

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)16-0043-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.16.010



左归饮高效液相色谱指纹图谱研究及5种成分含量测定*

黄云^{1,2}, 黄顺旺³, 乔金为^{1,2}, 徐倩^{1,2}, 许国琴^{1,2}, 鲁迪⁴, 刘振振^{1,2}, 谢若男^{1,2,Δ}

(1. 安徽中医药大学第二附属医院, 安徽 合肥 230061; 2. 谢若男安徽省名中医师工作室, 安徽 合肥 230061; 3. 合肥创新医药技术有限公司, 安徽 合肥 230088; 4. 中国科学技术大学附属第一医院·安徽省立医院, 安徽 合肥 230001)

摘要:目的 为左归饮的质量控制提供依据。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法建立15批左归饮样品的指纹图谱, 色谱柱为Agilent 5 HC - C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为0.2%甲酸水溶液-乙腈(梯度洗脱), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为250 nm, 柱温为30 °C, 进样量为20 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.1307023版)进行相似度评价, 确定共有峰及指认成分, 并测定其含量。结果 15批样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均在0.975~0.999之间。标定共有峰33个, 指认出其中5个, 分别为5-羟甲基糠醛、莫诺苷、马钱苷、甘草苷、甘草酸。5种成分质量浓度分别在0.017~0.266 mg/mL、0.049~0.784 mg/mL、0.034~0.539 mg/mL、0.016~0.250 mg/mL、0.009~0.150 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好($R^2 > 0.999$, $n = 5$); 精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于3.0%; 平均加样回收率分别为101.40%, 98.72%, 98.00%, 101.53%, 99.13%, RSD分别为2.06%, 2.09%, 1.65%, 1.56%, 0.40% ($n = 6$); 样品含量分别为49.838~140.933 μg/g、131.060~340.103 μg/g、68.081~178.313 μg/g、12.108~47.326 μg/g、1.190~55.483 μg/g。结论 所建立的方法可用于左归饮HPLC指纹图谱的建立及其中5个成分的含量测定, 可更全面地为左归饮的质量评价提供依据。

关键词: 左归饮; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 质量评价; 含量测定

Study on the HPLC Fingerprint of Zuogui Drink and Content Determination of Five Components

HUANG Yun^{1,2}, HUANG Shunwang³, QIAO Jinwei^{1,2}, XU Qian^{1,2}, XU Guoqin^{1,2}, LU Di⁴, LIU Zhenzhen^{1,2}, XIE Ruonan^{1,2}

(1. The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China 230061; 2. Xie Ruonan Anhui Province Famous Chinese Pharmacist Studio, Hefei, Anhui, China 230061; 3. Hefei Innovation Medical Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui, China 230088; 4. The First Affiliated Hospital of USTC · Anhui Provincial Hospital, Hefei, Anhui, China 230001)

Abstract: Objective To provide a basis for the quality control of Zuogui Drink. **Methods** Fingerprint of 15 batches of Zuogui Drink samples was established by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic column was

* 基金项目: 国家自然科学基金[82204805]; 安徽中医药大学临床科研项目[2021efylc03]; 安徽省名中医师工作室项目[皖中医药发展秘[2023]23号]。

第一作者: 黄云, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药品质量标准, (电子信箱)327866462@qq.com。

Δ通信作者: 谢若男, 女, 大学本科, 主任中医师, 研究方向为中药质量控制与评价, (电子信箱)xieruonan@126.com。

中国医药科技出版社, 2020: 200-201.

[24] 张仲景. 金匱玉函经[M]. 北京: 学苑出版社, 2005: 112-116.

[25] 陶弘景. 本草经集注[M]. 北京: 中国青年出版社, 2007: 115.

[26] 赵 信. 圣济总录[M]. 郑金生, 汪惟刚, 犬卷太一, 校点. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 676.

[27] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 135.

[28] 李中梓. 本草通玄[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 32.

[29] 汪 昂. 本草备要[M]. 余 力, 陈赞育, 校注. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 101.

[30] 王士雄. 随息居重订霍乱论[M]. 陈明见, 点校. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 85.

[31] 周 宇, 吴孟华, 罗思敏, 等. 薏苡仁炮制历史沿革考证[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2694-2701.

[32] 刘文泰. 本草品汇精要[M]. 曹 晖, 校. 北京: 华夏出版社, 2004: 113.

[33] 倪朱谟. 本草汇言[M]. 郑金生, 校. 北京: 中医古籍出版社, 2005: 532.

[34] 李中立. 本草原始[M]. 张 卫, 校. 北京: 学苑出版社, 2011: 416.

[35] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 393-394.

[36] 秦金山, 齐亚瑞, 陈文乐, 等. 败酱草多来源品种研究[J]. 实用中医药杂志, 2017, 33(6): 737-739.

[37] 黄 爽. 神农本草经[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 188-189.

[38] 李时珍. 本草纲目(第2册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1979: 1052-1053.

[39] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·下册: 精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 1809-1814.

[40] 张仲景. 金匱要略[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 58-59.

[41] 李 冀. 方剂学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2012: 83.

[42] 贾古寿. 奇正方[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1957: 73.

[43] 邢 丹, 贺 莹, 郑虎占. 从《太平惠民和剂局方》论中药煮散技术规范[J]. 中国临床医生, 2012, 40(11): 73-75.

(收稿日期: 2023-07-25; 修回日期: 2024-01-26)

the Agilent 5 HC - C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.2% formic acid aqueous solution - acetonitrile (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL / min, the detection wavelength was 250 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 20 μL. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012.1307023) was used for similarity evaluation, the common peaks were marked, the components were identified, and the contents were determined. **Results** The similarity between the fingerprint of 15 batches of samples and the reference fingerprint was in the range of 0.975 - 0.999. A total of 33 common peaks were marked, and five of them were identified, namely 5 - hydroxymethylfurfural (5 - HMF), morroniside, loganin, liquiritin and glycyrrhizic acid. The linear ranges of the above five components were 0.017 - 0.266 mg / mL, 0.049 - 0.784 mg / mL, 0.034 - 0.539 mg / mL, 0.016 - 0.250 mg / mL, and 0.009 - 0.150 mg / mL ($R^2 > 0.999$, $n = 5$) respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 3.0%. The average recovery rates of the above five components were 101.40%, 98.72%, 98.00%, 101.53%, 99.13%, with RSDs of 2.06%, 2.09%, 1.65%, 1.56%, 0.40% ($n = 6$) respectively. The contents of 5 - HMF, morroniside, loganin, liquiritin and glycyrrhizic acid in samples were in the range of 49.838 - 140.933 μg / g, 131.060 - 340.103 μg / g, 68.081 - 178.313 μg / g, 12.108 - 47.326 μg / g, and 1.190 - 55.483 μg / g, respectively. **Conclusion** The established method can be used for the establishment of HPLC fingerprint of Zuogui Drink and the contents determination of the five components, which can provide a basis for the comprehensive quality evaluation of Zuogui Drink.

Key words: Zuogui Drink; HPLC; fingerprint; quality evaluation; content determination

左归饮为中医补阴经典名方,出自明代张介宾《景岳全书》,由熟地黄9 g,枸杞子、山药各6 g,山茱萸5 g,茯苓4 g,炙甘草3 g组方。中药指纹图谱能较好地反映中药的整体性和复杂性,在质量评价、质量监控及维持中药安全方面应用广泛。但对于左归饮,鲜有其高效液相色谱(HPLC)指纹图谱建立并进行多种主要成分定量测定的研究。为此,本研究中采用HPLC法建立了左归饮的指纹图谱,并测定制剂中5种成分的含量,为其质量控制提供参考,也为不同批号/产地的左归饮组方药材质量评价提供试验依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo Scientific UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司); Explorer EX125 DZH型电子天平(美国OHAUS仪器有限公司,精度为0.01 mg); MilliQ - Plus型超纯水系统(美国Millipore公司); EYELA N - 1300型旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社); HH.S21 - 6型电热数显恒温水浴锅(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司)。

1.2 试剂

对照品5 - 羟甲基糠醛(5 - HMF,含量≥98%),莫诺昔(含量≥98%),马钱苷(含量≥98.7%),甘草苷(含量≥95.6%),甘草酸(含量≥98%),均购自上海源叶生物科技有限公司,批号分别为B21832, A10064, A10038, A10022, B20417;乙腈、甲醇、甲酸均为色谱级,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。左归饮各单味药材饮片[熟地黄*Radix Rehmanniae* Praeparata、山茱萸*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.、枸杞子*Lycium barbarum* L.、山药*Dioscorea opposita* Thunb.、茯苓*Poria cocos* (Schw.) Wolf、炙甘草*Glycyrrhizae radix et rhizome preparate* Cum Melle.]均购自安徽省亳州市沪谯药业有限公司,经安

表1 单味药材饮片信息

Tab.1 Information of single medicinal herb decoction pieces

药材	批号	产地	药材	批号	产地	药材	批号	产地
熟地黄	210401	河南焦作	枸杞子	210501	宁夏中宁	茯苓	210601	安徽金寨
	210601	河南焦作		210601	宁夏中宁		210701	安徽金寨
	210701	河南焦作		210801	宁夏中宁		210801	安徽霍邱
	210208	河南焦作		201201	宁夏中宁		20210601	安徽霍邱
山茱萸	210501	河南南阳	山药	210501	河南孟州	炙甘草	210601	甘肃民勤
	210601	河南南阳		210601	河南孟州		210701	甘肃民勤
	210701	河南南阳		210801	河南孟州		210801	甘肃民勤
	20210101	河南南阳		20201201	河南孟州		190401	内蒙古通辽

徽省中医院李立华主任中药师鉴定均符合2020年版《中国药典(一部)》标准,药材信息见表1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent 5 HC - C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.2%甲酸水溶液(A) - 乙腈(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表2); 流速: 1.0 mL / min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。

表2 梯度洗脱程序

Tab.2 Program of gradient elution

t(min)	流动相 A(%)	t(min)	流动相 A(%)	t(min)	流动相 A(%)
0	95	35	85	73	5
10	92	55	78	78	5
20	88	63	68		

2.2 溶液制备

样品制备: 按左归饮处方量称取熟地黄、山茱萸、枸杞子、山药、茯苓和炙甘草药材饮片, 置沙锅中。第一次加入330 mL(10倍量)水浸泡30 min, 武火加热至沸腾, 文火煎煮30 min, 用4层纱布过滤, 收集滤液; 第二次加入198 mL(6倍量)水, 武火加热至沸腾, 文火煎煮

表3 15批左归饮样品不同批号药材组合

Tab. 3 Combinations of medicinal herbs with different batch numbers of 15 batches of Zuogui Drink samples

编号	熟地黄	山茱萸	枸杞子	山药	茯苓	炙甘草
S1	210601	210601	210601	210601	210701	210701
S2	210701	210701	210801	210801	210801	210801
S3	210401	210601	210501	210501	210701	210701
S4	210401	210701	210501	210501	210801	210801
S5	210601	210501	201201	210601	210601	190401
S6	210701	20210101	210501	210801	20210601	210601
S7	210401	20210101	210501	20201201	210601	190401
S8	210208	210601	201201	210601	20210601	210701
S9	210401	20210101	210601	20201201	210801	190401
S10	210601	210701	210601	210801	210701	190401
S11	210701	210601	210801	210501	210701	210801
S12	210601	210601	210601	210601	210701	210701
S13	210601	210701	210601	210801	210701	190401
S14	210701	210601	210801	210501	210701	210801
S15	210801	210701	210801	210601	210701	210801

20 min,用4层纱布过滤,收集滤液;合并两次滤液^[1],利用旋转蒸发器浓缩至生药量质量浓度为1.5 g/mL,即得15批左归饮样品。详见表3。

溶液制备:取5-HMF、莫诺昔、马钱苷、甘草苷和甘草酸对照品2.66,7.84,5.39,2.50,1.50 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,得混合对照品贮备液;分别取适量,加50%甲醇制成质量浓度分别为26.60,78.40,53.90,25.00,15.00 μg/mL的混合对照品溶液。取样品1 mL,用5%甲醇稀释,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,即得。按左归饮处方及比例取各单味药材饮片适量,精密称定,按供试品溶液制备方法制成各单味药材溶液。按左归饮全方比例,按样品制备方法分别制备缺熟地黄、山茱萸、枸杞子、山药、茯苓、炙甘草的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制成相应的阴性对照品溶液。以甲醇为空白溶液。

2.3 指纹图谱的建立

2.3.1 方法学考察

精密度试验:取供试品溶液(编号S1)适量,按2.1项下色谱条件连续测定6次(因5-HMF出峰稳定,故以其色谱峰为参照峰;稳定性、重复性试验同),计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果的RSD分别为0.08%,0.08%,0.13%,0.15%,0.17%和0.17%,0.18%,1.13%,2.28%,2.41%(n=6),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取同一批供试品溶液(编号S1)适量,分别于室温下放置0,2,4,8,10,12 h时按2.1项下色谱条件测定,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果的RSD分别为0.10%,0.11%,0.15%,0.15%,0.14%和1.76%,2.19%,1.82%,1.58%,2.22%(n=6),

表明供试品溶液室温放置12 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批供试品溶液(编号S1)适量,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果的RSD分别为0.09%,0.05%,0.02%,0.03%,0.07%和0.29%,1.56%,1.23%,2.84%,2.29%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.3.2 指纹图谱建立及相似度评价

取15批左归饮样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.1307023版),以编号S1样品的HPLC图谱为参照,采用平均数法,时间窗宽度保持默认(0.1 min),多点校正后进行全峰匹配,得15批样品的HPLC叠加指纹图谱(见图1)及对照指纹图谱(见图2)^[2]。样品S1-S15指纹图谱的相似度分别为0.997,0.997,0.998,0.993,0.997,0.997,0.998,0.998,0.999,0.991,0.998,0.976,0.998,0.995,0.995,均大于0.990,表明15批样品共有成分基本一致,质量较稳定,相似度高^[3]。

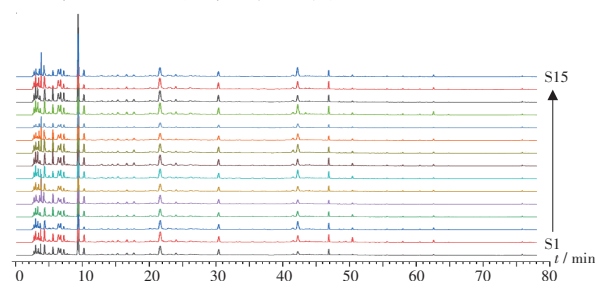


图1 15批左归饮样品高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 15 batches of Zuogui Drink samples

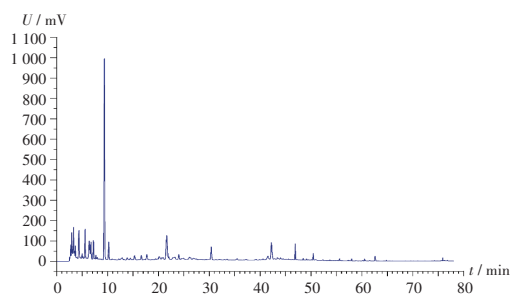


图2 样品高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC reference fingerprint of samples

2.3.3 共有峰及归属确认

取2.2项下供试品溶液(编号S1)、单味药材溶液及阴性对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(见图3)。共得33个共有峰,与混合对照品溶液色谱图(见图4)叠加分析,指认出5个色谱峰,其中10,20,23,26,30号峰对应成分分别为5-HMF、莫诺昔、马钱苷、甘草苷、甘草酸。

2.4 5种成分含量测定

2.4.1 方法学考察

专属性试验:取2.2项下混合对照品溶液、供试品

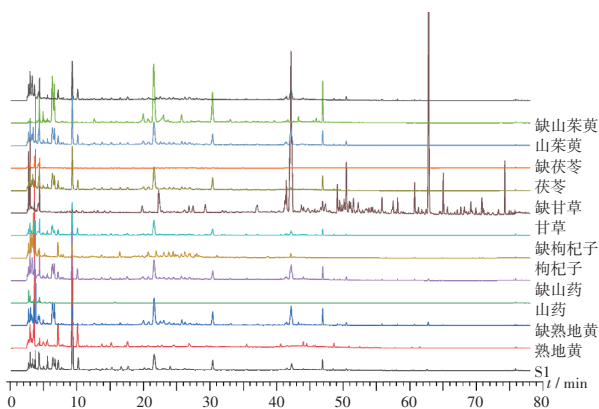
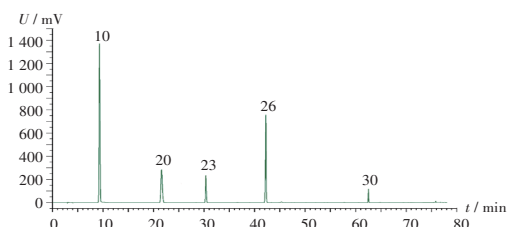


图3 供试品和单味药材高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 3 HPLC superimposed fingerprint of test sample and single medicinal herb



10. 5 - HMF 20. 莫诺昔 23. 马钱苷 26. 甘草苷 30. 甘草酸

图4 混合对照品高效液相色谱图

10. 5 - HMF 20. Morroniside 23. Loganin 26. Liquiritin
30. Glycyrrhizic acid

Fig. 4 HPLC chromatograms of mixed reference substance

溶液(编号S1)及空白溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有对应色谱峰,且空白对照无干扰,表明专属性良好。详见图5。

线性关系考察:取2.2项下混合对照品贮备液,用甲醇等比例稀释,得5-HMF质量浓度分别为0.266, 0.133, 0.067, 0.033, 0.017 mg/mL, 莫诺昔分别为0.784, 0.392, 0.196, 0.098, 0.049 mg/mL, 马钱苷分别为0.539, 0.270, 0.135, 0.067, 0.034 mg/mL, 甘草苷分别为0.250, 0.125, 0.063, 0.031, 0.016 mg/mL, 甘草酸分别为0.150, 0.075, 0.038, 0.019, 0.009 mg/mL

表4 线性关系考察结果(n=5)

Tab. 4 Results of the linear relation test (n=5)

待测成分	回归方程	R ²	线性范围(mg/mL)
5-HMF	$Y_1 = 998.60 X_1 + 3.85$	0.999 2	0.017~0.266
莫诺昔	$Y_2 = 121.69 X_2 + 0.06$	0.999 9	0.049~0.784
马钱苷	$Y_3 = 85.04 X_3 + 0.03$	0.999 9	0.034~0.539
甘草苷	$Y_4 = 514.15 X_4 - 0.61$	0.999 9	0.016~0.250
甘草酸	$Y_5 = 141.97 X_5 - 1.08$	0.999 1	0.009~0.150

的系列对照品溶液。按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(X, mg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,结果见表4。

精密度试验:取同一批供试品溶液(编号S1)适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果5-HMF、莫诺昔、马钱苷、甘草苷、甘草酸峰面积的RSD分别为1.68%, 0.63%, 2.36%, 1.09%, 0.27%(n=6),表明方法精密度良好。

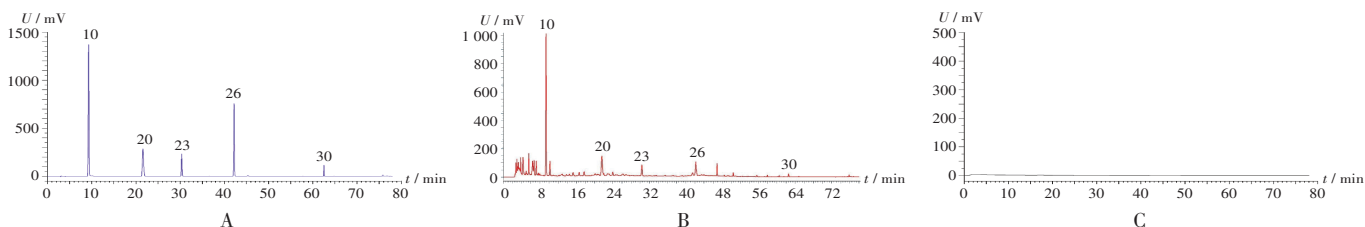
稳定性试验:取同一批供试品溶液(编号S1)适量,分别于室温下放置0, 2, 4, 8, 10, 12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果5-HMF、莫诺昔、马钱苷、甘草苷、甘草酸峰面积的RSD分别为2.04%, 0.35%, 1.22%, 0.78%, 0.35%(n=6),表明供试品溶液室温放置12 h内基本稳定。

重复性试验:取同一批供试品溶液(编号S1)适量,共6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果5-HMF、莫诺昔、马钱苷、甘草苷、甘草酸平均含量分别为97.036, 254.771, 132.478, 28.954, 12.392 μg/g, RSD分别为0.80%, 0.86%, 2.18%, 1.19%, 2.30%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的供试品溶液(编号S1)适量,各6份,分别精密加入各单一对照品溶液(要求其中5种成分的含量与供试品溶液中相等),按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表5。

2.4.2 样品含量测定

取样品15批,按2.2项下方法制备供试品溶液,按



10. 5 - HMF 20. 莫诺昔 23. 马钱苷 26. 甘草苷 30. 甘草酸

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 空白溶液

图5 样品中5种成分专属性试验高效液相色谱图

10. 5 - HMF 20. Morroniside 23. Loganin 26. Liquiritin 30. Glycyrrhizic acid

A. Mixed reference solution B. Test solution C. Blank solution

Fig. 5 HPLC chromatograms of the specificity test for five components in samples

表5 加样回收试验结果(n=6)
Tab. 5 Results of the recovery test (n=6)

待测成分	回收率(%)						\bar{X} (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
5-HMF	102.80	99.30	99.30	101.40	100.90	104.70	101.40	2.06
莫诺昔	99.33	99.00	102.33	98.00	96.67	97.00	98.72	2.09
马钱苷	99.00	98.50	97.00	96.50	96.50	100.50	98.00	1.65
甘草苷	100.00	100.40	100.40	102.80	101.60	104.00	101.53	1.56
甘草酸	99.20	99.20	98.40	99.60	99.20	99.20	99.13	0.40

2. 1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算各成分含量。结果样品中5-HMF含量为49.838~140.933 $\mu\text{g/g}$,莫诺昔为131.060~340.103 $\mu\text{g/g}$,马钱苷为68.081~178.313 $\mu\text{g/g}$,甘草苷为12.108~47.326 $\mu\text{g/g}$,甘草酸为1.190~55.483 $\mu\text{g/g}$ 。

3 讨论

左归饮以熟地黄为君药,滋肾填阴;山茱萸、枸杞子为臣药,加强滋肾阴、养肝血之功效;佐以茯苓健脾渗湿;炙甘草填精补髓、山药益气收敛相火,共同发挥健脾及补益肝肾作用,适用于真阴不足证^[4-6]。现代临床研究和实验表明,左归饮能明显改善女性更年期症状^[7];也可用于围绝经期综合征,改善早发性卵巢功能不全患者体内雌激素偏低的症状^[8-9];使多囊卵巢综合征患者的排卵和月经周期恢复正常,降低不孕率^[10]。

本研究进行含量测定的5种成分中,5-HMF在多种神经系统疾病中有神经保护作用;山茱萸中的有效成分马钱苷、莫诺昔对于神经系统疾病、心血管系统疾病、炎症等有良好的作用;而甘草苷、甘草酸具有抗氧化、抗菌、抗炎等多种生物活性。本研究在一定程度上为中药复方左归饮的质量控制,物质基础提供了科学参考,同时为其今后开发利用和临床合理用药提供了理论指导。

预试验中考察了不同色谱条件对结果的影响,其中色谱柱考察了Agilent 5HC - C₁₈柱、Thermo Scientific Accucore™ C₁₈柱及Phenomenex C₁₈柱(规格均为250 mm × 4.6 mm, 5 μm),结果后两款色谱柱的分离度、基线稳定性相对较差,故本研究中选择Agilent 5 HC - C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相体系考察了乙腈 - 0.2%醋酸水溶液、乙腈 - 0.2%磷酸水溶液、乙腈 - 0.2%甲酸水溶液、乙腈 - 0.1%甲酸水溶液,其中醋酸水溶液和磷酸水溶液系统出现拖尾峰及出峰时间过长的现象,综合考虑,选择了2个甲酸水溶液系统中出峰较多、峰形较好、基线较平稳的乙腈 - 0.2%甲酸水溶液作为流动相;2020年版《中国药典》记载的最佳吸收波长,5-HMF为284 nm,莫诺昔和马钱苷为240 nm,甘草酸和甘草苷为237 nm,兼顾各成分出峰情况发现,在250 nm波长处各成分均有较好吸收,峰面积差异较小,基线平稳,干扰较少,故选择250 nm作为本研究的检测波长。

综上所述,本研究中的左归饮HPLC指纹图谱建立方法及其5种主要成分含量测定方法可基本满足分析的要求,且可为其制剂质量控制提供一定的参考价值,也为不同批次/产地的左归饮药材质量控制提供了科学依据。为了确定左归饮复方中的其他成分,下一步还需结合多种方法的联合检测技术^[11-15]深入研究各成分结构。

参考文献

- [1] HONG B, HONG S, HU X, et al. Evaluation of Zuo - Gui Yin Decoction Effects on Six CYP450 Enzymes in Rats Using a Cocktail Method by UPLC - MS/MS [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 4293062.
- [2] 陈冰, 孙绪, 金倩倩, 等. 五匹风高效液相色谱指纹图谱及多指标成分定量分析[J]. 中国药业, 2023, 32(22): 62 - 67.
- [3] 米振清, 郭佩. 复方石淋通片质量评价方法研究[J]. 中国药业, 2024, 33(4): 80 - 84.
- [4] 保伍有姑莫, 何雪婷, 雨桐, 等. 左归饮的临床应用与实验研究进展[J]. 国医论坛, 2021, 36(1): 72 - 75.
- [5] 洪世忠, 周贞贞, 陈卫东, 等. 左归饮质量标准研究[J]. 中医学报, 2018, 33(5): 830 - 834.
- [6] 洪世忠, 施哲媛, 何帆, 等. 左归饮水提物对大鼠 Cyp2b1、Cyp2c11、Cyp2c7 亚酶活性的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2018, 37(4): 59 - 64.
- [7] 高允珊. 左归饮加味治疗妇女更年期综合征 58 例临床观察[J]. 江西中医药, 2005, 36(5): 49 - 50.
- [8] 陈婷婷. 左归饮在肾阴虚型早发性卵巢功能不全患者中的临床疗效观察[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2020.
- [9] ZHAO W, WEN H, ZHENG H, et al. Action mechanism of Zuo Gui Yin Decoction's promotion on estradiol production in rats during the peri - menopausal period [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(1): 122 - 129.
- [10] 黎晓静, 张皓, 张志玲, 等. 左归饮加黄连阿胶汤联合针刺治疗多囊卵巢综合征不孕症的临床观察[J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38(10): 2145 - 2151.
- [11] 杨秀青, 石征蓉, 谷江华, 等. 银菊解毒口服液指纹图谱结合多指标成分定量测定的质量控制方法研究[J]. 中草药, 2017, 48(13): 2645 - 2652.
- [12] 林夏, 崔培超, 徐桂红, 等. 基于UPLC的注射用活血通络指纹图谱研究及多成分定量测定[J]. 中草药, 2016, 47(2): 262 - 266.
- [13] 陈会朋, 王银, 余惠旻, 等. 基于UPLC - Q - TOF/MS技术分析加味左金丸化学成分及指纹图谱研究[J]. 中草药, 2023, 54(14): 4442 - 4454.
- [14] WANG N, YANG B, ZHANG J, et al. Metabolite profiling of traditional Chinese medicine XIAOPI formula: An integrated strategy based on UPLC - Q - Orbitrap MS combined with network pharmacology analysis [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109569.
- [15] 范倩, 吴晓纯, 蔡盛康, 等. 经典名方麦门冬汤化学成分分析的UPLC - Q - Orbitrap - MS分析[J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(1): 66 - 78.

(收稿日期: 2024 - 01 - 16; 修回日期: 2024 - 04 - 08)