

HPLC-MS 测定小儿安神补脑颗粒中 8 个成分的含量

高厚明, 胡兆流, 郑平, 李中桂, 郑琳, 邱静宇, 易铁钢, 张尚斌, 陈剑平*
(深圳市中医院 深圳市医院中药制剂研究重点实验室, 广东 深圳 518033)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱-串联质谱法同时测定小儿安神补脑颗粒中 8 个成分的含量测定方法。方法:采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-10 mol·L⁻¹ 乙酸铵(B)水溶液,梯度洗脱;进样量 10 μL。质谱条件采用电喷雾离子源,正负离子同时检测,扫描方式为选择离子扫描模式。结果:甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷线性范围分别在 0.019 5~2.5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 1$), 0.078 1~5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 2$), 0.078 1~5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.312 5~50 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$), 0.019 5~2.5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 2$), 0.078 1~10 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 0$), 0.312 5~20 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 4$), 0.019 5~1.25 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 0$);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均 <2%;平均回收率在 95.07%~97.79%, RSD 均 <2%;甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷样品含量测定结果依次为 187.5~188.1, 330.0~331.0, 312.1~319.5, 1509.0~1510.2, 172.2~173.0, 180.0~181.0, 639.0~639.8, 37.5~38.2 μg·g⁻¹。结论:该方法简单、准确、灵敏、重复性好,可用于小儿安神补脑颗粒的质量评价与控制。

[关键词] 小儿安神补脑颗粒;甘草苷;毛蕊异黄酮葡萄糖苷;甘草酸铵;柚皮苷;3,6'-二芥子酰基蔗糖;橙皮苷;新橙皮苷;黄芪甲苷

[中图分类号] R284.1; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0073-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181911

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180712.1121.024.html>

[网络出版时间] 2018-07-13 11:10

Simultaneous Determination of Eight Components in Xiaoeer Anshen Bunao Granule by HPLC-MS

GAO Hou-ming, HU Zhao-liu, ZHENG Ping, LI Zhong-gui, ZHENG Lin, QIU Jing-yu,
YI Tie-gang, ZHANG Shang-bin, CHEN Jian-ping*

(Shenzhen Key Laboratory of Hospital Chinese Medicine Preparation, Shenzhen
Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518033, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) method for simultaneously determining eight components in Xiaoeer Anshen Bunao granule. **Method:** Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was adopted with acetonitrile-10 mol·L⁻¹ ammonium acetate solution as the mobile phase for gradient elution, and the injection volume was 10 μL. Electrospray ionization (ESI) was used in both positive and negative modes, and the selected ion monitoring (SIM) were used for scanning. **Result:** Liquiritin, calycosin-7-O-β-D-glucoside, ammonium glycyrrhizinate, naringin, 3, 6'-disinapoyl sucrose, hesperidin, neohesperidin, astragaloside IV showed a good linearity in the ranges of 0.019 5-2.5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 1$), 0.078 1-5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 2$), 0.078 1-5 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.390 6-50 mg·L⁻¹

[收稿日期] 20180205(018)

[基金项目] 深圳市科技计划项目(JCYJ20150401163247216, ZDSYS201606081515458);广东省中药药局项目(20151079);中华人民共和国人力资源和社会保障部留学人员科技活动项目(人社厅函[2015]192号)

[第一作者] 高厚明,副主任中药师,从事中药学工作, Tel:0755-83001884, E-mail:178894538@qq.com

[通信作者] *陈剑平,博士,主管中药师,从事中药学工作, Tel:0755-22664107, E-mail:lycjp@126.com

($r = 0.9999$), $0.0195\text{--}2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r = 0.9992$), $0.0781\text{--}10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r = 0.9990$), $0.3125\text{--}20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r = 0.9994$), $0.0195\text{--}1.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r = 0.9990$), respectively. Relative standard deviations (RSDs) of precision, stability and reproducibility were all less than 2.0%. The recoveries for the eight analytes were between 94.67% and 97.79%, with RSD less than 2.0%. The contents of liquiritin, calycosin-7- O - β - D -glucoside, ammonium glycyrrhizinate, naringin, 3, 6'-disinapoyl sucrose, hesperidin, neohesperidin, and astragaloside IV were 187.5-188.1, 330.0-331.0, 312.1-319.5, 1509.0-1510.2, 172.2-173.0, 180.0-181.0, 639.0-639.8, and 37.5-38.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** This method is simple, accurate, sensitive and repeatable, which can be used for identification, quality evaluation of Xiaoe Anshen Buao granule.

[**Key words**] Xiaoe Anshen Buao granule; liquiritin; calycosin-7- O - β - D -glucoside; ammonium glycyrrhizinate; naringin; 3, 6'-disinapoyl sucrose; hesperidin; neohesperidin; astragaloside IV

小儿安神补脑颗粒是根据我院儿科专家多年治疗小儿抽动症临床经验累积研制而成的院内中药制剂(批准文号:粤 ZB20111276)。该方由黄芪、远志、枳壳、陈皮、甘草等十八味药组成,具有涤痰止惊、安神补脑的功效,主要用于小儿多发性抽动症、多动综合征、夜啼和夜寐不安等神明受扰诸症^[1-3]。

目前小儿安神补脑颗粒的质量控制标准仅有薄层色谱定性鉴别,未见定量含量测定的方法,不能全面控制制剂的质量以保证临床用药的安全和有效性。中药制剂成分复杂,如建立单一成分含量测定不能有效评价制剂内在质量,因此选择多个具有代表性的成分作为中药质量标志物测定,达到系统性、整体性评价中药制剂的目的是目前常用的质量评价手段^[4]。小儿安神补脑颗粒中黄芪、远志作可以补益元气、益智安神,枳壳、陈皮具有行滞消胀、燥湿化痰的功效,甘草则可以补脾益气、调和诸药。现代药理研究表明,黄芪的指标成分为黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷^[5]、远志的指标成分为 3,6'-二芥子酰基蔗糖^[6-10]、枳壳的指标成分为柚皮苷和新橙皮苷^[11]、陈皮的指标成分为橙皮苷^[12]以及甘草指标成分为甘草苷和甘草酸铵^[13]。

目前已有对含黄芪、远志、枳壳、陈皮和甘草的复方制剂成分含量测定的文献,多是以一类组分作为检测目标,未见同时测定以上饮片中多组分含量的研究^[14-19]。本实验建立了同时测定小儿安神补脑颗粒中 8 个有效成分含量的方法,简化了黄芪甲苷的提取纯化步骤,既能为小儿安神补脑颗粒的质量控制标准和安全性提供科学依据,也为同类复方制剂中成分含量测定提供参考。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪, LC-2020 型质谱仪, LC solution 色谱工作站, AUW220D 型电子天平(日本岛津公司); CQ-250L-DST 型超声波清洗机

(上海跃进医用光学器械厂)。

小儿安神补脑颗粒(深圳市中医院制剂中心, 批号 20160509, 20160707, 20160802), 甘草苷(批号 111610-201106), 毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201505), 甘草酸铵(批号 110731-201418), 橙皮苷(批号 110721-201316), 新橙皮苷(批号 11857-201102), 葛根素(批号 110752-200912), 黄芪甲苷(批号 110781-200613), 均购自中国食品药品检定研究院。柚皮苷(批号 60291), 3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 70069)购于中药检测实验室(中国香港), 以上纯度均 > 98%; 甲醇、乙酸铵、乙腈均为色谱纯; 流动相用水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 实验条件

2.1.1 色谱条件 TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 乙腈(A)-10 mol·L⁻¹ 乙酸铵(B)为流动相进行梯度洗脱(0.01 ~ 22 min, 15% ~ 35% A, 流速 0.8 mL·min⁻¹; 22.1 ~ 35 min, 90% A, 流速 1 mL·min⁻¹; 35.1 ~ 40 min, 15% A, 流速 0.8 mL·min⁻¹); 光二极管阵列检测器(DAD)与质谱检测器(MS)分流, 分流比为 3:1, 检测波长 260 nm, 进样量 10 μL 。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 检测电压 3.5 kV; 雾化器压力 241 kPa; 干燥气 N₂, 流速 1.5 L·min⁻¹; ESI 温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 。正负离子方式同时检测, 扫描方式为选择离子扫描模式(SIM), 用于定量分析的监测离子为甘草苷 m/z 417 [M - H]⁻, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 m/z 481.0 [M + Cl]⁻, 甘草酸铵 m/z 840.5 [M + H]⁺, 柚皮苷 m/z 579.53 [M - H]⁻, 3,6'-二芥子酰基蔗糖 m/z 753.25 [M - H]⁻, 橙皮苷 m/z 609.15 [M - H]⁻, 新橙皮苷 m/z 609.15 [M - H]⁻, 黄芪甲苷 m/z 807.4 [M + Na]⁺; 葛根素为内标, 监测离子 m/z 415.15 [M - H]⁻。

2.2 溶液制备

2.2.1 内标物的制备 取葛根素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液,即得。

2.2.2 对照品的制备 分别称取甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成含甘草苷 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,毛蕊异黄酮葡萄糖苷 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,甘草酸铵 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,柚皮苷 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,3,6'-二芥子酰基蔗糖 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,橙皮苷 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,新橙皮苷 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和黄芪甲苷 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的单一对照品溶液,即得。

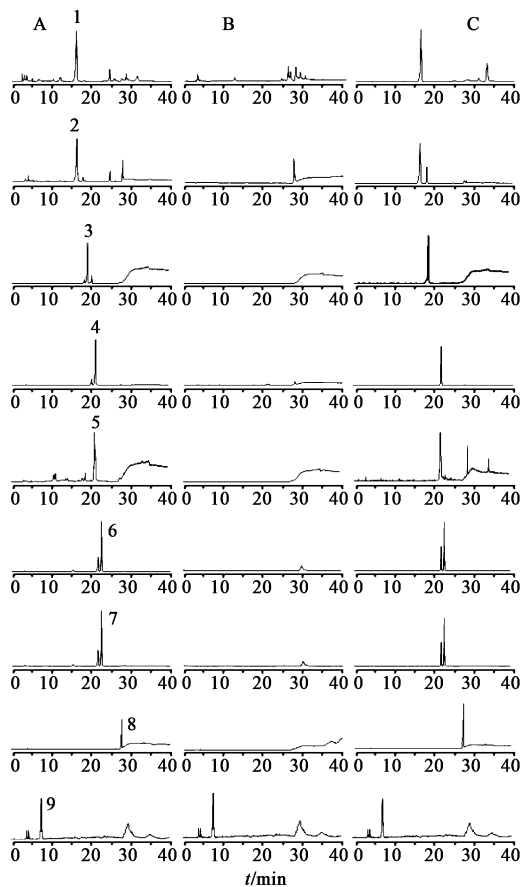
2.2.3 供试品的制备 取供试品(批号 20160802)适量,研细,取约 0.2 g 粉末,精密称定,加甲醇 30 mL 溶解,称质量,超声(250 W,40 kHz) 45 min 取出,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,过 0.45 μm 的微孔滤膜。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按小儿安神补脑颗粒处方比例以及制备工艺分别制备不含黄芪、枳壳、陈皮、远志及甘草的阴性样品,按 2.2.3 项下方法操作制得阴性样品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察 取以上对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10 μL ,在上述色谱质谱条件下进行测定。结果供试品在与对照品相同的保留时间处有相同色谱峰;而黄芪阴性样品(不含黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷),枳壳阴性样品(不含柚皮苷和新橙皮苷),陈皮阴性样品(不含橙皮苷),远志阴性样品(不含 3,6'-二芥子酰基蔗糖)及甘草阴性样品(不含甘草苷和甘草酸铵)均在与对照品相同保留时间处未见相应色谱峰,表明阴性无干扰,专属性强。其选择离子流质谱图见图 1。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取各对照品贮备液适量于同一量瓶,加甲醇逐级稀释得一系列混合对照溶液(甘草苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,黄芪甲苷 0.019 5, 0.078 1, 0.312 5, 0.625, 1.25, 2.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草酸铵 0.078 1,0.312 5,0.625,1.25,2.5,5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;橙皮苷 0.078 1,0.312 5,0.625,1.25,2.5,5,10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;新橙皮苷 0.312 5,0.625 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;柚皮苷 0.312 5,0.625,1.25,2.5,5,10, 20,25,50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),最后加入内标溶液 20 μL ,按上述色谱-质谱条件测得峰面积,并以峰面积(Y)与质量浓度(X)绘制标准曲线并进行线性回归计算,得相应的标准曲线回归方程,结果表明各成分在相应



1. 甘草苷;2. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷;3. 甘草酸铵;4. 柚皮苷;5. 3,6'-二芥子酰基蔗糖;6. 橙皮苷;7. 新橙皮苷;8. 黄芪甲苷;9. 葛根素(内标)
图 1 供试品(A), 阴性对照(B)及混合对照品(C)选择离子流
Fig.1 SIM chromatograms of sample (A), negative control (B) and mix standards (C)

的线性范围内线性关系良好。同时,以峰面积为噪音 3 倍($S/N=3$)和 10 倍($S/N=10$)的进样浓度为检测下限和定量下限,结果见表 1。

2.3.3 精密度试验 精密量取上述对照品溶液,按上述色谱条件重复进样 6 次,测定峰面积并计算其 RSD。结果甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷的 RSD 分别是 1.7%,0.4%,0.5%,1.5%,1.3%,1.2%,0.4% 和 1.9% ($n=6$),表明该仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取上述供试品溶液(批号 20160802),分别于 0,2,6,8,12,24 h 进样,每次 10 μL ,记录峰面积。结果甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷峰面积的 RSD 分别为 1.7%,1.3%,0.8%,1.9%,1.6%,1.6%,1.8% 和 1.9% ($n=6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

表 1 回归方程、线性范围和检测限、定量限

Table 1 Regression equation, linear range and the limits of quantitation and detection

组分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	检测限/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	定量限/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
甘草苷	$Y=5.810X+0.224$	0.999 1	0.019 5 ~ 2.5	0.005	0.015
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=5.592X-0.036 6$	0.999 2	0.078 1 ~ 5	0.01	0.03
甘草酸铵	$Y=1.691X+0.015$	0.999 8	0.078 1 ~ 5	0.02	0.05
柚皮苷	$Y=1.804X+0.389$	0.999 9	0.312 5 ~ 50	0.01	0.04
3,6'-二芥子酰基蔗糖	$Y=1.422X+0.068$	0.999 2	0.019 5 ~ 2.5	0.005	0.015
橙皮苷	$Y=2.207X+0.567$	0.999 0	0.078 1 ~ 10	0.01	0.03
新橙皮苷	$Y=1.908X+0.581$	0.999 4	0.312 5 ~ 20	0.01	0.03
黄芪甲苷	$Y=3.276X+0.111$	0.999 0	0.019 5 ~ 2.5	0.003	0.01

2.3.5 重复性试验 取同批样品(批号 20160802) 6 份,按 2.2.3 项下操作方法平行制备 6 份溶液进行测定,记录峰面积并计算样品含量。结果甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷的质量分数分别为 187.5, 330.0, 319.5, 1 509.0, 172.2, 180.0, 639.0 和 $37.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.1%,

1.7%, 1.8%, 1.5%, 1.6%, 1.1%, 1.9% 和 1.8% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号 20160802)约 0.1 g,精密称定,共 9 份,分别加入高、中、低 3 组不同浓度对照品,每组 3 份,按 2.2.3 项下操作方法制备溶液,进样测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 小儿安神补脑颗粒中 8 种成分的加样回收率考察($n=3$)

Table 2 Results of recoveries for eight components of Xiaoer Ansher Bunao granule($n=3$)

组分	样品中量					RSD /%	组分	样品中量				
	加入量 / μg	测得量 / μg	平均值 /%	RSD /%	加入量 / μg			测得量 / μg	平均值 /%	RSD /%		
甘草苷	18.65	10	28.20	95.50	1.2	3,6'-二芥子酰基蔗糖	17.25	7.5	24.38	95.07	0.7	
	18.59	15	32.94	95.67	0.7		17.28	15	31.63	95.67	0.8	
	18.61	25	42.96	97.40	0.7		17.22	30	46.00	95.93	0.4	
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	32.95	15	47.27	95.47	0.6	橙皮苷	18.75	10	28.30	95.50	1.1	
	33.01	30	62.01	96.67	0.9		18.79	15	33.05	95.07	1.0	
	33.04	45	76.33	96.20	0.6		18.72	30	47.73	96.70	1.3	
甘草酸铵	31.75	15	46.18	96.20	1.3	新橙皮苷	63.7	30	92.74	96.8	0.8	
	31.70	30	60.70	96.67	1.4		63.8	60	122.25	97.42	0.5	
	31.69	45	75.10	96.47	0.7		64.01	90	151.22	96.90	0.6	
柚皮苷	151.00	75	223.03	96.04	0.7	黄芪甲苷	3.88	1.5	5.31	95.33	0.6	
	151.04	150	295.04	96.00	1.5		3.85	3.75	7.49	97.07	1.9	
	151.03	300	444.41	97.79	0.8		3.82	6.00	9.53	95.17	0.5	

2.4 样品测定 分别取不同批号的小儿安神补脑颗粒样品,精密称定,按 2.2.3 项下方法制备,计算含量,结果见表 3。甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷质控范围分别 $>150.3, 264.5, 252.7, 1207.7, 138.1, 144.5, 511.5, 30.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

实验前期的探索中,本实验采用 HPLC-DAD 对小儿安神补脑颗粒中的主要成分进行分析,发现该制剂中陈皮含有的橙皮苷与远志含有的 3,6'-二芥子酰基蔗糖色谱峰互相干扰,影响成分分离。本实验尝试采用不同梯度洗脱条件、不同流动相和不同

表 3 小儿安神补脑颗粒样品中 8 种成分含量测定 (n=3)

批号	甘草苷	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	甘草酸铵	柚皮苷	3,6'-二芥 子酰基蔗糖	橙皮苷	新橙皮苷	黄芪甲苷
20160509	188.1	330.8	316.0	1 509.6	173.0	180.9	639.8	38.0
20160707	187.9	331.0	312.1	1 510.2	172.8	181.0	639.2	38.2
20160802	187.5	330.0	319.5	1 509.0	172.2	180.0	639.0	37.5

色谱柱,但均达不到基线分离的效果。黄芪中的黄芪甲苷在紫外检测器上没有吸收,2015 年版《中国药典》一部中采用 HPLC-ELSD 进行测定。蒸发光散射器(ELSD)作为通用型检测器,几乎能够测定所有的物质,选用 HPLC-ELSD 法能够同时测定以上所有的成分,但是其灵敏度比 DAD 检测约低一个数量级,需要较高的样品浓度^[20-23]。本实验结果得出,黄芪甲苷含量较少,采用 ELSD 检测将影响实验的灵敏度和重复性。随着联用技术的日趋成熟,HPLC-MS 日益显现出较优的性能,如检测限低。同时 MS 具有高灵敏度,其检测能力比传统紫外和 ELSD 可以提高一个数量级以上,特别是对于那些没有紫外吸收的样品检测。此外,MS 分离能力强,不要求被测成分在色谱上完全分离,通过特征离子质量色谱图来进行定性定量分析,这对于分析中药复方制剂中含有相对复杂的化学成分具有较强的优势。

经过实验,HPLC-MS 法解决了本制剂中橙皮苷与 3,6'-二芥子酰基蔗糖色谱峰的分离问题,以及达到同时测定制剂中黄芪甲苷的含量。本研究的 MS 采用 SIM 的模式,相比于多反应监测模式(MRM)专属性较低。橙皮苷和新橙皮苷具有相同的分子式及相对分子质量,都属于黄酮类化合物中的二氢黄酮类,在负离子模式下它们的分子离子均为 m/z 609.15 $[M-H]^-$ 。为解决这一问题,试验过程中通过借助紫外检测器确认 2 个成分色谱峰的保留时间,从而进行指认和区分,弥补了这一不足。在对各被测成分的质谱参数进行优化中发现,黄芪甲苷在正离子检测模式下响应较好,其他 7 个成分在负离子模式下的响应高于正离子模式,综合以上情况确定同时选择正负离子模式对本制剂中 8 个主要成分进行检测。

所选的 8 个检测成分中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷及新橙皮苷属于二氢黄酮类化合物,而毛蕊异黄酮葡萄糖苷、葛根素含有异黄酮结构,以上都具有相似的母核,相近的相对分子质量,并且葛根素作为内标

物在 MS 中响应强,出峰时间早,对所测 8 个成分分离无干扰,适宜作为本方法的内标物,但目前的研究只选用单个内标物而没有针对所有成分选用多个内标物是本研究的不足之处,这个在后续的研究中将改进。

此外,本试验还对甲醇-水、乙腈-水、乙腈-甲酸水溶液、乙腈-乙酸铵水溶液、乙腈-氨水溶液等流动相体系进行了考察。结果表明,采用乙腈-乙酸铵水溶液作为流动相时,不仅能提高待测成分的响应值,且样品中各成分的色谱峰分离较好。因此,最终选用乙腈-10 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液作为本实验的流动相。

综上,本研究建立了测定甘草苷,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,甘草酸铵,柚皮苷,3,6'-二芥子酰基蔗糖,橙皮苷,新橙皮苷和黄芪甲苷含量的方法,该方法具有准确,灵敏度高、快速、稳定性好等特点,可作为该制剂中化学指标成分含量测定的质量控制手段。

[参考文献]

[1] 刘岩. 小儿安神补脑颗粒治疗多发性抽动症的临床研究[D]. 广州:广州中医药大学,2009.

[2] 刘映玲. 小儿安神补脑颗粒剂治疗儿童抽动症的临床研究[D]. 广州:广州中医药大学,2008.

[3] 邱静宇,刘岩. 小儿安神补脑颗粒治疗小儿多发性抽动症 60 例临床研究[J]. 中医儿科杂志,2010,6(1): 33-36.

[4] 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.

[5] 梁丽娟,赵奎君,屠鹏飞,等. HPLC 法同时测定黄芪中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 中国药房,2010,21(15):1385-1387.

[6] 刘大伟,康利平,马百平,等. 远志化学及药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2012,39(1):32-36,44.

[7] 陈旭. 3,6'-二芥子酰基蔗糖促神经元再生和神经保护发挥抗抑郁作用的机制研究[D]. 太原:山西医科大学,2011.

- [8] 刘屏,王东晓,郭代红,等. 远志 3,6'-二芥子酰基蔗糖在药物诱发抑郁模型上的药效评价[J]. 中国药学杂志,2008,43(18):1391-1394.
- [9] 王海波,刘勇,矫承媛,等. 不同产地远志中远志吡啶Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷 A 含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(10):39-41.
- [10] 王丹丹,白璐,许晓双,等. 从农艺性状及化学成分测定分析远志药材商品品规和良种选育的合理性[J]. 中国中药杂志,2016,41(20):3733-3740.
- [11] 王发英,徐欢,杨武亮,等. 枳壳质量标准研究[J]. 中成药,2009,31(12):1897-1901.
- [12] 宋保兰. 陈皮药理作用[J]. 实用中医内科杂志,2014,28(8):132-133.
- [13] 张明发,沈雅琴. 甘草消化系统中的药理研究进展[J]. 上海医药,2009,30(6):264-267.
- [14] 杨改红,程昊,黄群,等. HPLC-MS/MS 快速测定远志中远志吡啶Ⅲ和 3,6'-二芥子酰基蔗糖的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):39-42.
- [15] 梁咏倩,余积聪,宋粉云. 高效液相色谱-三波长检测-梯度洗脱法同时测定橘红化痰丸中 3 种苷类成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(10):80-83.
- [16] 牛晓静,鲁静,段晓颖,等. HPLC 同时测定健脾舒胃凝胶中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵 5 种成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(2):77-79.
- [17] 宋剑锋,冯敬骞,胡建华,等. HPLC 法同时测定常山胡柚花中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的量[J]. 中草药,2014,45(6):854-856.
- [18] 刘玉红,杨季菱,覃芳,等. 当归补血颗粒不同冲化方法黄芪甲苷含量比较[J]. 河南中医,2016,36(7):1287-1290.
- [19] 陈开,周静,李敏,等. 基于大孔树脂的黄芪中黄芪甲苷提取液纯化工艺研究[J]. 中国中医急症,2017,26(11):1881-1883.
- [20] 姜丽丽,张传领,苏丽娟,等. HPLC-UV 法测定黄芪干燥根中黄芪甲苷的含量[J]. 安徽农业科学,2014,42(22):7381-7383.
- [21] 裴彩云,王宗权,贾继明,等. HPLC-ELSD 内标法测定 8 个产地黄芪药材饮片中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1982-1984.
- [22] 罗雨,李文龙,黄文华,等. HPLC-UV-ELSD 同时测定黄芪水提液与含醇提取物中 6 种成分[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):850-858.
- [23] 刘宗洋,赵文文,武婧悦,等. HPLC-ELSD 测定壮药山绿茶中 3 对三萜同分异构体含量[J]. 中国中药杂志,2018,43(8):1662-1666.

[责任编辑 顾雪竹]