

基于多成分测定的贞芪扶正颗粒质量控制

任承涛^{1,2}, 田莲超², 李云², 李春², 易红², 张东², 冯霞霞²,
张文文², 刘晓谦^{2*}, 王智民^{2*}

(1. 河南中医药大学 药学院, 郑州 450046; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:建立 HPLC 测定方法对市售贞芪扶正颗粒(由女贞子、黄芪组成,其制剂包括有糖型和无糖型)整体质量进行评估,以提出适宜的质量控制策略,为提升贞芪扶正颗粒质量控制标准服务。方法:分别采用两个洗脱系统对贞芪扶正颗粒中 6 个化学成分(红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷)进行测定。色谱系统 I:流动相甲醇-水,梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,二极管阵列检测器检测,检测波长分别为 224,250,275 nm。色谱系统 II:流动相甲醇-水(80:20),流速 1.0 mL·min⁻¹,蒸发光散射检测器检测,漂移管温度为 75 °C,载气流速 1.5 L·min⁻¹。对来源于不同厂家的 80 批贞芪扶正颗粒进行含量测定,并对质量特征进行统计学分析。结果:6 个主要成分在 80 批贞芪扶正颗粒中均可检出,但含量差异较大。单因素方差分析检验结果显示,在含糖型制剂中,厂家 4 与其他厂家之间具有显著性差异($P < 0.05$);在无糖型制剂中,厂家 3 与其他厂家之间具有显著性差异($P < 0.05$);从成分上来说,显著性差异更多的集中在来源于女贞子的特女贞苷、红景天苷 2 个成分上。结论:增加贞芪扶正颗粒中女贞子的相关控制指标对于规范药品生产、提高药品品质意义重大。

[关键词] 贞芪扶正颗粒; 含量测定; 高效液相色谱-蒸发光散射; 单因素方差分析

[中图分类号] R284.1;R284.2;R289;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)09-0150-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190919

Quality Control of Zhenqi Fuzheng Granule Based on Multi-component Determination

REN Cheng-tao^{1,2}, TIAN Lian-chao², LI Yun², LI Chun², YI Hong², ZHANG Dong², FENG Xia-xia²,
ZHANG Wen-wen², LIU Xiao-qian^{2*}, WANG Zhi-min^{2*}

(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To estimate the overall quality characteristics of Zhenqi Fuzheng granules (ZQFZ), which were composed of Ligustri Lucidi Fructus and Astragali Radix and collected from different manufacturers (their final preparations included two types, contained sugar and sugar free) by established HPLC methods, in order to propose an appropriate quality-control strategy for promoting the quality control specification of ZQFZ. **Method:** The quantification of the 6 components (rhodiolioside, calycosin-7-O-β-D-glucoside, specnuezhenide, ononin, calycosin and astragaloside IV) were performed on a C₁₈ column with two chromatographic systems. Chromatographic system I: methanol and water were adopted as mobile phase with gradient elution, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and optimum detection waves were at 224, 250 and 275 nm respectively. Chromatographic system II: methanol and water (80:20) were adopted as mobile phase with gradient elution at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, and the detector parameters were set as follows: the drift tube temperature was 75 °C, and the carrier gas flow rate was 1.5 L·min⁻¹. Both column temperatures were at 30 °C.

[收稿日期] 20181126(010)

[基金项目] 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-JL-26)

[第一作者] 任承涛,在读硕士,从事中药质量控制研究,E-mail:renchengtao_2008@126.com

[通信作者] * 刘晓谦,副研究员,从事中药制剂与质量控制,Tel/Fax:010-84017310,E-mail:lianyu1127@126.com;

* 王智民,研究员,从事中药药效物质基础及质量评价研究,Tel/Fax:010-84014128,E-mail:zhm123@263.net

All of the 80 batches of ZQFZ from different manufacturers were determined and analyzed. **Result:** All of the six markers could be detected in 80 batches of ZQFZ, but their contents were quite different. The results of the one-way ANOVA showed significant differences between manufacturer 4 and other three manufacturers in sugar-containing preparations ($P < 0.05$). And for sugar-free preparations, manufacturer 3 was significant different from other manufacturers ($P < 0.05$). The differences were concentrated in components of rhodiolide and specnuezhenide derived from crude maternal of Ligustri Lucidi Fructus. **Conclusion:** It is of great significance to increase relevant quality control markers of Ligustri Lucidi Fructus in ZQFZ, such as rhodiolide and specnuezhenide, for standardizing production and improving quality level.

[**Key words**] Zhenqi Fuzheng granules; quantitative determination; HPLC-ELSD; one-way ANOVA

贞芪扶正颗粒收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册中^[1],由黄芪和女贞子组成;具有提高人体免疫力,补气养阴,保护骨髓和肾上腺皮质的功能;多用于久病体虚,气阴不足的治疗;对癌症患者放、化疗后白细胞减少有明显提升作用,疗效确切^[2-4]。目前,贞芪扶正颗粒仅以黄芪甲苷作为该类制剂含量测定指标,对女贞子等药味并没有提出指标控制要求^[5],无法全面控制该类制剂的内在质量。国外对植物药及其制剂的认识和接受,主要是依据植物药中所含的化学成分,国际植物药市场出现的标准植物药制剂的概念,主要是基于制剂中可控成分的分析,并且较多是规定其中可控成分的种类和数量^[6],因此更多的成分含量或药效指标的测定,对提升中药制剂的质量和实现中药现代化具有积极的意义。

目前法定标准为采用薄层扫描法测定贞芪扶正颗粒中黄芪甲苷的含量^[7],近年来有关于 HPLC 法测定贞芪扶正颗粒中特女贞苷含量的报道^[8],以及红景天苷和毛蕊异黄酮^[9]、毛蕊异黄酮和芒柄花素^[10]同时测定的报道。而多成分同时测定的方法未见文献报道。考虑到 HPLC-ELSD 测定黄芪甲苷的方法较为普遍^[11],故本文采用此方法测定贞芪扶正颗粒中黄芪甲苷的含量,HPLC-PDA 对红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮 5 个成分同时测定,在此基础上建立了贞芪扶

正颗粒 6 个成分的含量测定方法,对方剂中的 2 味药味中的指标成分同步控制,可全面反映贞芪扶正颗粒的质量。同时通过对不同厂家样本的质量特征分析,为贞芪扶正颗粒质量控制提供更多的数据支持。

1 材料

Shimadzu LC 20A 型高效液相色谱仪(包括 LC-20AT 溶液传输单位, SIL-20A 自动进样器, SPD-M20A 二极管阵列检测器, LC Solution 色谱工作站, 日本岛津公司), 3300 型 ELSD 蒸发光散射检测器(美国 Alltech 公司)。Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), KQ-250DE 型数控超声仪(江苏昆山超声仪优先公司)。

甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。红景天苷(批号 H-040-170522,纯度 > 98%),毛蕊异黄酮苷(批号 M-020-150626,纯度 > 98%),特女贞苷(批号 T-005-170426,纯度 > 98%),毛蕊异黄酮(批号 M-021-170517,纯度 > 98%),黄芪甲苷(批号 H-013-170117,纯度 > 98%),均购自成都瑞芬思生物科技有限公司。芒柄花苷(批号 170627,纯度 > 98%),购自北京北纳创联生物技术研究院;贞芪扶正颗粒均为市售产品,来自于 6 个厂家 80 个批次,共涉及 2 个规格。规格每袋装 15 g(含糖型),每袋装 5 g(无糖型),信息见表 1,2。

表 1 贞芪扶正颗粒样品(含糖)

Table 1 Samples of Zhenqi Fuzheng granules(sugary)

厂家	批次	批号
厂家 1	3	161229,171012,171014
厂家 2	11	170405,170406,170407,170408,170409,170410,170304,170305,170311,170324,170302
厂家 3	6	k20161185,k20161201,k20170130,k20170576,k20170756,k20170801
厂家 4	12	20160307,20160403,20160601,20160611,20161002,20161111,20161112,20170213,20170724,20170802,20171103,20171130

表 2 贞芪扶正颗粒样品(无糖)

Table 2 Samples of Zhenqi Fuzheng granules(sugar free)

厂家	批次	批号
厂家 1	5	161101,161112,170412,170903,170904
厂家 2	13	170316,170317,170318,170319,180105,180106,180302,180402,170307,170310,170315,170311,170312
厂家 3	8	k20160305,k20161220,k20170241,k20170345,k20170347,k20170705,k20171103,k20171104
厂家 5	13	61102117,61102124,61102148,61102149,61102155,71102113,71102121,71102127,71102130,71102135,61102109,61102131,61102120
厂家 6	9	036161001,074160403,074161007,074170101,074170303,074170602,074170901,074180302,0109170401

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹。色谱系统 I: 流动相甲醇(A)-水(B), 梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~30 min, 10%~40% A; 30~55 min, 40%~55% A), PDA 检测器, 红景天苷的检测波长 275 nm, 毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷的检测波长为 250 nm, 特女贞苷的检测波长 224 nm, 见图 1~3。色谱系统 II: 流动相甲醇-水(80:20), ELSD 检测器, 漂移管的温度 75 ℃, 载气流速 1.5 L·min⁻¹, 增益值为 8, 见图 4。

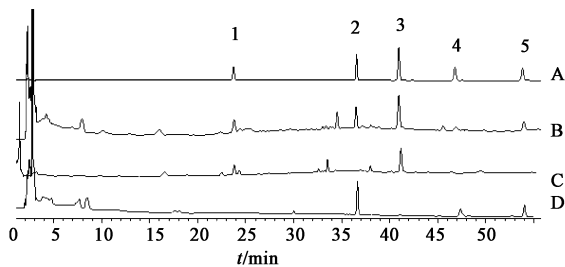


图 1 贞芪扶正颗粒 HPLC-PDA 色谱(275 nm)
A. 对照品; B. 贞芪扶正颗粒样品; C. 缺黄芪阴性颗粒; D. 缺女贞子阴性颗粒; 1. 红景天苷; 2. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 3. 特女贞苷; 4. 芒柄花苷; 5. 毛蕊异黄酮(图 2, 3 同)

图 1 贞芪扶正颗粒 HPLC-PDA 色谱(275 nm)

Fig. 1 HPLC-PDA chromatograms of Zhenqi Fuzheng granules at 275 nm

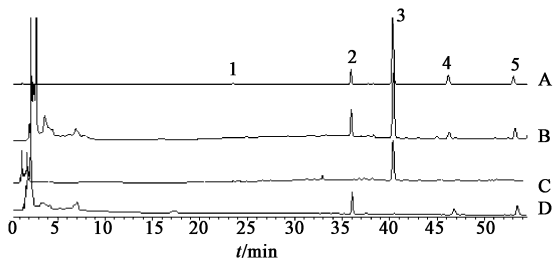


图 2 贞芪扶正颗粒 HPLC-PDA 色谱(250 nm)

Fig. 2 HPLC-PDA chromatograms of Zhenqi Fuzheng granules at 250 nm

2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的贞芪扶正颗粒适量, 研细, 取约 1.8 g(含糖), 0.6 g(无

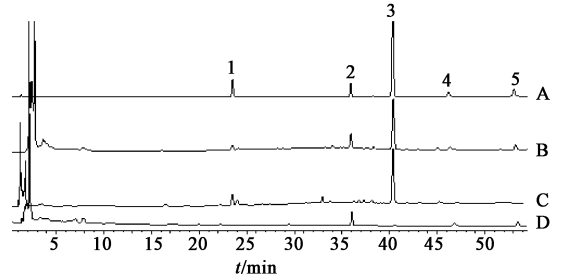
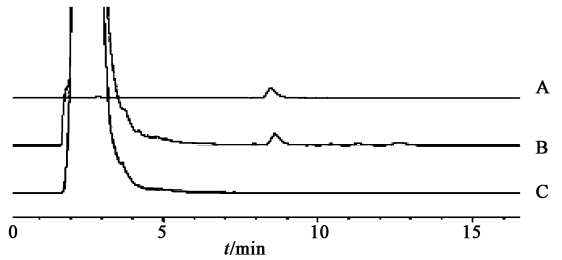


图 3 贞芪扶正颗粒 HPLC-PDA 色谱(224 nm)

Fig. 3 HPLC-PDA chromatograms of Zhenqi Fuzheng granules at 224 nm



A. 黄芪甲苷对照品; B. 贞芪扶正颗粒样品; C. 缺黄芪阴性颗粒

图 4 贞芪扶正颗粒中黄芪甲苷的 HPLC-ELSD 色谱

Fig. 4 HPLC-ELSD chromatograms of astragaloside IV in Zhenqi Fuzheng granules

糖), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 的甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W; 频率 40 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用 80% 的甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 混合对照品溶液的制备 取红景天苷、特女贞苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷等对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含红景天苷 80.4 μg, 特女贞苷 485 μg, 毛蕊异黄酮 9.52 μg, 黄芪甲苷 305 μg, 毛蕊异黄酮苷 16.5 μg, 芒柄花苷 13.4 μg 的混合对照品溶液, 即得。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取 2.3 项下的混合对照品溶液 0.5, 1, 3, 5, 7, 10 μL 注入高效液相色谱仪, 以进样量对峰面积进行回归, 得到 6 个成分的回归方程及线性范围, 见表 3。

表 3 6 个成分的线性方程及线性范围

Table 3 Linearities and ranges of six constituents

对照品	回归方程	r	线性范围/ng
红景天苷	$Y = 2.87 \times 10^5 X + 3.06 \times 10^2$	0.999 9	40.2 ~ 804.0
毛蕊异黄酮苷	$Y = 3.32 \times 10^6 X - 1.14 \times 10^2$	1.000 0	8.3 ~ 165.0
特女贞苷	$Y = 1.22 \times 10^6 X - 2.56 \times 10^2$	0.999 5	242.5 ~ 4 850.0
芒柄花苷	$Y = 3.97 \times 10^6 X + 4.39 \times 10^2$	0.999 9	6.7 ~ 134.0
毛蕊异黄酮	$Y = 5.20 \times 10^6 X - 1.94 \times 10^3$	0.999 7	4.8 ~ 95.2
黄芪甲苷	$\lg Y = 1.32 \lg X + 3.52$	0.999 3	152.5 ~ 3 050.0

2.5 精密度试验 取同一供试品溶液,连续进样 6 次,进样量 20 μL ,测定红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷的峰面积,结果各成分峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 0.3%, 0.2%, 0.6%, 0.9%, 0.7%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品,分别于供试品溶液制备好后 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样,测定红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷的峰面积,结果各成分峰面积的 RSD 分别为 2.4%, 0.8%, 0.9%, 0.6%, 0.2%, 2.3%。表明 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批号(20161111)的贞芪扶正颗粒约 1.8 g(含糖型),精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,测定红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷的含量,结果各成分质量分数分别为 0.142 0, 0.039 4, 0.895 5, 0.012 0, 0.008 4, 0.089 7 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 1.5%, 0.3%, 0.5%, 0.8%, 0.6%, 2.5%。表明该方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的贞芪扶正颗粒约 0.9 g(含糖型),精密称定,分别加入一定量的对照品,按照 2.2 项下的方法制备供试品溶液,平行 6 份,测定红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷的峰面积,计算各成分的加样回收率及 RSD,结果见表 4。

2.9 样品含量测定 对 80 批贞芪扶正颗粒按 2.2 项下方法制备样品,每个样品平行 2 份,测定 6 个成分的含量,结果见表 5,6。

2.10 不同厂家之间离散程度直观分析 分别对各自厂家多批次样本的各成分的含量范围进行统计,结果见表 7,8。

由表 7,8 可以看出,所测 6 个成分在所有批次样本中均可检出,但不同厂家之间的含量差异较大;这种差异在来源于女贞子药材的红景天苷、特女贞苷 2 个成分方面尤为突出。

选取批次大于等于 5 批的厂家的所有批次样本进行统计,计算其平均含量及 RSD,以对各厂家样本的批间一致性进行评估,结果见表 9,10。

由表 9 可知,含糖型贞芪扶正颗粒各厂家样本间各成分相对高低顺序基本一致,6 个成分的均值均为厂家 2,3 高于厂家 4,其中特女贞苷及黄芪甲苷厂家 2 略高于厂家 3,但其他 4 个成份厂家 3 高于厂家 2;各个厂家各指标成分的批间一致性相差亦较为明显。

由表 10 可知,无糖型贞芪扶正颗粒各厂家样本间各成分相对高低顺序则各不相同;各个厂家各指标成分的批间一致性相差亦较为明显。

2.11 单因素方差分析 为进一步客观统计不同厂家之间的样本差异,采用单因素方差分析对各成分含量差异进行统计分析。

采用 SPSS 20.0 软件对所有样本的主要成分(黄芪甲苷、毛蕊异黄酮苷、红景天苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮)含量进行了单因素方差分析,通过分析样品数据不具有方差齐性的特点,因此选择了 Tamhane's T_2 (基于 t 检验的多重比较)检验。

由表 11 可知,含糖型贞芪扶正颗粒中红景天苷,厂家 1 与其他厂家样本均存在显著差异,厂家 2,3 质量接近,但均与厂家 4 存在显著差异;特女贞苷,厂家 4 与厂家 1,2 样本均具有显著性差异,其他厂家质量接近;毛蕊异黄酮苷,厂家 4 与其他厂家样本均存在显著性差异,厂家 1,2,3 质量接近;黄芪甲苷,厂家 1 与厂家 2,3 样本均具有显著性差异,厂家 2,3 质量接近,厂家 4 与其他厂家均没有显著性差异;芒柄花苷,厂家 1,2 质量接近与厂家 3,4 均具有显著性差异,厂家 3 与其他厂家之间有显著性差异,厂家 4 与厂家 2,3 之间均具有显著性差异;毛蕊异黄酮,厂家 3 与厂家 2,4 之间具有显著性差异。整体认为,厂家 4 与其他厂家之间具有显著性差异。而从成分来说,不同厂家之间的显著性差异主要集中在来源于女贞子的红景天苷、特女贞苷 2 个成分上。

由表 12 可知,红景天苷,除厂家 2,5 较为接近,其他各个厂家之间均具有显著性差异;特女贞苷,厂家 1,3,厂家 2,5,厂家 5,6 之间质量接近,其他厂家之间具有显著性差异;毛蕊异黄酮苷,厂家 1,2,3 之间均具有显著性差异,其中厂家 3,5 之间又具有显著性差异,厂家 6 与其他厂家之间都没有显著性差异;黄芪甲苷,厂家 2,3 与厂家 6 之间没有显著性差异,其他厂家之间都有显著性差异;芒柄花苷,

表 4 贞芪扶正颗粒中 6 个成分的加样回收率

Table 4 Recoveries of six constituents in Zhenqi Fuzheng granules

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
红景天苷	0.904 2	0.128 4	0.127 0	0.251 4	96.85	97.76	1.6
	0.905 0	0.128 5	0.127 0	0.254 4	99.13		
	0.907 4	0.128 9	0.127 0	0.256 2	100.24		
	0.904 5	0.128 4	0.127 0	0.251 9	97.24		
	0.905 6	0.128 6	0.127 0	0.251 2	96.54		
	0.906 0	0.128 7	0.127 0	0.251 3	96.54		
毛蕊异黄酮苷	0.904 2	0.035 6	0.038 0	0.073 1	98.68	97.81	0.8
	0.905 0	0.035 7	0.038 0	0.072 7	97.37		
	0.907 4	0.035 8	0.038 0	0.073 4	98.95		
	0.904 5	0.035 6	0.038 0	0.072 4	96.84		
	0.905 6	0.035 7	0.038 0	0.072 8	97.63		
	0.906 0	0.035 7	0.038 0	0.072 7	97.37		
特女贞苷	0.904 2	0.809 7	0.820 0	1.593 7	95.61	95.89	0.9
	0.905 0	0.810 4	0.820 0	1.594 1	95.57		
	0.907 4	0.812 6	0.820 0	1.594 9	95.40		
	0.904 5	0.810 0	0.820 0	1.593 0	95.49		
	0.905 6	0.811 0	0.820 0	1.612 1	97.70		
	0.906 0	0.811 3	0.820 0	1.594 9	95.56		
芒柄花苷	0.904 2	0.010 9	0.011 0	0.021 5	96.36	96.82	1.3
	0.905 0	0.010 9	0.011 0	0.021 8	99.09		
	0.907 4	0.010 9	0.011 0	0.021 6	97.27		
	0.904 5	0.010 9	0.011 0	0.021 4	95.45		
	0.905 6	0.010 9	0.011 0	0.021 5	96.36		
	0.906 0	0.010 9	0.011 0	0.021 5	96.36		
毛蕊异黄酮	0.904 2	0.007 6	0.008 5	0.016 1	100.00	99.02	1.4
	0.905 0	0.007 6	0.008 5	0.016 0	98.82		
	0.907 4	0.007 6	0.008 5	0.016 2	101.18		
	0.904 5	0.007 6	0.008 5	0.015 9	97.65		
	0.905 6	0.007 6	0.008 5	0.016 0	98.82		
	0.906 0	0.007 6	0.008 5	0.015 9	97.65		
黄芪甲苷	0.904 2	0.081 1	0.090 0	0.171 4	100.33	100.19	1.1
	0.905 0	0.081 2	0.090 0	0.170 5	99.22		
	0.907 4	0.081 4	0.090 0	0.173 3	102.11		
	0.904 5	0.081 1	0.090 0	0.171 6	100.56		
	0.905 6	0.081 2	0.090 0	0.170 3	99.00		
	0.906 0	0.081 3	0.090 0	0.171 2	99.89		

厂家 1 与厂家 2,3,6 之间均具有显著性差异,厂家 2 与厂家 3,5 之间具有显著性差异,厂家 3,5 之间,5,6 之间都具有显著性差异;毛蕊异黄酮,厂家之间

不具有显著性差异。整体认为,厂家 3 与其他厂家之间都具有显著性差异。从成分来说,不同厂家之间的显著性主要集中在女贞子的红景天苷、

表 5 32 批贞芪扶正颗粒(含糖)中 6 个成分的质量分数($n=2$)

Table 5 Contents of six constituents in 32 batches of Zhenqi Fuzheng granules(sugary) ($n=2$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

厂家	批号	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	161229	0.074	0.058	1.034	0.021	0.024	0.115
	171012	0.063	0.057	1.190	0.026	0.033	0.093
	171014	0.056	0.054	1.145	0.024	0.033	0.087
2	170405	0.259	0.073	1.372	0.034	0.012	0.169
	170406	0.248	0.071	1.290	0.033	0.014	0.162
	170407	0.236	0.071	1.356	0.033	0.012	0.165
	170408	0.228	0.069	1.336	0.032	0.011	0.160
	170409	0.240	0.068	1.320	0.032	0.013	0.158
	170410	0.239	0.067	1.286	0.032	0.013	0.154
	170304	0.310	0.060	1.430	0.020	0.010	0.150
	170305	0.300	0.050	1.420	0.020	0.010	0.140
	170311	0.310	0.050	1.370	0.020	0.010	0.120
	170324	0.270	0.050	0.990	0.030	0.020	0.120
	170302	0.290	0.060	1.200	0.020	0.020	0.160
3	k20161185	0.411	0.093	1.062	0.040	0.027	0.144
	k20161201	0.387	0.106	1.357	0.044	0.029	0.156
	k20170130	0.718	0.124	0.615	0.037	0.024	0.177
	k20170576	0.463	0.069	0.966	0.033	0.019	0.146
	k20170756	0.293	0.078	1.549	0.037	0.024	0.123
	k20170801	0.364	0.066	0.663	0.031	0.027	0.129
	4	20160307	0.048	0.053	0.217	0.021	0.006
20160403	0.058	0.065	0.327	0.028	0.006	0.124	
20160601	0.082	0.065	0.301	0.028	0.005	0.113	
20160611	0.040	0.027	0.210	0.009	0.017	0.095	
20161002	0.188	0.027	1.085	0.009	0.015	0.097	
20161111	0.142	0.039	0.893	0.012	0.008	0.090	
20161112	0.153	0.036	0.974	0.014	0.009	0.092	
20170213	0.116	0.050	1.044	0.019	0.007	0.079	
20170724	0.215	0.046	0.376	0.022	0.013	0.174	
20170802	0.181	0.042	0.743	0.019	0.011	0.152	
20171103	0.181	0.046	0.394	0.017	0.018	0.143	
20171130	0.122	0.040	0.594	0.016	0.018	0.198	

特女贞苷 2 个成分上。

3 讨论

比较了甲醇、乙醇 2 种提取溶剂,结果甲醇提取能力更好。比较了加热回流和超声提取 2 种方法,没有显著差别,结果选择了操作更简便、时效更高的超声提取。分别考察了 50%,

表 6 48 批贞芪扶正颗粒(无糖)中 6 个成分的质量分数($n=2$)

Table 6 Contents of six constituents in 48 batches of Zhenqi Fuzheng granules(sugar free) ($n=2$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

厂家	批号	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	161101	0.210	0.127	2.594	0.048	0.059	0.215
	161112	0.206	0.143	2.692	0.048	0.064	0.292
	170412	0.163	0.141	1.979	0.063	0.027	0.252
	170903	0.217	0.149	2.252	0.059	0.040	0.247
170904	0.201	0.143	2.229	0.062	0.038	0.231	
2	170316	0.729	0.190	4.652	0.109	0.039	0.348
	170317	0.726	0.190	4.614	0.105	0.034	0.351
	170318	0.615	0.200	5.023	0.103	0.034	0.363
	170319	0.725	0.208	5.084	0.113	0.038	0.330
	180105	0.658	0.128	3.974	0.055	0.054	0.429
	180106	0.726	0.125	4.762	0.071	0.052	0.379
	180302	0.769	0.137	5.589	0.083	0.045	0.396
	180402	0.748	0.186	4.694	0.067	0.049	0.494
	170307	0.800	0.150	3.770	0.050	0.030	0.380
	170310	0.740	0.160	3.180	0.060	0.050	0.450
	170315	0.800	0.220	4.270	0.100	0.040	0.360
170311	0.870	0.170	3.090	0.070	0.050	0.420	
170312	0.800	0.160	3.080	0.070	0.050	0.360	
3	k20160305	2.070	0.252	2.884	0.101	0.101	0.609
	k20161220	1.431	0.308	2.558	0.133	0.066	0.492
	k20170241	1.838	0.375	1.284	0.187	0.035	0.521
	k20170345	1.549	0.339	1.921	0.164	0.042	0.525
	k20170347	1.789	0.344	1.574	0.168	0.044	0.578
	k20170705	1.893	0.214	2.447	0.105	0.081	0.489
	k20171103	1.681	0.236	2.322	0.182	0.031	0.423
k20171104	2.264	0.242	1.698	0.115	0.073	0.537	
5	61102117	0.310	0.184	1.899	0.063	0.068	0.360
	61102124	0.682	0.173	2.716	0.063	0.052	0.398
	61102148	0.790	0.161	7.726	0.056	0.034	0.280
	61102149	1.036	0.159	6.659	0.059	0.046	0.287
	61102155	0.706	0.151	8.398	0.049	0.043	0.280
	71102113	0.528	0.111	4.802	0.036	0.058	0.309
	71102121	0.582	0.129	6.990	0.042	0.048	0.293
	71102127	0.713	0.131	7.916	0.044	0.039	0.305
	71102130	0.629	0.115	6.229	0.038	0.054	0.332
	71102135	0.606	0.137	7.182	0.047	0.041	0.313
	61102109	0.410	0.160	5.060	0.040	0.050	0.230
61102131	0.630	0.170	6.960	0.050	0.050	0.340	
61102120	0.680	0.210	3.270	0.060	0.050	0.380	
6	036161001	0.376	0.174	5.499	0.089	0.057	0.472
	074160403	0.367	0.172	5.768	0.080	0.045	0.369
	074161007	0.477	0.175	5.406	0.088	0.069	0.490
	074170101	0.618	0.198	6.425	0.094	0.094	0.656
	074170303	0.458	0.171	5.482	0.087	0.092	0.432
	074170602	0.285	0.242	4.869	0.118	0.070	0.351
	074170901	0.261	0.169	4.275	0.073	0.134	0.355
074180302	0.443	0.460	5.497	0.147	0.048	0.548	
109170401	0.313	0.165	4.912	0.085	0.092	0.372	

表 7 不同厂家贞芪扶正颗粒(含糖)含量范围

Table 7 Content range of Zhenqi Fuzheng granules(sugary) from different manufacturers mg·g⁻¹

厂家	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	0.056 ~ 0.074	0.054 ~ 0.058	1.034 ~ 1.190	0.021 ~ 0.026	0.024 ~ 0.033	0.087 ~ 0.115
2	0.228 ~ 0.310	0.050 ~ 0.073	0.990 ~ 1.430	0.020 ~ 0.034	0.010 ~ 0.020	0.120 ~ 0.169
3	0.293 ~ 0.718	0.066 ~ 0.124	0.615 ~ 1.549	0.031 ~ 0.044	0.019 ~ 0.029	0.123 ~ 0.177
4	0.040 ~ 0.215	0.027 ~ 0.065	0.210 ~ 1.085	0.009 ~ 0.028	0.005 ~ 0.018	0.079 ~ 0.198

表 8 不同厂家贞芪扶正颗粒(无糖)含量范围

Table 8 Content range of Zhenqi Fuzheng granules(sugar free) from different manufacturers mg·g⁻¹

厂家	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	0.163 ~ 0.217	0.127 ~ 0.149	1.979 ~ 2.692	0.048 ~ 0.063	0.027 ~ 0.064	0.215 ~ 0.292
2	0.615 ~ 0.870	0.125 ~ 0.220	3.080 ~ 5.589	0.050 ~ 0.113	0.030 ~ 0.054	0.330 ~ 0.494
3	1.431 ~ 2.264	0.214 ~ 0.375	1.284 ~ 2.884	0.101 ~ 0.187	0.031 ~ 0.101	0.423 ~ 0.609
5	0.310 ~ 1.036	0.111 ~ 0.210	1.899 ~ 8.398	0.036 ~ 0.063	0.034 ~ 0.068	0.230 ~ 0.398
6	0.261 ~ 0.618	0.165 ~ 0.460	4.275 ~ 6.425	0.073 ~ 0.147	0.045 ~ 0.134	0.351 ~ 0.656

表 9 各厂家贞芪扶正颗粒(含糖)成分均值及 RSD

Table 9 List of mean ingredients and RSD of each manufacturer Zhenqi Fuzheng granules(sugary)

厂家	红景天苷		毛蕊异黄酮苷		特女贞苷		芒柄花苷		毛蕊异黄酮		黄芪甲苷	
	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
2	0.266	11.7	0.063	14.5	1.306	9.4	0.028	22.6	0.013	27.5	0.151	11.3
3	0.439	33.6	0.089	25.4	1.035	35.8	0.037	12.7	0.025	14.1	0.146	13.3
4	0.128	46.7	0.045	27.9	0.599	56.3	0.018	35.8	0.011	44.5	0.122	30.7

表 10 各厂家贞芪扶正颗粒(无糖)成分均值及 RSD

Table 10 List of mean ingredients and RSD of each manufacturer Zhenqi Fuzheng granules(sugar free)

厂家	红景天苷		毛蕊异黄酮苷		特女贞苷		芒柄花苷		毛蕊异黄酮		黄芪甲苷	
	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
1	0.199	10.6	0.141	5.8	2.349	12.4	0.056	13.3	0.046	33.9	0.247	11.7
2	0.747	8.7	0.171	18.0	4.291	19.0	0.081	27.2	0.044	18.4	0.389	12.1
3	1.814	14.9	0.289	20.8	2.086	26.4	0.144	24.3	0.059	42.3	0.522	10.9
5	0.639	27.6	0.153	18.4	5.831	36.1	0.050	19.3	0.049	17.9	0.316	14.5
6	0.400	28.0	0.214	44.6	5.348	11.4	0.096	23.9	0.078	36.2	0.449	23.1

80%,100% 甲醇溶剂的提取效果,结果 80% 甲醇水溶液更能兼顾 6 个成分的溶出。分别考察了 20, 25,30 mL 溶媒的提取效果,结果 25 mL 的溶媒提取含量较高。分别考察了 30,40,50 min 的提取时间,40,50 min 时 6 个成分没有显著性差异,结果选择了更节省时的 40 min 作为提取时间。

采用二极管阵列检测器,分别对其中的 5 个成

分在 190 ~ 400 nm 进行紫外吸收全波长扫描。结果显示毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷的最大吸收波长分别为 250,250,248.8 nm,所以选择 250 nm 作为三者的检测波长;特女贞苷和红景天苷的最大吸收波长分别为 224 nm 和 275 nm,故分别选择各自的最大吸收波长作为二者的检测波长;黄芪甲苷为紫外末端吸收,因而选择了 ELSD 检测器。比较了

表 11 贞芪扶正颗粒(含糖) Tamhane's T2 检验

Table 11 Tamhane's T2 test of ZQFZ Zhenqi Fuzheng granules(sugary)

厂家(I)	厂家(J)	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	2	-0.202 0 ¹⁾	-0.006 3	-0.183 4	-0.004 2	0.016 8	-0.052 4 ¹⁾
	3	-0.375 0 ¹⁾	-0.033 0	0.087 7	-0.013 3 ¹⁾	0.005 0	-0.047 5 ¹⁾
	4	-0.063 8 ¹⁾	0.012 0 ¹⁾	0.519 5 ¹⁾	0.005 8	0.018 8	-0.023 2
2	1	0.202 0 ¹⁾	0.006 3	0.183 4	0.004 2	-0.016 8	0.052 4 ¹⁾
	3	-0.173 0	-0.026 7	0.271 0	0.009 6	-0.011 8 ¹⁾	0.004 9
	4	0.138 3 ¹⁾	0.018 3 ¹⁾	0.702 9 ¹⁾	0.009 9 ¹⁾	0.002 0	0.029 2
3	1	0.375 0 ¹⁾	0.033 0	-0.087 7	0.013 3 ¹⁾	-0.005 0	0.047 5 ¹⁾
	2	0.173 0	0.026 6	-0.271 0	0.009 2 ¹⁾	0.011 8 ¹⁾	-0.004 9
	4	0.311 3 ¹⁾	0.045 0 ¹⁾	0.431 8	0.019 1 ¹⁾	0.013 8 ¹⁾	0.024 3
4	1	0.063 8 ¹⁾	-0.012 0 ¹⁾	-0.519 5 ¹⁾	-0.005 8	-0.018 8	0.023 2
	2	-0.138 3 ¹⁾	-0.018 3 ¹⁾	-0.702 9 ¹⁾	-0.009 9 ¹⁾	-0.002 0	-0.029 2
	3	-0.311 3 ¹⁾	-0.045 0 ¹⁾	-0.431 8	-0.019 08 ¹⁾	-0.013 8 ¹⁾	-0.024 3

注:均值差均(I-J)。¹⁾P<0.05。表 12 同。

表 12 贞芪扶正颗粒(无糖) Tamhane's T2 检验

Table 12 Tamhane's T2 test of Zhenqi Fuzheng granules(sugar free)

厂家(I)	厂家(J)	红景天苷	毛蕊异黄酮苷	特女贞苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	黄芪甲苷
1	2	-0.547 2 ¹⁾	-0.030 5 ¹⁾	-1.941 7 ¹⁾	-0.025 2 ¹⁾	0.002 1	-0.141 8 ¹⁾
	3	-1.615 0 ¹⁾	-0.148 2 ¹⁾	0.263 2	-0.088 4 ¹⁾	-0.013 5	-0.274 4 ¹⁾
	5	-0.439 2 ¹⁾	-0.012 6	-3.482 1 ¹⁾	0.006 2	-0.003 1	-0.068 5 ¹⁾
	6	-0.200 4 ¹⁾	-0.073 4	-2.998 9 ¹⁾	-0.039 7 ¹⁾	-0.032 3	-0.202 0 ¹⁾
2	1	0.547 2 ¹⁾	0.030 5 ¹⁾	1.941 8 ¹⁾	0.025 2 ¹⁾	-0.002 1	0.141 8 ¹⁾
	3	-1.067 8 ¹⁾	-0.117 7 ¹⁾	2.204 9 ¹⁾	-0.063 1 ¹⁾	-0.015 7	-0.132 5 ¹⁾
	5	0.108 0	0.017 9	-1.540 4	0.031 5 ¹⁾	-0.005 2	0.073 3 ¹⁾
	6	0.346 8 ¹⁾	-0.042 9	-1.057 2 ¹⁾	-0.014 4	-0.034 4	-0.060 2
3	1	1.615 0 ¹⁾	0.148 2 ¹⁾	-0.263 2	0.088 4 ¹⁾	0.013 5	0.274 4 ¹⁾
	2	1.067 8 ¹⁾	0.117 7 ¹⁾	-2.204 9 ¹⁾	0.063 1 ¹⁾	0.015 7	0.132 5 ¹⁾
	5	1.175 8 ¹⁾	0.135 6 ¹⁾	-3.745 3 ¹⁾	0.094 6 ¹⁾	0.010 4	0.205 8 ¹⁾
	6	1.414 6 ¹⁾	0.074 8	-3.262 1 ¹⁾	0.048 7	-0.018 8	0.072 3
5	1	0.439 2 ¹⁾	0.012 6	3.482 1 ¹⁾	-0.006 2	0.003 1	0.068 5 ¹⁾
	2	-0.108 0	-0.017 9	1.540 4	-0.031 5 ¹⁾	0.005 2	-0.073 3 ¹⁾
	3	-1.175 8 ¹⁾	-0.135 6 ¹⁾	3.745 3 ¹⁾	-0.094 6 ¹⁾	-0.010 4	-0.205 8 ¹⁾
	6	0.238 8 ¹⁾	-0.060 9	0.483 2	-0.045 9 ¹⁾	-0.029 2	-0.133 5 ¹⁾
6	1	0.200 4 ¹⁾	0.073 4	2.998 9 ¹⁾	0.039 7 ¹⁾	0.032 3	0.202 0 ¹⁾
	2	-0.346 8 ¹⁾	0.042 9	1.057 2 ¹⁾	0.014 4	0.034 4	0.060 2
	3	-1.414 6 ¹⁾	-0.074 8	3.262 1 ¹⁾	-0.048 7	0.018 8	-0.072 4
	5	-0.238 8 ¹⁾	0.060 8	-0.483 2	0.045 9 ¹⁾	0.029 2	0.133 5 ¹⁾

不同的载气流速、不同的温度以及不同的增益值下的信号强度,最后确定了最适合黄芪甲苷出峰的

载气的流速为 1.5 L·min⁻¹,漂移管的温度为 75 ℃,增益值为 8。

黄芪皂苷 I, 黄芪皂苷 II, 黄芪皂苷 IV 3 个化合物的结构相似, 具有相同的苷元, 都在苷元的 3 位连有 1 个木糖, 6 位连有 1 个葡萄糖, 它们的区别在于黄芪皂苷 I 的木糖 2, 3 位各有 1 个乙酰基取代, 黄芪皂苷 II 的木糖 2 位有 1 个乙酰基取代, 黄芪皂苷 IV 的木糖无取代。在碱性条件下, 黄芪皂苷 I, II 乙酰基化生成黄芪皂苷 IV, 即常说的黄芪甲苷, 而碱洗后的黄芪皂苷 IV 占碱洗前黄芪皂苷 I, II, IV 总和的 60% ~ 80%, 反应的完全程度很难控制^[12]。复杂的供试品溶液制备方法不可避免的增大了系统误差, 也影响了方法的稳定性及准确性。而文中供试品溶液方法的制备简单易操作, 避免了以往的碱洗, 正丁醇萃, 过大孔吸附树脂等复杂环节, 极大地提高了方法的稳定性和准确性, 真实地反映了样品中原有的黄芪甲苷的量。

本文主要对 6 个厂家的 80 批次的贞芪扶正颗粒中的红景天苷、毛蕊异黄酮苷、特女贞苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷 6 个成分的含量进行了测定并对其中的主要成分进行了分析。从贞芪扶正颗粒的含量范围的结果可以看出, 不同厂家的含量成分一致, 但含量多少差异较大。尤其是来源于女贞子药材中红景天苷、特女贞苷 2 个成分, 不同厂家间差异尤其明显, 这可能与目前质量标准中未对其相关指标进行控制有关, 因此加强对该指标的控制对于规范投料, 提升药品品质尤为重要。

此外, 通过对各厂家的批间差异进行统计分析, 反映出各厂家间批间差异存在不同程度的问题, 这也是未来药品生产过程中应该关注的问题。开展严格的投料控制和生产过程控制将有利于改善这一问题, 这也是从根本上实现市售产品质量控制, 提高药品安全性、有效性的可行路径。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中药成方制剂第二十册[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1998: 117.
- [2] 刘现辉, 郭晓娜. 贞芪扶正胶囊对再生障碍性贫血大鼠 EPO, IL-2, IL-11 及 CD34⁺ 细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 143-147.
- [3] 陈云. 贞芪扶正颗粒对食管癌化疗患者生存质量及免疫功能的影响[J]. 吉林中医药, 2015, 35(10): 1025-1027.
- [4] 陈仁山, 刘宁, 王震奎, 等. 贞芪扶正颗粒调节慢性心力衰竭患者新功能及免疫功能的临床研究[J]. 中医临床研究, 2016, 8(10): 4-6.
- [5] 霍雨佳, 岳琳, 刘颖, 等. 酒制对女贞子饮片主要化学成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 26-30.
- [6] 任德权. 中药质量控制的里程碑—中药指纹图谱[J]. 中成药, 2001, 23(1): 1-2.
- [7] 黄海萍, 汪文涛. 薄层扫描法测定贞芪扶正颗粒中黄芪甲苷含量[J]. 中国药事, 2002(12): 46-47.
- [8] 刘俊有, 慕杨娜, 季雪, 等. 高效液相色谱法测定贞芪扶正颗粒特女贞苷含量[J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(3): 135-136.
- [9] 代云桃, 郭小青, 张丽增, 等. HPLC 法同时鉴别贞芪扶正颗粒中的女贞子和黄芪[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(6): 891-894.
- [10] 胡芳弟, 封士兰, 赵健雄, 等. RP-HPLC 测定贞芪扶正制剂中两种异黄酮类成分的含量[J]. 中成药, 2004, 26(9): 705-707.
- [11] 刘和平, 彭招华, 张润容, 等. 黄芪药材中黄芪甲苷 UPLC-ELSD 含量测定方法的优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(5): 92-94.
- [12] 韩旭阳, 曾祖平, 彭冰, 等. UPLC/Q-TOF-MS 方法测定黄芪皂苷 I、II、IV 含量并研究水解对黄芪皂苷类成分的影响[J]. 世界中医药, 2016, 11(3): 523-528.

[责任编辑 顾雪竹]