进样体积均为 10 μL。**结果**　19 批痹祺胶囊指纹图谱相似度大于 0.97，共标定了 36 个共有峰，确认了 6 号峰为丹参素、10 号峰为士的宁、11 号峰为马钱子碱、13 号峰为甘草苷、14 号峰为阿魏酸、15 号峰为迷迭香酸、16 号峰为人参皂苷 Rg_1、18 号峰为丹酚酸 B、20 号峰为人参皂苷 Rb_1、22 号峰为甘草酸铵、27 号峰为藁本内酯、30 号峰为丹参酮 IIA、33 号峰为茯苓酸 13 个成分；含量测定中甘草苷、阿魏酸、丹酚酸 B 进样量在 30.35～455.30 ng、5.046～75.690 ng、61.79～926.90 ng 线性关系良好（均为 r=0.999 9）；平均回收率在 98.43%～102.12%，RSD 均＜2%；19 批痹祺胶囊中甘草苷质量分数在 0.630～1.428 mg/g，阿魏酸质量分数在 0.188～0.260 mg/g，丹酚酸 B 质量分数在 2.539～3.442 mg/g。**结论**　建立的指纹图谱及含量测定方法适用于痹祺胶囊的全面质量评价。

关键词：痹祺胶囊；指纹图谱；多成分；含量测定；质量评价；丹参素；士的宁；马钱子碱；甘草苷；阿魏酸；迷迭香酸；人参皂苷 Rg_1；丹酚酸 B；人参皂苷 Rb_1；甘草酸铵；藁本内酯；丹参酮 IIA；茯苓酸

中图分类号：R283.6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2023)23 - 7702 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.011

Quality evaluation of Biqi Capsules based on HPLC fingerprint and multi-component analysis

LIU Bing[1], ZHAO Chen[1], WANG Jing[1], DU Si-miao[2], BU Rui-zhen[2], ZHENG Xin-yuan[1], ZHOU Jun[1], WANG Jie[1]

1. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China
2. Tianjin Darentang Jingwanhong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China

Abstract: Objective　To establish the HPLC fingerprint of Biqi Capsules (痹祺胶囊) and the determination method of the content of liquiritin, ferulic acid and salvianolic acid B, and evaluate the quality of Biqi Capsules more comprehensively. **Methods**　Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II chromatography column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, fingerprint mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphate for gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, the wavelength was 203 nm, the column temperature was 35 ℃, and the fingerprints of 19 batches of Biqi Capsules were measured. Combined with the Chinese medicine chromatography fingerprint similarity evaluation system, the Biqi Capsules was comprehensively analyzed; Content mobile phase was acetonitrile-water-0.1% phosphoric acid (21∶79∶0.1), the flow rate was 1.0 mL/min; With diode array detector, the detection wavelength of liquiritin was 276 nm, the detection wavelength of ferulic acid was 321 nm, and the detection wavelength of salvianolic acid B was 286 nm, the column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results**　The similarity of 19 batches of Biqi Capsules was greater than 0.97. A total of 36 common peaks were calibrated, with peak 6 identified as danshensu, peak 10 as strychnine, peak 11 as brucine, peak

收稿日期：2023-08-31

基金项目：天津市科技计划项目（19YFZXSY00170/230610）；天津市市场监督管理委员会科技项目（2023-W13）

作者简介：刘　冰（1975—），男，副主任药师，主要从事中药质量标准研究。E-mail: 1261518201@qq.com

***通信作者：**王　杰，主任药师，从事中药质量标准研究。E-mail: tjyjsjie@sina.cn

13 as liquiritin, peak 14 as ferulic acid, peak 15 as rosmarinic acid, peak 16 as ginsenoside Rg_1, peak 18 as salvianolic acid B, peak 20 as ginsenoside Rb_1, peak 22 as ammonium glycyrrhizinate, peak 27 as ligustilide, peak 30 as tanshinone IIA, and peak 33 as pachymic acid; The inlet quantity of liquiritin, ferulic acid and salvianolic acid B have good linear relationships in the range of 30.35—455.30 ng, 5.046—75.690 ng, 61.79—926.90 ng, respectively (r = 0.999 9). The average recovery rates were 98.43%—102.12%, and RSD < 2%, liquiritin content was 0.630—1.428 mg/g, ferulic acid content was 0.188—0.260 mg/g, and salvianolic acid B content was 2.539—3.442 mg/g. **Conclusion** The established fingerprint and content determination method are suitable for the comprehensive quality evaluation of Biqi Capsules.

Key words: Biqi Capsules; fingerprint; multi-component; content determination; quality evaluation; danshensu; strychnine; brucine; liquiritin; ferulic acid; rosmarinic acid; ginsenoside Rg_1; salvianolic acid B; ginsenoside Rb_1; ammonium glycyrrhizinate; ligustilide; tanshinone IIA; pachymic acid

痹祺胶囊（Biqi Capsules）是天津市达仁堂京万红公司生产的独家品种，由马钱子粉、党参、白术、丹参、牛膝、地龙、茯苓、川芎、三七、甘草共 10 味药材组成，其功效益气养血、祛风除湿、活血止痛。用于气血不足、风湿瘀阻、肌肉关节酸痛、关节肿大、僵硬变形或肌肉萎缩、气短乏力；风湿、类风湿性关节炎、腰肌劳损、软组织损伤属上述证候者。其质量标准收载于《中国药典》2020 年版一部，检验项目包括性状、显微鉴别、薄层鉴别、胶囊检查项、马钱子粉中士的宁、马钱子碱的含量测定[1]。痹祺胶囊处方来源于汉代名医华佗传世验方“一粒仙丹”，马钱子是痹祺胶囊的“君药”，有大毒，具有散寒消肿、通络止痛作用；臣药由党参、白术、茯苓、丹参构成，党参、白术、茯苓健脾益气，丹参养血和血，四药同用益气养血，切中病机为臣药；佐药由三七、川芎、牛膝、地龙构成，活血化瘀，通络止痛，共为佐药；甘草调和诸药为使药。诸药配伍，共奏益气养血、祛风除湿、活血止痛之效[2]。痹祺胶囊临床主要应用于类风湿性关节炎、膝骨性关节炎，颈椎病、腰椎间盘突出等症[3-8]。目前，痹祺胶囊参考文献集中在化学成分、药理药效等方面，尚无指纹图谱方面的研究。痹祺胶囊文献中含量测定方面的较少，主要集中于马钱子中士的宁和马钱子碱的含量测定，也有同时测定丹参中丹酚酸 B 的含量[9-11]。

刘昌孝院士[12-13]于 2016 年正式提出中药 Q-Marker 新概念和核心理论，建立了中药质量控制系列共性关键技术，构建中药质量研究新模式，并以痹祺胶囊中马钱子为例阐述了炮制中药的 Q-Marker。张星艳等[14]以痹祺胶囊药效学、药动学研究为实例，在 Q-Marker 理论的指导下，从特有性、可测性、有效性和中药理论关联性等方面对痹祺胶囊的研究进行总结分析，发现士的宁、马钱子碱、甘草苷、丹酚酸 B、甘草酸、隐丹参酮和丹参酮 IIA 可作为该复方的 Q-Marker。本实验在 Q-Marker 的理论指导下[15-17]，通过网络药理学预测相应化学成分的基础上，采用常见的 HPLC 法，结合上述研究基础，建立痹祺胶囊的指纹图谱方法，并选取特征明显的化学成分进行含量测定，用于痹祺胶囊的全面质量评价。

1 仪器与试药

Waters e2695 高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪，日本岛津公司；Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪，美国 Agilent 公司；Mettler XS205 型精密天平，瑞士梅特勒-托利多公司。

对照品丹酚酸 B（批号 111562-201917，质量分数 96.6%）、党参炔苷（批号 111732-201908，质量分数≥90%）、士的宁（批号 110705-201307，质量分数 97.1%）、马钱子碱（批号 110706-201306，质量分数 91.7%）、丹参素钠（批号 110855-201915，质量分数 97.8%）、迷迭香酸（批号 111871-202007，质量分数 98.1%）、丹参酮 IIA（批号 111766-201520，质量分数 98.9%）、三七皂苷 R_1（批号 110745-201921，质量分数 90.4%）、人参皂苷 Rg_1（批号 110703-202034，质量分数 94.0%）、人参皂苷 Rb_1（批号 110704-202129，质量分数 94.3%）、阿魏酸（批号 111773-201915，质量分数 99.4%）、藁本内酯（批号 111737-201910，质量分数≥90%）、β-蜕皮甾酮（批号 111638-201907，质量分数 98.3%）、次黄嘌呤（批号 140661-202005，质量分数 99.4%）、甘草苷（批号 111610-201908，质量分数 95.0%）、甘草次酸（批号 110723-201715，质量分数 99.6%）、甘草酸铵（批号 110731-202021，质量分数 96.2%），以上均购自中国食品药品检定研究院；对照品茯苓酸，批号 DSTDF00101，质量分数 98.0%，购自乐美天医药德

思特生物；对照品白术内酯 III，批号 F0032856，质量分数 98.5%，购自北京曼哈格生物科技有限公司；对照品牛膝皂苷 D，批号 08M-MXC-22-2，质量分数 96.68%，购自 Panphy 化学品公司。

处方饮片党参（批号 1-2009007）、制马钱子粉（批号 1-2004017）、茯苓（批号 1-2007004）、白术（批号 1-2008043）、丹参（批号 1-2009002）、三七（批号 1-2008036）、川芎（批号 1-2007005）、牛膝（批号 1-2008044）、地龙（批号 1-2008024）、甘草（批号 1-2008053），均由天津达仁堂京万红药业有限公司提供。

痹祺胶囊样品由天津达仁堂京万红药业有限公司提供，规格为 0.3 g/粒，批号分别为 311282、311284、311285、311393、311403、311413、311414、311415、311416、311417、311544、311545、311546、311554、311555、311556、311557、311558、311725，分别编号 S1～S19。

乙腈（液质联用级）、甲醇（色谱纯），天津市康科德科技有限公司；磷酸，分析纯，天津市风船化学试剂科技有限公司：实验用水为去离子水，Milli-Q 超纯水仪。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱研究

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0～8 min，2%～12%乙腈；8～20 min，12%～25%乙腈；20～32 min，25%～30%乙腈；32～35 min，30%～45%乙腈；35～60 min，45%～55%乙腈；60～70 min，55%～65%乙腈；70～75 min，65%～95%乙腈；75～80 min，95%乙腈；80～81 min，95%～2%乙腈；81～90 min，2%乙腈；体积流量 1.0 mL/min；柱温为 35 ℃；检测波长 203 nm；进样体积 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 取丹酚酸 B 对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度为 0.2 mg/L 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下内容物，研细，取约 1 g，精密称定，精密加入甲醇 10 mL，密塞，称定质量，加热回流 30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.1.4 精密度试验 取同一批（批号 S19）痹祺胶囊，按“2.1.3”项下方法操作，连续测定 6 次，记录各共有峰的保留时间和峰面积，以丹酚酸 B 为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。36 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%，表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取同一批（批号 S19）痹祺胶囊，按“2.1.3”项下方法操作，分别在 0、3.0、7.5、12.0、19.5、24.0 h 进样，记录各共有峰的保留时间和峰面积，以丹酚酸 B 为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。36 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

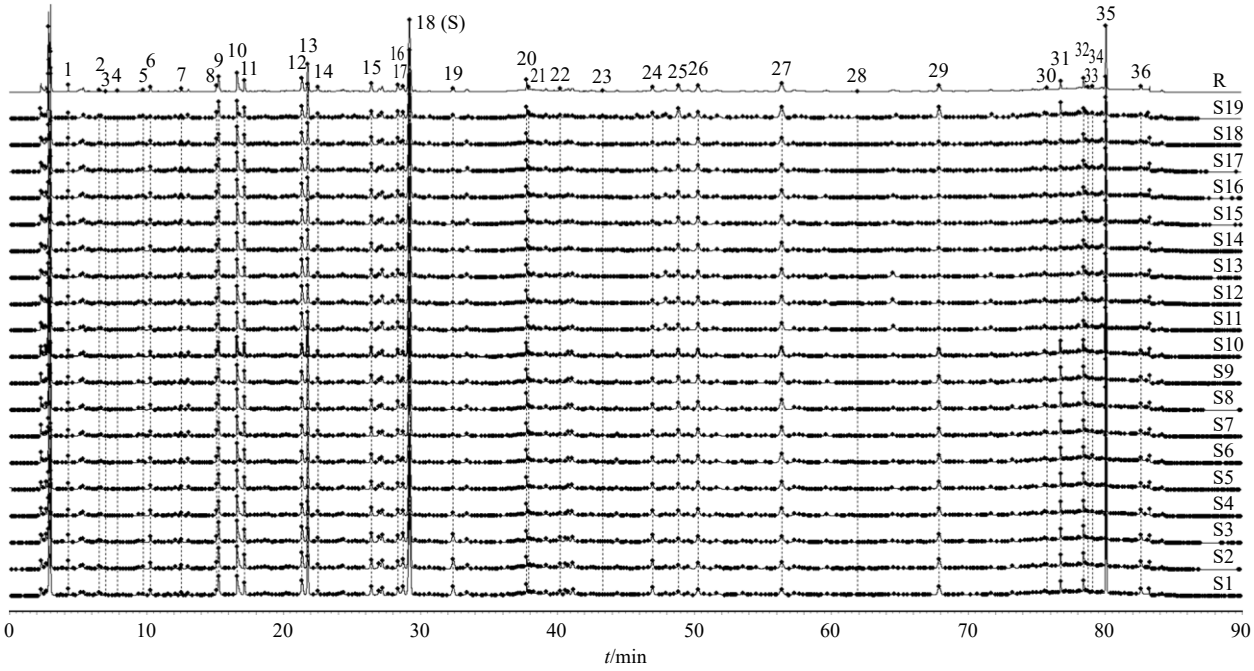
2.1.6 重复性试验 取同一批（批号 S19）痹祺胶囊，按“2.1.3”项下方法操作，平行制备 6 份，分别进样，记录各共有峰的保留时间和峰面积，以丹酚酸 B 为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。36 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%，表明该方法重复性较好。

2.1.7 指纹图谱的建立及相似度分析 取收集的 19 批样品，按“2.1.3”项下样品处理方法平行 2 份操作，按“2.1.1”项下色谱条件进样检测，记录色谱图，所得图谱以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2012 年版处理，以 S1 为参照，时间窗为 0.10，mark 峰匹配方式，对照图谱生成以平均数计算，生成对照指纹图谱。各批样品（S1～S19）与对照指纹图谱相比较，相似度测定结果分别为 0.992、0.992、0.992、0.993、0.975、0.994、0.996、0.992、0.992、0.994、0.991、0.990、0.991、0.991、0.991、0.991、0.989、0.991、0.973，相似度在 0.973～0.996，表明各批次之间相似度良好。19 批样品的叠加指纹图谱和对照指纹图谱见图 1。

2.1.8 共有峰的归属 取处方中的 10 味药材，分别按“2.1.3”项下供试品处理方法制备药材供试品溶液，并与对照品溶液按“2.1.1”项下色谱条件进样检测，先将药材及对照品与制剂比对，确定保留时间相同的色谱峰，再用二极管阵列检测器中光谱图进行验证，最终选取了归属明确、指纹性强的色谱峰，确定了 36 个峰作为共有峰。结果见表 1。

2.2 含量测定研究

在上述指纹图谱研究基础上，兼顾君臣佐使的原则，选取具有代表性的化学成分进行含量测定研究。君药中马钱子粉已有士的宁、马钱子碱含量测定方法；本实验选取臣药丹参中丹酚酸 B、佐药川芎中阿魏酸、使药甘草中甘草苷进行含量测定研究。



6-丹参素 10-士的宁 11-马钱子碱 13-甘草苷 14-阿魏酸 15-迷迭香酸 16-人参皂苷 Rg_1 18-丹酚酸 B (S) 20-人参皂苷 Rb_1 22-甘草酸铵 27-藁本内酯 30-丹参酮 II_A 33-茯苓酸

6-danshensu 10-strychnine 11-brucine 13-liquiritin 14-ferulic acid 15-rosmarinic acid 16-ginsenoside Rg_1 18-salvianolic acid B (S) 20-ginsenoside Rb_1 22-ammonium glycyrrhizinate 27-ligustilide 30-tanshinone II_A 33-pachymic acid

图 1 19 批 (S1～S19) 痹祺胶囊的 HPLC 指纹图谱及对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of 19 batches (S1—S19) of Biqi Capsules and reference fingerprint (R)

表 1 共有峰的归属

Table 1 Attribution of common peaks

峰号	药材归属	成分确定	峰号	药材归属	成分确定	峰号	药材归属	成分确定
1	三七、川芎、茯苓、地龙、甘草		13	甘草	甘草苷	26	川芎	
			14	川芎	阿魏酸	27	川芎	藁本内酯
2	白术、三七		15	丹参	迷迭香酸	28	白术	
3	地龙		16	三七	人参皂苷 Rg_1	29	甘草	
4	牛膝		17	甘草		30	丹参	丹参酮 II_A
5	党参		18	丹参	丹酚酸 B (S)	31	甘草	
6	丹参	丹参素	19	甘草		32	党参、牛膝、三七、川芎、地龙	
7	马钱子粉		20	三七	人参皂苷 Rb_1			
8	马钱子粉、白术、川芎		21	牛膝		33	茯苓	茯苓酸
9	甘草		22	甘草	甘草酸铵	34	地龙	
10	马钱子粉	士的宁	23	甘草		35	党参、牛膝、白术、三七、川芎、地龙	
11	马钱子粉	马钱子碱	24	甘草				
12	甘草		25	川芎		36	地龙	

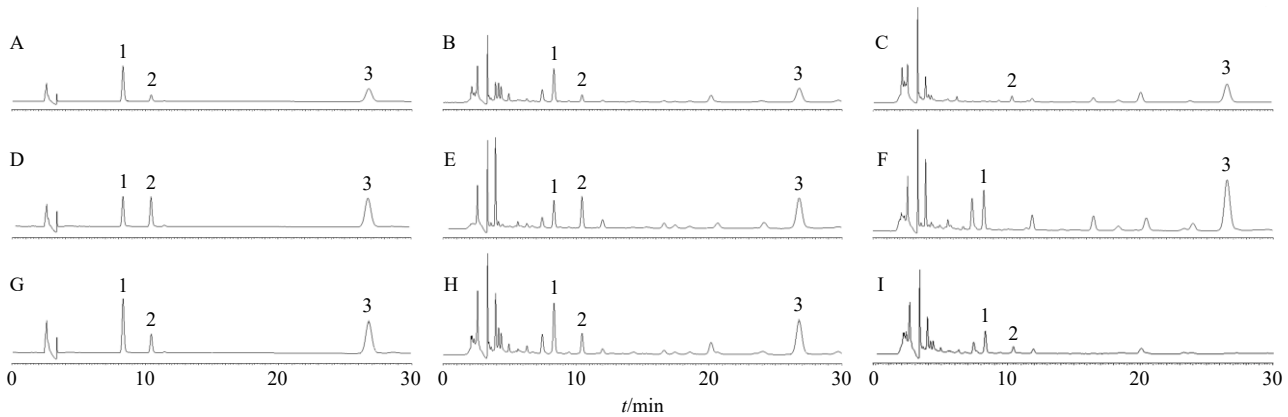
2.2.1 对照品溶液的制备 取甘草苷对照品、阿魏酸对照品、丹酚酸 B 对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度为甘草苷 30 μg/mL、阿魏酸 5 μg/mL、丹酚酸 B 60 μg/mL 的混合溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物，研细，取约 0.5 g，精密称定，精密加入 75% 甲醇 25 mL，密塞，称定质量，加热回流 30 min，放冷，再称定质量，用 75%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比，分别取

除甘草、川芎、丹参外其他药材，按制法项下的工艺制成制剂，再按“2.2.3”供试品溶液制备方法，分别制得缺甘草、川芎、丹参的阴性样品溶液。

2.2.4　色谱条件　色谱柱为 Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水-磷酸（21∶79∶0.1）；体积流量 1.0 mL/min；柱温为 40 ℃；以二极管阵列检测器检测，甘草苷检测波长为 276 nm，阿魏酸检测波长为 321 nm，丹酚酸 B 检测波长为 286 nm；进样体积 10 μL。典型色谱图见图 2。



1-甘草苷　2-阿魏酸　3-丹酚酸 B

1-liquiritin　2-ferulic acid　3-salvianolic acid B

图 2　混合对照品 (276 nm, A; 321 nm, D; 286 nm, G)、痹祺胶囊供试品 (276 nm, B; 321 nm, E; 286 nm, H)、缺甘草的痹祺胶囊阴性对照 (276 nm, C)、缺川芎的痹祺胶囊阴性对照 (321 nm, F)、缺丹参的痹祺胶囊阴性对照 (286 nm, I) 的 HPLC 图

Fig. 2　HPLC of mixed reference substances (276 nm, A; 321 nm, D; 286 nm, G), Biqi Capsules test sample (276 nm, B; 321 nm, E; 286 nm, H), Biqi Capsules negative control solution lack of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma* (276 nm, C), Biqi Capsules negative control solution lack of *Chuanxiong Rhizoma* (321 nm, F), Biqi Capsules negative control solution lack of *Salviae Miltiorrhizae Radix* et *Rhizoma* (286 nm, I)

2.2.5　线性关系考察　取甘草苷、阿魏酸、丹酚酸 B 对照品适量，精密称定，加甲醇分别制成质量浓度为甘草苷 30.35 μg/mL、阿魏酸 5.046 μg/mL、丹酚酸 B 61.79 μg/mL 的混合对照品溶液，分别精密吸取 1、3、5、10、15 μL，注入液相色谱仪，按“2.2.1”项下色谱条件进行分析，分别测定各自峰面积，以对照品进样量为横坐标（X），峰面积值为纵坐标（Y），绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程：甘草苷 $Y=1.923\,4\times10^6X+6\,135.7$，$r=0.999\,9$；阿魏酸 $Y=4.929\,0\times10^6X+398.81$，$r=0.999\,9$；丹酚酸 B $Y=1.250\,8\times10^6X+13\,053$，$r=0.999\,9$；结果表明，甘草苷进样量在 30.35～455.30 ng、阿魏酸进样量在 5.046～75.690 ng、丹酚酸 B 进样量在 61.79～926.90 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6　精密度试验　取同一批（S19）痹祺胶囊，按“2.2.3”项下方法操作，连续进样 6 次，样品中甘草苷、阿魏酸和丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 1.50%、1.11%、0.83%。

2.2.7　稳定性试验　取同一批（S19）痹祺胶囊，按“2.2.3”项下方法操作，分别在 0、2.0、5.5、9.0、16.5、24.0 h 进样测定，结果甘草苷、阿魏酸和丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 0.77%、1.46%、0.60%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8　重复性试验　取同一批（S19）痹祺胶囊，按“2.2.3”项下方法操作，平行制备 6 份，进样测定，结果甘草苷、阿魏酸和丹酚酸 B 质量分数的 RSD 分别为 0.45%、1.05%、0.61%。

2.2.9　加样回收率试验　取已知含量的批号 S19 样品 0.25 g，平行 6 份，精密称定，分别精密加入甘草苷对照品（质量浓度 12.21 μg/mL）、阿魏酸对照品（质量浓度 2.858 μg/mL）和丹酚酸 B 对照品（质量浓度 30.48 μg/mL）的 75%甲醇溶液 25 mL，按“2.2.3”项下方法制备供回收用供试品溶液，进样测定，计算各成分的平均加样回收率，结果甘草苷、阿魏酸和丹酚酸 B 平均加样回收率分别为 98.43%、102.12%、101.59%，RSD 分别为 1.21%、1.48%、1.19%。

2.2.10　样品测定　取 19 批（S1～S19）痹祺胶囊样品，按“2.2.3”项下方法操作，进样测定，计算甘草苷、阿魏酸和丹酚酸 B 的含量，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})			含量/(mg·粒$^{-1}$)		
	甘草苷	阿魏酸	丹酚酸 B	甘草苷	阿魏酸	丹酚酸 B
S1	1.428	0.189	3.350	0.449	0.059 4	1.053
S2	1.419	0.191	3.293	0.449	0.060 4	1.043
S3	1.414	0.188	3.202	0.446	0.059 2	1.009
S4	1.078	0.230	3.131	0.329	0.070 2	0.956
S5	1.158	0.233	2.539	0.352	0.071 0	0.773
S6	1.035	0.251	3.057	0.316	0.076 7	0.934
S7	0.974	0.250	3.197	0.299	0.076 8	0.983
S8	0.993	0.252	3.054	0.303	0.076 9	0.931
S9	1.005	0.259	3.209	0.300	0.077 1	0.956
S10	1.034	0.260	3.193	0.307	0.077 5	0.952
S11	0.659	0.200	3.117	0.196	0.059 5	0.927
S12	0.630	0.199	3.027	0.188	0.059 2	0.902
S13	0.640	0.212	3.241	0.196	0.065 2	0.995
S14	0.727	0.212	3.442	0.223	0.065 2	1.057
S15	0.762	0.206	3.383	0.233	0.063 1	1.035
S16	0.707	0.212	3.381	0.220	0.066 0	1.053
S17	0.772	0.212	3.378	0.244	0.066 8	1.067
S18	0.772	0.217	3.459	0.236	0.066 6	1.059
S19	1.285	0.251	3.017	0.383	0.074 6	0.899

结果显示 19 批（S1～S19）痹祺胶囊样品中成分甘草苷质量分数在 0.630～1.428 mg/g，阿魏酸质量分数在 0.188～0.260 mg/g，丹酚酸 B 质量分数在 2.539～3.442 mg/g，结果表明制剂工艺稳定。

3 讨论

3.1 色谱条件的确定

3.1.1 流动相的选择 本方由 10 味药材组成，经粉碎混合后直接入药，成分复杂，刘建庭等[18]采用 UPLC-Q/TOF-MS 方法对痹祺胶囊化学物质组及入血成分进行了研究，共鉴定出 280 个化学成分，如白术中主要有 11 个内酯类成分[19]；茯苓中主要有 21 个三萜酸类成分；丹参中主要有 53 个丹酚酸类和二萜醌类成分[20]；三七中主要有 41 个为皂苷类成分[21]；甘草中主要有 59 个黄酮类和三萜类成分。入血成分共得到 81 个痹祺胶囊相关的外源性化合物，包括 59 个吸收原型药物成分和 22 个代谢产物。指纹图谱实验流动相首选采用梯度洗脱程序[22]，试验中分别采用过甲醇-1%冰醋酸水溶液与乙腈-0.1%磷酸水溶液系统进行测定，经比较，采用乙腈-0.1%磷酸水溶液进行梯度洗脱，色谱图基线平直，色谱峰数目多并且分离度较好。含量测定选用较为简单的等度洗脱，以节约时间成本及试剂成本，最终确定乙腈-水-0.1%磷酸（21∶79∶0.1），各相关成分分离度均＞1.5，分离效果较好。

3.1.2 检测波长的选择 指纹图谱研究中采用二极管阵列检测器，在波长 200～400 nm 扫描，并分别在 203、254、280、321 nm 检测波长下色谱图进行比较，203 nm 所得的色谱图不论在色谱峰数目及色谱峰强度上均优于其他波长处色谱图，故确定 203 nm 作为检测波长。含量测定中 3 种成分光谱图差异较大，选取单一波长测定较为困难，故采用多波长同时测定，分别选取 3 种成分的最大吸收波长作为检测波长：甘草苷检测波长为 276 nm，阿魏酸检测波长为 321 nm，丹酚酸 B 检测波长为 286 nm。

3.1.3 其他色谱条件的选择 指纹图谱实验中分别选用 Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Waters Symmetry C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Agilent Zorbax SB-C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）3 种不同品牌的色谱柱；分别进行不同柱温；不同体积流量进行筛选，最终选取 Shiseido Capcell Pak C_{18} MG II（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，35 ℃柱温以及 1.0 mL/min 体积流量的色谱条件。

3.2 供试品溶液制备的确定

指纹图谱及含量测定实验考察了供试品溶液的提取方式（超声处理、加热回流）、提取溶剂（50%、75%、100%甲醇）、提取时间（15、30、45、60 min），指纹图谱提取溶剂量（10、20 mL）、含量测定提取溶剂量（25、50 mL）对各成分提取效率的影响，综合考虑，最终确定供试品溶液制备方法。

3.3 耐用性考察

取同一批痹祺胶囊（批号 S19），指纹图谱采用不同批号色谱柱及不同品牌仪器，含量测定采用不同品牌色谱柱及不同仪器品牌，分别按相应的色谱条件进样检测，指纹图谱相似度在 0.964～0.976，含量测定测定结果均在 2%以内，结果表明色谱柱与仪器均无影响。

3.4 指纹图谱共有峰的确定

痹祺胶囊由 10 味药材组成，均为生粉入药，确定的 36 个共有峰中 1、2、8、32、35 号峰归属于多个药材，其余峰均归属于单一药材。从药材分析，茯苓药材峰数最少，仅有 2 个，甘草药材峰数最多，共计 11 个，与甘草中成分吸收值较高相关，党参、

牛膝、白术、茯苓、地龙等 5 味药材其峰面积吸收值整体偏低，党参炔苷、β-蜕皮甾酮等成分在指纹图谱未检出，一方面是因为这些成分在药材中本身含量较低，另一方面是因为有的成分无明显的紫外吸收。

本实验建立的 HPLC 指纹图谱及含量测定方法操作简便，重复性好，建立的对照指纹图谱中 10 味药材均有体现，通过相似度的测定，19 批痹祺胶囊的相似度测定结果均在 0.97 之上，表明痹祺胶囊生产工艺稳定，质量一致性较好，该方法可用于痹祺胶囊质量的全面评价。本实验通过采用中药 Q-Marker 理论，重点开展指纹图谱-含量测定相应检测方法，达到“指纹成分-工艺过程可重现性”“质量物质可测性”和“质量标准稳定性”相关要素研究，为建立痹祺胶囊药品全新的质量管理体系提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1808-1809.

[2] 高晶, 曾勇, 于飞, 等. 痹祺胶囊全方及拆方抗炎镇痛作用研究 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 93-96.

[3] 马登越, 葛群, 李晓彤, 等. 痹祺胶囊联合洛索洛芬钠治疗类风湿性关节炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(6): 1835-1838.

[4] 王琪, 王昊, 王景贵, 等. 痹祺胶囊联合氨基葡萄糖胶囊和玻璃酸钠治疗膝骨关节炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(4): 1147-1152.

[5] 周忠良, 朱俊琛, 苏国宏. 痹祺胶囊联合关节腔内臭氧注射治疗膝骨性关节炎的疗效评价 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1879-1885.

[6] 宋江涛, 姚剑南, 侯俊鹏, 等. 痹祺胶囊联合替扎尼定治疗椎动脉型颈椎病的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(7): 1492-1496.

[7] 黄华生, 郭惠智, 刘腾, 等. 痹祺胶囊治疗腰椎间盘突出症的有效性及安全性的系统评价 [J]. 中医临床研究, 2023, 15(3): 108-113.

[8] 刘素芳, 赵阳, 贾彬, 等. 痹祺胶囊联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎的临床研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1727-1731.

[9] 赵宇, 万军. 高效液相色谱法测定痹祺胶囊中士的宁的含量 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(9): 1086-1088.

[10] 刘建, 韩凤梅, 陈勇. 高效液相色谱法测定痹祺胶囊中马钱子碱、士的宁和丹酚酸 B [J]. 分析化学, 2009, 37(4): 609-612.

[11] 毛迪, 张娜, 刘树民. 高效液相色谱法测定痹祺胶囊和马钱子粉中马钱子碱和士的宁的含量 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(52): 10-11.

[12] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[13] 刘昌孝. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.

[14] 张星艳, 李虎玲, 李新, 等. 痹祺胶囊研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2746-2757.

[15] 阳长明, 杨平, 刘乐环, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究进展及对中药质量研究的思考 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2519-2526.

[16] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.

[17] 蒙雪雁, 江露娟, 丘琴, 等. 中药抗类风湿性关节炎质量标志物的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(4): 48-53.

[18] 刘建庭, 仉瑜, 卜睿臻, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 的痹祺胶囊化学物质组及入血成分的研究 [J]. 中草药, 2021, 52(18): 5496-5513.

[19] 姚兆敏, 陈卫东, 仰忠华, 等. 白术研究进展及其质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4796-4807.

[20] 单晓晓, 洪帮振, 刘洁, 等. 丹参化学成分、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(21): 5496-5511.

[21] 刘耀晨, 张铁军, 郭海彪, 等. 三七的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2733-2745.

[22] 经雅昆, 江振作, 刘亚男, 等. HPLC-UV-MS 法同时测定痹祺胶囊中 7 个有效成分 [J]. 中成药, 2012, 34(8): 1492-1496.

[责任编辑 郑礼胜]