

引用本文:张宪. 高效液相色谱法检测七味都气丸中活性成分五味子醇甲、马钱苷和23-乙酰泽泻醇B的含量[J]. 安徽医药, 2022, 26(10): 1933-1936. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.006.

◇ 药物分析 ◇



高效液相色谱法检测七味都气丸中活性成分五味子醇甲、马钱苷和23-乙酰泽泻醇B的含量

张宪

作者单位:北京市药品检验所中药成分分析与生物评价北京市重点实验室,北京 102206

摘要: **目的** 研究建立采用高效液相色谱法检测七味都气丸中活性成分五味子醇甲、马钱苷和23-乙酰泽泻醇B含量的分析方法。**方法** 研究起止时间为2019年3月至2022年5月。七味都气丸样品经粉碎,90%甲醇水溶液超声提取后,采用Waters X-bridge C₁₈色谱柱分离,柱温27℃,检测波长228 nm,进样体积25 μL,流动相包括流动相A(乙腈),流动相B(0.3%磷酸水溶液),梯度洗脱,洗脱程序为0~7 min 8%A,7~18 min 8%~60%A,18~28 min 60%~91%A,28~30 min 91%~8%A,30~35 min 8%A,外标法定量检测。**结果** 马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B在质量浓度0.1~20.0 mg/L范围内具有良好的线性关系,相关系数(r)均大于0.995;重复性RSD(n=6)分别为2.7%、3.1%和3.4%;加样回收率分别为99.67%、100.11%和100.49%。**结论** 该方法具有简便、快速、准确度高等优点,适用于七味都气丸品种的质量控制。

关键词: 主成分分析; 色谱法,高压液相; 七味都气丸; 五味子醇甲; 马钱苷; 23-乙酰泽泻醇B

Determination of contents of active ingredients of schisandrin, loganin and 23-acetyl alisol B in *Qiweiduqi* pills by HPLC

ZHANG Xian

Author Affiliation: Beijing Institute for Drug Control, Beijing Key Laboratory of Analysis and Evaluation on Chinese Medicine, Beijing 102206, China

Abstract: **Objective** To develop an analytical method for determining contents of active ingredients of schisandrin, loganin and 23-acetyl alisol B in *Qiweiduqi* pills by high performance liquid chromatography (HPLC). **Method** The study starts and ends from March 2019 to May 2022. After *Qiweiduqi* pill samples were crushed and ultrasonic extracted with 90% methanol solution, Waters X-bridge C₁₈ column was selected for separation, with column temperature of 27℃. Detection wavelength was set at 228 nm, injection volume was 25 μL. Mobile phase, acetonitrile (A) and 0.3% phosphoric acid solution (B). Gradient elution procedure was as follows, 0-7 min 8%A, 7-18 min 8%-60%A, 18-28 min 60%-91%A, 28-30 min 91%-8%A, 30-35 min 8%A. Quantitative analysis was performed by external standard. **Result** Schisandrin, loganin and 23-acetyl alisol B showed good linear relationships in the concentration range of 0.1 to 20.0 mg/L, the correlation coefficients (r) were all greater than 0.995. Relative standard deviation (RSD) of repeatability was 2.7%, 3.1% and 3.4%, respectively. Average recoveries of 3 active components were 101.26%, 101.12% and 99.55%. **Conclusions** This method has the characteristics of simple pretreatment, high efficiency and accurate results and can be used for the quality control of *Qiweiduqi* pills.

Key words: Principal component analysis; Chromatography, high pressure liquid; *Qiweiduqi* pills; Schisandrin; Loganin; 23-acetyl alisol B

七味都气丸是由醋五味子、山茱萸、泽泻、牡丹皮、熟地黄、茯苓、山药七味药材,经粉碎、过筛、制丸、干燥等工序制成的中药丸剂品种,该产品具有补肾纳气、涩精止遗等功效,临床主要用于治疗肾不纳气所致喘促、胸闷、久咳、气短、咽干、遗精、盗汗、小便频数等病症^[1-2]。方中醋五味子药材有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效^[3-5],山茱萸药材有补益肝肾、收涩固脱等功效^[6-8],泽泻药材有利水渗湿、泄热、化浊降脂等功效^[9-12]。七味都气丸临床应

用较为广泛,先收载于《中国药典》2015年版中,但其质量控制方法中仅针对五味子醇甲进行含量测定^[13],不能更好地体现该产品的整体质量水平,为保障广大病症病人的用药安全,林芳等^[14]通过五味子醇甲含量测定建立了七味都气丸的质量控制方法,胡晓炜通过五味子酯甲、五味子甲素含量测定建立了七味都气丸的质量控制方法^[15],上述学者均采用控制五味子药材活性成分含量建立质控方法,研究药材种类单一,没有将该产品中起功能作用的

主药成分进行含量测定。本研究于2019年3月至2022年5月进行,针对该产品中的起功能作用的药材五味子、山茱萸和泽泻,研究开发高效液相色谱法检测七味都气丸中活性成分五味子醇甲、马钱苷和23-乙酰泽泻醇B含量的分析方法^[16-19]。现报告如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200型高效液相色谱仪(配备自动进样器、四元泵、二极管阵列检测器(PDA)、柱温箱等,安捷伦科技公司); Waters X-bridge C₁₈色谱柱(沃特世科技公司); Sartorius Quintix224-1CN型电子天平(赛多利斯科技公司); HY-CXJ型数控超声波清洗器(长沙汇一仪器公司); Milli-Q Advantage A10型纯水仪(密理博科技公司)。

1.2 试药 对照品:五味子醇甲(批号110857-201815,含量99.7%);马钱苷(批号111640-201808,含量99.0%);23-乙酰泽泻醇B(批号111846-201705,含量99.7%),均购于中国食品药品检定研究院;七味都气丸[泉州中侨(集团)股份有限公司药业公司,批号20181214、20190112、20190506,规格为每40丸重3 g];甲醇、乙腈为色谱纯(美国TEDIA公司);磷酸为分析纯(国药集团化学试剂厂);纯化水为自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Waters X-bridge C₁₈液相色谱柱(规格250 mm×4.6 mm, 3.5 μm);流动相:流动相A为乙腈,流动相B为0.3%磷酸溶液(取3.0 mL浓磷酸,加水至1 000 mL,混匀,超声脱气),梯度洗脱,洗脱程序为:0~7 min 8%A, 7~18 min 8%~60%A, 18~28 min 60%~91%A, 28~30 min 91%~8%A, 30~35 min 8%A;流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样体积:25 μL;检测波长:228 nm。

2.2 溶液配制 对照品储备溶液:取五味子醇甲25.08 mg、马钱苷25.25 mg、23-乙酰泽泻醇B 25.08 mg,精密称定,置同一支25 mL容量瓶中,加20 mL 90%甲醇溶液使溶解并定容至刻度,摇匀。

对照品溶液:精密量取对照品储备溶液1.0 mL,置50 mL容量瓶中,加90%甲醇溶液定容,摇匀。

供试品溶液:取七味都气丸样品15 g,研细,65目筛网筛过;精密称取细粉1.0 g,置20 mL容量瓶中,

加90%甲醇溶液约12 mL,超声提取30 min(功率240 W,频率45 kHz),放冷,加90%甲醇溶液定容,摇匀,0.22 μm滤膜滤过,续滤液作为供试品溶液。

试剂空白溶液:除不加样品外,其余步骤按供试品溶液处理方法进行,制备试剂空白溶液。

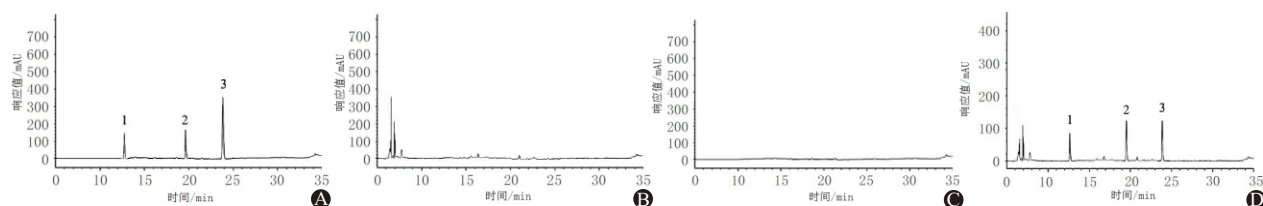
阴性供试品溶液:按七味都气丸制备方法和药材配比比例,制备缺醋五味子、山茱萸和泽泻的阴性样品,阴性供试品按供试品溶液配制方法进行前处理,得阴性供试品溶液。

2.3 方法学考察 专属性试验:取“2.2”项下供试品溶液、试剂空白溶液、对照品溶液和阴性供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别上机分析,采集色谱图;结果马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B在该色谱条件下分离度均大于1.5,理论塔板数大于5 000,拖尾因子为0.95~1.05,且阴性供试品溶液中无干扰峰。典型谱图见图1

线性关系考察:取“2.2”项下对照品储备溶液适量,制备含马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B质量浓度依次为:0.2 mg/L、0.4 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、8.0 mg/L和20.0 mg/L的标准曲线溶液,加90%甲醇溶液定容至刻度,摇匀;按“2.1”项下色谱条件分别上机分析,采集色谱图。以峰面积为纵坐标、对应的质量浓度为横坐标进行线性回归,结果三种成分在质量浓度为0.2~20.0 mg/L范围内,均具有良好的线性。见表1。

精密度试验:取“2.2”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件上机分析,连续进样6针,采集色谱图;按三种成分峰面积计算相对标准偏差(RSD);结果马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B峰面积RSD分别为:1.1%、1.2%和0.98%,表明仪器精密度良好。

重复性试验:取七味都气丸样品,按“2.2”项下供试品溶液进行前处理,得供试品溶液,同法同一批供试品共配制6份;按“2.1”项下色谱条件分别上机分析,采集色谱图,分别计算三种成分的含量,根据6次检测结果计算RSD。结果马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B含量RSD分别为:1.7%、2.1%和1.4%,表明方法重复性良好。



注:1—马钱苷;2—五味子醇甲;3—23-乙酰泽泻醇B。

图1 高效液相色谱图:A为对照品溶液;B为阴性供试品溶液;C为试剂空白溶液;D为供试品溶液

表1 三种成分线性方程、范围及相关系数

待测组分	曲线方程	线性范围/ (mg/L)	相关系数 r
马钱苷	$Y=279.605X+462.171$	0.2~20.0	0.999 4
五味子醇甲	$Y=610.519X+271.573$	0.2~20.0	0.999 6
23-乙酰泽泻醇 B	$Y=89.682X+293.114$	0.2~20.0	0.999 5

稳定性试验:取七味都气丸样品,按“2.2”项下供试品溶液进行前处理,得供试品溶液;室温下分别放置0 h,3 h,6 h,9 h,12 h,18 h,24 h,每个时间点取样1次,分别上机分析,采集色谱图。结果马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B峰面积RSD分别为:1.4%、1.8%和1.6%,表明在室温下24 h内供试品溶液稳定。

加标回收试验:取已测定含量的七味都气丸样品,研钵研成细粉,65目筛网筛过;取细粉1.0 g,精密称定,置20 mL容量瓶中,分别加入“2.2”项下对照品储备溶液一定量,后续按供试品溶液处理,共制备6份加标溶液;按“2.1”项下色谱条件分别上机分析,采集色谱图,计算马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B加标回收率。见表2

表2 样品加标回收率结果

名称	称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	检测量/mg	回收率/%
马钱苷	1.036 5	0.301 6	0.4	0.712 2	102.65
	1.020 2	0.314 5	0.4	0.715 7	100.30
	0.988 9	0.341 8	0.4	0.739 4	99.40
	1.001 7	0.292 8	0.4	0.701 9	102.28
	1.021 4	0.330 8	0.4	0.719 3	97.13
	0.998 6	0.313 8	0.4	0.706 8	98.25
五味子醇甲	1.036 5	0.413 6	0.4	0.819 8	101.55
	1.020 2	0.448 1	0.4	0.844 8	99.18
	0.988 9	0.439 2	0.4	0.836 2	99.25
	1.001 7	0.460 6	0.4	0.848 7	97.03
	1.021 4	0.422 7	0.4	0.819 1	99.10
	0.998 6	0.417 9	0.4	0.824 9	101.75
23-乙酰泽泻醇 B	1.036 5	0.576 4	0.4	0.971 3	98.73
	1.020 2	0.554 9	0.4	0.947 9	98.25
	0.988 9	0.532 8	0.4	0.939 2	101.60
	1.001 7	0.581 6	0.4	0.974 5	98.23
	1.021 4	0.544 5	0.4	0.933 2	97.18
	0.998 6	0.526 1	0.4	0.917 6	97.88

注:平均回收率,RSD分别是马钱苷为100.00%,2.19%;五味子醇甲为99.64%,1.77%;23-乙酰泽泻醇B为98.65%,1.56%。

2.4 市售样品含量测定 取市售七味都气丸样品,按“2.2”项下供试品溶液进行前处理,得供试品溶液;按“2.1”项下色谱条件分别上机分析,采集色谱图,根据峰面积计算马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰

泽泻醇B的含量。见表3

表3 样品含量检测结果

批号	马钱苷/mg	五味子醇甲/mg	23-乙酰泽泻醇 B/mg
20181214	0.321 5	0.422 8	0.507 6
20190112	0.287 4	0.451 9	0.512 9
20190506	0.311 9	0.446 1	0.476 8

3 讨论

3.1 检测方法的选择 实验选择的三种待测成分,马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B,均具有强烈的紫外吸收,因此可以选择分光光度法和液相色谱法进行含量测定。分光光度法由于专属性较差,且易受到基质干扰导致准确度偏低,尤其对于多组分同时测定,检测效率偏低;高效液相色谱法具有专属性好,尤其对于多组分的测定,采用二极管阵列检测器,可以针对不同组分紫外吸收波长的不同,分别准确定量检测。因此实验选择高效液相色谱法作为检测方法。

3.2 检测波长的选择 取马钱苷对照品,加90%甲醇溶液制备含马钱苷质量浓度为10 mg/L的波长检查溶液同法配制五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B波长检查溶液;上述三种成分标准溶液,分别在200~400 nm波长范围内扫描;结果马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B分别在239 nm、250 nm和210 nm处有最大吸收,为使三种成分在2.1色谱条件下响应零号,故选择228 nm作为检测波长。

3.3 流动相的选择 实验分别选择乙腈-水、乙腈-0.3%磷酸水溶液、甲醇-水和甲醇-0.3%磷酸水溶液作为流动相体系,考察上述4种体系对待测成分色谱行为的影响;按“2.1”项下色谱条件,保持其他条件不变,分别采用上述4种流动相体系,考察三种成分分离情况。结果,选择乙腈-0.3%磷酸水溶液作为流动相体系时,马钱苷、五味子醇甲和23-乙酰泽泻醇B分离度最佳,且阴性对照溶液无干扰。故实验选择乙腈-0.3%磷酸水溶液作为流动相体系。

综上所述,实验建立高效液相色谱法检测七味都气丸中活性成分五味子醇甲、马钱苷和23-乙酰泽泻醇B含量的分析方法,考察了方法的稳定性、重复性、加样回收率等,确定了流动相体系和检测波长,实验结果证明,该方法具有前处理简单、测定效率高、结果准确等特点,可以用于七味都气丸品种的质量控制。

参考文献

- [1] 张春蕾,张丹丹.七味都气丸对果蝇寿命及小鼠抗衰老作用影响的实验研究[J].河北中医学报,2011,26(3):9-10.
- [2] 刘东.七味都气丸治疗咳嗽32例[J].实用中医药杂志,2010,

- 26(3):164-165.
- [3] 胡获,魏国伟,曲中原,等. 五味子保肝作用的研究进展[J]. 药学研究,2019,38(4):229-232.
- [4] 徐海军,李利珍,王久利. 五味子联合五倍子穴位贴敷治疗肿瘤晚期汗证临床观察[J]. 中医临床研究,2019,11(6):87-88.
- [5] 张宁,郭阳,刘微,等. 生脉饮(党参方)中五味子醇甲含量的测定方法[J]. 中国当代医药,2019,26(12):52-54.
- [6] 王之珺,李劲,邓成焕. 山茱萸多糖对宫颈癌HeLa细胞增殖的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(12):1284-1286.
- [7] 张培全,胡继藤,张超. 山茱萸提取物清除DPPH·自由基作用的研究[J]. 海峡药学,2019,31(2):32-35.
- [8] 李绍烁,赵京涛,何昌强,等. 山茱萸总甙干预骨质疏松模型大鼠骨代谢:TRPV6、TRPV5通路的变化[J]. 中国组织工程研究,2019,23(11):1749-1754.
- [9] 刘德文,邓哲,陈莎,等. 泽泻饮片标准汤剂的制备及质量评价[J]. 中草药,2019,50(4):860-867.
- [10] 倪明,刘晓蓉. 中草药敷贴协同川芎泽泻汤治疗高血压的效果观察[J]. 医药前沿,2019,9(8):216-217.
- [11] 段思明,韩雪,张睦清,等. 高脂血症大鼠AQP3和AQP4表达及泽泻汤加味方干预作用[J]. 中国公共卫生,2019,35(4):406-409.
- [12] 尚庆霞,杨小林. HPLC法测定复方斑蝥胶囊中马钱苷和紫丁香苷的含量[J]. 海峡药学,2018,30(3):29-30.
- [13] 国家药典委员会. 中国药典:2015年版:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:452-453.
- [14] 林芳,蒋平,王健,等. 七味都气丸中五味子醇甲的含量测定[J]. 中国药师,2007,10(5):472-473.
- [15] 胡晓炜. 七味都气丸中五味子酯甲、五味子甲素含量的RP-HPLC法测定[J]. 中国药师,2003,6(9):555-556.
- [16] 尹创. 一测多评法测定枣仁安神胶囊中丹参酮ⅡA、五味子醇甲与五味子醇乙的含量[J]. 安徽医药,2016,20(8):1494-1497.
- [17] 曹桂侠,汪秀月,焦坤. 高效液相色谱法测定续断饮片中马钱苷的含量[J]. 安徽医药,2013,17(5):768-769.
- [18] 胡诚,陈龙,蒋元烨,等. HPLC法测定泽泻汤中泽泻醇A、泽泻醇B和23-乙酰泽泻醇B含量[J]. 上海中医药大学学报,2019,33(5):73-77.
- [19] 曹慧宏. HPLC法测定金匱肾气丸中23-乙酰泽泻醇β的含量[J]. 中医药导报,2017,23(14):76-78.

(收稿日期:2020-09-24,修回日期:2020-12-22)

引用本文:苗素琴,金微微,余娜,等. 颈动脉粥样硬化与急性Stanford A型主动脉夹层术后并发症的相关性分析[J]. 安徽医药,2022,26(10):1936-1939. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.007.

◇临床医学◇



颈动脉粥样硬化与急性Stanford A型主动脉夹层术后并发症的相关性分析

苗素琴,金微微,余娜,张琼,王刚

作者单位:中国人民解放军东部战区总医院麻醉科,江苏 南京 210002

通信作者:金微微,女,副主任护师,研究方向为麻醉科护理,Email:wjx13812544539@163.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81500417)

摘要: **目的** 探究颈动脉粥样硬化与急性Stanford A型主动脉夹层术后并发症的相关性。**方法** 回顾性分析2019年2月至2020年2月中国人民解放军东部战区总医院收治的急性Stanford A型主动脉夹层病人80例,其中合并颈动脉粥样硬化40例为观察组,无颈动脉粥样硬化40例为对照组。分析两组术前、术中基线资料。以Kaplan-Meier法描述两组术后1个月内永久性神经系统功能障碍(PND)和短暂性神经系统功能障碍(TND)发生率,采用Cox比例风险模型计算颈动脉粥样硬化病人术后PND、TND风险比及95%CI。**结果** 观察组共23例(57.50%)术后出现中枢神经系统疾病,观察组PND、TND发生率分别为17.50%(9/40)、30.00%(14/40),均高于对照组PND、TND发生率的5.00%(2/40)、5.00%(2/40)($P<0.05$);Cox模型显示,调整年龄、术前血肌酐水平及深低温停循环时间后,与对照组相比,观察组伴有颈动脉粥样硬化者术后发生PND及TND的风险性均显著上升,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 合并颈动脉粥样硬化的急性Stanford A型主动脉夹层病人术后PND、TND发生风险较大。

关键词: 动脉瘤,夹层; 颈动脉粥样硬化; 急性Stanford A型; 主动脉; 并发症; 相关性

Correlation analysis between carotid atherosclerosis and postoperative complications of acute Stanford A aortic dissection

MIAO Suqin, JIN Weiwei, YU Na, ZHANG Qiong, WANG Gang

Author Affiliation: Department of Anesthesiology, General Hospital of Eastern Theater Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China

Abstract: **Objective** To explore the relationship between carotid atherosclerosis and complications after acute Stanford A aortic