

一测多评法同时测定 ZL 清胃颗粒中 7 种成分的含量

董雨¹, 邓萌萌¹, 潘晓鹃^{1,2*}, 杨进^{3*}, 方道硕³, 刘佳玲¹

(1. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610042; 2. 中药新药创制川渝共建重点实验室, 四川 成都 610042; 3. 成都大学附属医院, 四川 成都 610081)

摘要: 目的 建立一测多评法同时测定 ZL 清胃颗粒中栀子苷、芍药苷、甘草苷、橙皮苷、1, 4-二 [4- (葡萄糖氧) 苄基] -2-异丁基苹果酸酯、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量。方法 分析采用 Agilent Pursuit C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 20 °C; 检测波长 232 nm。以栀子苷为内标, 计算其他 6 种成分的相对校正因子, 测定含量。结果 7 种成分在各自范围线性关系良好 ($r>0.999 0$), 平均加样回收率 90.70%~105.35%, RSD 0.50%~1.85%, 一测多评法与外标法所得结果无明显差异。结论 该方法稳定可靠, 耐用性好, 可对 ZL 清胃颗粒进行质量控制。

关键词: ZL 清胃颗粒; 化学成分; 含量测定; 一测多评

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)09-3043-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.033

ZL 清胃颗粒由栀子、黄连、陈皮、白芍、白及、甘草等中药制成, 具有疏肝解郁、泻火清胃、行气止痛功效, 用于治疗浅表性胃炎、消化性溃疡、萎缩性胃炎。前期研究表明, 栀子苷能减轻胃组织炎症细胞浸润^[1-2], 黄连中的生物碱能抗炎、抗幽门螺旋杆菌^[3-4], 橙皮苷具有较强的抗炎活性, 芍药苷可抑制单核细胞而缓解慢性炎症^[5-6], 白及主要活性成分白及苷、白及多糖等能止血、促进胃黏膜修复^[7], 甘草苷具有良好的抗溃疡作用^[8]。

目前, 医院制剂大多以单一成分含量为指标进行质量控制, 不符合中药多成分、多靶点的特点, 无法全面控制其质量^[9]。一测多评法能同时对多成分进行定量分析, 具有高效、便捷、成本低廉等优点^[10-12]。因此, 本实验建立一测多评法同时测定 ZL 清胃颗粒中栀子苷、芍药苷、橙皮苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、甘草苷和 1, 4-二 [4- (葡萄糖氧) 苄基] -2-异丁基苹果酸的含量, 以期为该制剂质量标准提升提供参考。

1 材料

1.1 仪器 安捷伦 1260、安捷伦 1200 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); SG250HDT 超声波清洗器 (上海冠特超声仪器有限公司); YP202N 电子天平 (0.001 g, 上海精密科学仪器有限公司); MS205DU 电子天平 (0.000 1 g, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂与药物 栀子苷 (批号 110749-201718)、盐酸小檗碱 (批号 110713-201212)、芍药苷 (批号 110736-202246)、橙皮苷 (批号 110721-202019)、甘草苷 (批号

110610-201908)、盐酸巴马汀 (批号 110732-201913)、1, 4-二 [4- (葡萄糖氧) 苄基] -2-异丁基苹果酸酯 (批号 112061-202102) 对照品由中国食品药品检定研究院提供。ZL 清胃颗粒 (批号 20240218、20240219、20240220) 由四川省第二中医医院制剂室生产, 其阴性样品由实验室自制。磷酸 (色谱纯, 国药集团药业股份有限公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国天地公司); 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Pursuit C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 12%~15% A; 15~20 min, 15% A; 20~44 min, 15%~19% A; 44~110 min, 19%~55% A; 110~120 min, 55%~12% A); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 20 °C; 检测波长 232 nm; 进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取栀子苷、芍药苷、甘草苷、橙皮苷、1, 4-二 [4- (葡萄糖氧) 苄基] -2-异丁基苹果酸酯、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品适量, 甲醇制成质量浓度分别为 0.214、0.136、0.139、0.102、0.105、0.089、0.102 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取本品 0.4 g, 加 25 mL 甲醇, 称定质量, 超声处理 30 min, 甲醇补足减失的质量, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按照处方比例和工艺流程, 分别制成缺栀子、缺白芍、缺陈皮、缺黄连、缺甘草、缺白及的

收稿日期: 2025-01-24

作者简介: 董雨 (1987—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药开发及其质量标准研究。Tel: 18683950060, E-mail: 188644820@qq.com

* 通信作者: 潘晓鹃 (1965—), 女, 研究员, 从事中药新药研究。E-mail: 467504268@qq.com

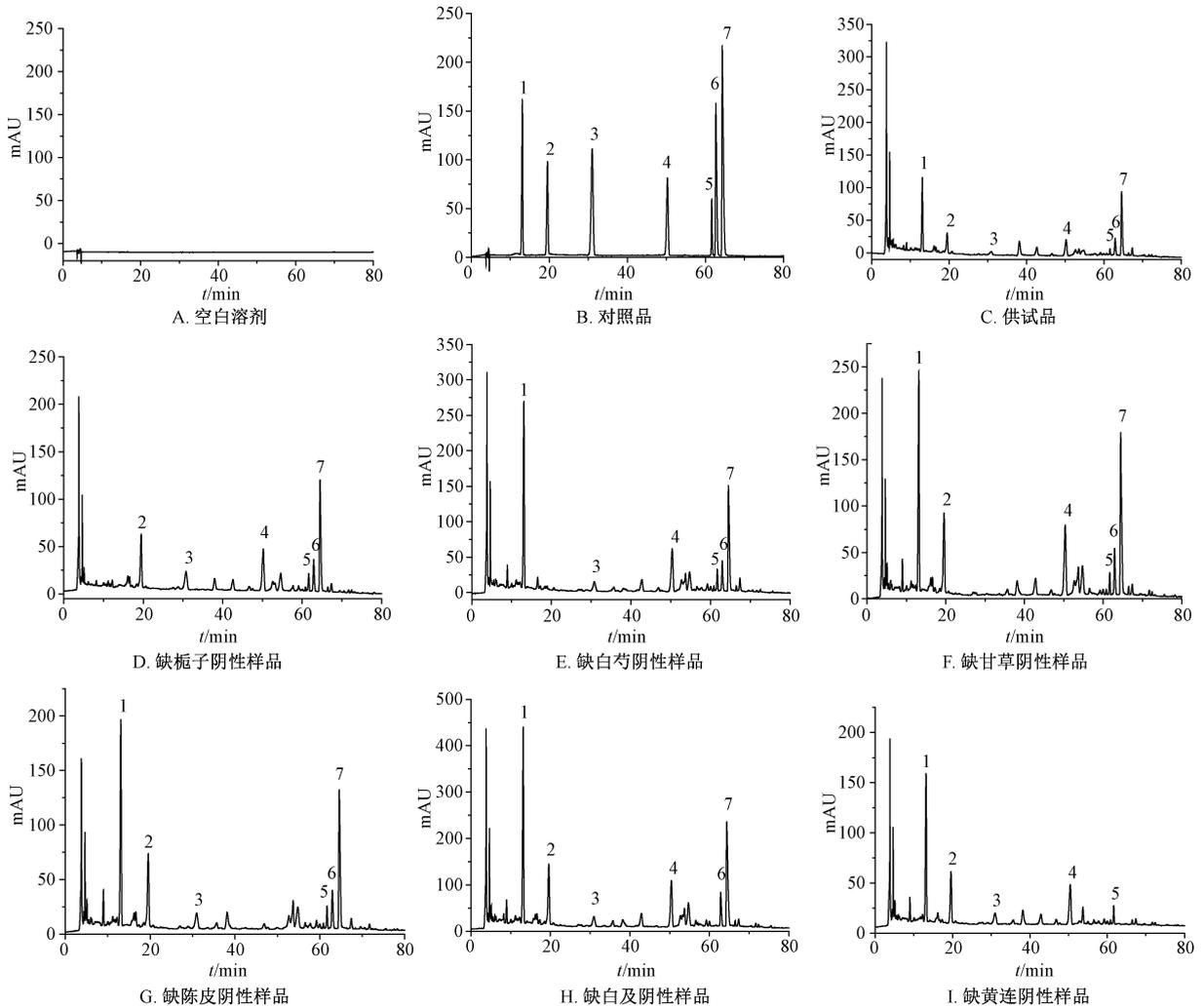
杨进 (1974—), 男, 教授, 主任医师, 从事泌尿系疾病、高原疾病研究。E-mail: dr.jinyang@163.com

阴性样品,按“2.3”项下方法制备,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适

量,在“2.1”项色谱条件下进样测定,结果见图1。由此可知,各成分色谱峰分离度均大于1.5,阴性无干扰,表明该方法专属性良好。



1. 栀子苷 2. 芍药苷 3. 甘草苷 4. 橙皮苷 5. 1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯 6. 盐酸巴马汀 7. 盐酸小檗碱

图1 各成分HPLC色谱图

2.3.2 线性关系考察 分别精密量取“2.2”项下对照品溶液0.2、0.5、1、1.5、2 mL,置于5 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,得到系列质量浓度溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表1,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
栀子苷	$Y=12\ 786X+10.642$	1.000 0	12.84~214
芍药苷	$Y=15\ 403X+6.249\ 5$	0.999 9	8.16~136
甘草苷	$Y=26\ 995X+15.125$	1.000 0	8.34~139
橙皮苷	$Y=21\ 353X+7.814\ 2$	1.000 0	6.12~102
1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯	$Y=7\ 706.4X+3.384\ 4$	1.000 0	6.3~105
盐酸巴马汀	$Y=36\ 147X+16.13$	1.000 0	5.34~89
盐酸小檗碱	$Y=50\ 964X+23.725$	1.000 0	6.12~102

2.3.3 精密密度试验 取对照品溶液适量,在“2.1”项色谱条件下进样测定6次,测得各成分峰面积RSD分别为栀子苷0.73%、芍药苷0.72%、甘草苷1.07%、橙皮苷0.97%、盐酸小檗碱0.29%、盐酸巴马汀0.19%、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯1.09%,表明仪器精密密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一份供试品溶液,于0、2、4、8、12、24 h在“2.1”项色谱条件下进样测定,测得各成分峰面积RSD分别为栀子苷1.22%、芍药苷1.29%、甘草苷2.36%、橙皮苷1.26%、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯0.97%、盐酸巴马汀1.02%、盐酸小檗碱0.92%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批本品6份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,测得各成分RSD分别为栀子苷0.57%、芍药苷2.43%、甘草苷0.81%、橙皮苷0.95%、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯1.09%。

基]-2-异丁基苹果酸酯 2.31%、盐酸巴马汀 0.64%、盐酸小檗碱 0.85%，表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的本品6份，按100%水平加入对照品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，各成分平均加样回收率（RSD）分别为栀子苷104.00%（0.73%）、芍药苷90.70%（0.78%）、甘草苷102.37%（0.85%）、橙皮苷103.71%（0.79%）、1,4-二[4-（葡萄糖氧）苜基]-2-异丁基苹果酸酯97.37%

（1.26%）、盐酸巴马汀105.35%（1.85%）、盐酸小檗碱99.84%（0.50%）。

2.4 一测多评法

2.4.1 相对校正因子计算 精密吸取不同质量浓度对照品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，以栀子苷为内标，计算其他6种成分相对校正因子 $f_{k/s}$ ，公式为 $f_{k/s} = f_k/f_s = (C_k A_s) / (C_s A_k)$ ，其中 C_k 为其他成分含量， A_k 为其他成分峰面积， C_s 为内标含量， A_s 为内标峰面积，结果见表2。

表2 各成分相对校正因子

序号	相对校正因子(内标栀子苷)					
	芍药苷	甘草苷	橙皮苷	1,4-二[4-(葡萄糖氧)苜基]-2-异丁基苹果酸酯	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
1	0.829 4	0.473 3	0.599 1	1.660 1	0.353 5	0.250 7
2	0.843 2	0.475 8	0.600 8	1.649 9	0.352 9	0.250 9
3	0.832 1	0.471 8	0.595 9	1.641 4	0.350 0	0.249 2
4	0.827 8	0.472 9	0.596 4	1.682 3	0.351 2	0.250 3
5	0.835 7	0.477 6	0.603 5	1.683 4	0.356 0	0.251 9
6	0.821 7	0.465 1	0.615 4	1.635 2	0.349 2	0.247 0
平均值	0.831 7	0.472 8	0.601 8	1.658 7	0.352 1	0.250 0
RSD/%	0.88	0.91	1.20	1.23	0.71	0.69

2.4.2 耐用性试验 分别考察Agilent 1260、Agilent 1200

Waters Xselect HSS T3 色谱柱对相对校正因子的影响，结果见表3，可知该方法耐用性良好。

表3 耐用性试验结果

仪器	色谱柱	相对校正因子(内标栀子苷)					
		芍药苷	甘草苷	橙皮苷	1,4-二[4-(葡萄糖氧)苜基]-2-异丁基苹果酸酯	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
Agilent 1200	Pursuit5 C ₁₈	0.802 7	0.468 4	0.621 8	1.557 0	0.333 2	0.236 0
	Waters Xselect HSS T3	0.803 4	0.469 7	0.604 0	1.582 3	0.334 6	0.237 0
	Welch Ultimate AQ-C ₁₈	0.815 7	0.462 8	0.614 7	1.526 5	0.330 7	0.234 1
Agilent 1260	Pursuit5 C ₁₈	0.808 6	0.455 6	0.573 4	1.558 3	0.335 5	0.237 8
	Waters Xselect HSS T3	0.834 0	0.467 9	0.583 7	1.601 6	0.347 9	0.246 9
	Welch Ultimate AQ-C ₁₈	0.811 9	0.453 7	0.565 2	1.584 4	0.324 3	0.237 1
平均值		0.812 7	0.463 0	0.593 8	1.568 4	0.334 4	0.238 2
RSD/%		1.42	1.49	3.89	1.70	2.31	1.88

2.4.3 系统适用性考察 分别考察柱温（15、20、25℃）及体积流量（0.6、0.7、0.8、0.9 mL/min）对相对校正因

子的影响，结果见表4~5，可知该方法系统适用性良好。

表4 不同柱温对相对校正因子的影响

柱温/℃	相对校正因子(内标栀子苷)					
	芍药苷	甘草苷	橙皮苷	1,4-二[4-(葡萄糖氧)苜基]-2-异丁基苹果酸酯	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
15	0.807 1	0.471 2	0.585 8	1.678 0	0.351 1	0.249 5
20	0.829 4	0.473 3	0.599 1	1.660 1	0.353 5	0.250 7
25	0.835 5	0.473 5	0.599 2	1.677 9	0.354 7	0.251 1
平均值	0.824 0	0.472 7	0.594 7	1.672 0	0.353 1	0.250 4
RSD/%	1.82	0.27	1.30	0.62	0.52	0.33

2.5 色谱峰定位 采用相对保留时间法，以栀子苷为参照，计算芍药苷、甘草苷相对保留时间；以盐酸小檗碱为参照，计算橙皮苷、1,4-二[4-（葡萄糖氧）苜基]-2-异

丁基苹果酸酯、盐酸巴马汀相对保留时间，并考察不同仪器、色谱柱对相对保留时间影响，结果见表6，可知均无明显影响（RSD<3%）。

表5 不同体积流量对相对校正因子的影响

体积流量/ (mL·min ⁻¹)	相对校正因子(内标栀子苷)					
	芍药苷	甘草苷	橙皮苷	1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]- 2-异丁基苹果酸酯	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
0.6	0.843 2	0.469 8	0.589 6	1.700 4	0.351 4	0.248 9
0.7	0.838 0	0.470 2	0.587 9	1.727 4	0.350 3	0.248 2
0.8	0.829 4	0.473 3	0.599 1	1.660 1	0.353 5	0.250 7
0.9	0.841 2	0.477 3	0.606 1	1.692 0	0.357 1	0.252 8
平均值	0.837 9	0.472 6	0.595 7	1.695 0	0.353 1	0.250 1
RSD/%	0.72	0.74	1.43	1.64	0.85	0.82

表6 各成分相对保留时间

仪器	色谱柱	相对保留时间				
		芍药苷	甘草苷	橙皮苷	1,4-二[4-(葡萄糖 氧)苄基]-2-异丁基 苹果酸酯	盐酸巴马汀
Agilent 1260	Agilent Pursuit5 C ₁₈	1.491 5	2.364 3	0.781 7	0.958 3	0.974 6
	Waters Xselect HSS T3	1.528 8	2.488 7	0.809 5	0.926 8	0.973 3
	Welch Ultimate AQ-C ₁₈	1.459 9	2.495 5	0.828 1	0.945 2	0.981 4
Agilent 1200	Pursuit5 C ₁₈	1.487 8	2.376 1	0.804 9	0.956 1	0.974 6
	Waters Xselect HSS T3	1.517 2	2.462 7	0.817 1	0.927 0	0.973 8
	Welch Ultimate AQ-C ₁₈	1.463 6	2.497 3	0.838 8	0.953 0	0.982 7
平均值		1.491 5	2.447 4	0.813 3	0.944 4	0.976 7
RSD/%		1.86	2.50	2.44	1.51	0.43

2.6 样品含量测定 精密称取3批样品,每批3份,按下进样测定,分别采用外标法、一测多评法计算含量,结果见表7,可知2种方法的结果无明显差异。

表7 各成分含量测定结果(mg/g, n=3)

成分	批号 20240218			批号 20240219			批号 20240220		
	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%
栀子苷	10.832 5	—	—	11.377 9	—	—	9.761 9	—	—
芍药苷	4.488 7	4.491 9	0.07	3.589 3	3.597 8	0.24	3.115 5	3.123 8	0.27
甘草苷	0.893 9	0.897 4	0.39	0.627 6	0.640 1	2.00	0.461 9	0.479 9	3.90
橙皮苷	3.596 9	3.609 7	0.36	3.347 2	3.361 5	0.43	2.333 0	2.348 1	0.65
1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯	2.304 0	2.321 2	0.75	1.573 0	1.593 7	1.32	1.175 2	1.196 8	1.84
盐酸巴马汀	0.853 8	0.867 8	1.65	0.890 6	0.904 4	1.55	0.842 9	0.857 0	1.67
盐酸小檗碱	2.563 3	2.570 7	0.29	2.902 4	2.907 7	0.18	2.555 8	2.562 1	0.25

3 讨论

为了实现较好分离效果,本实验参照2020年版《中国药典》和文献[13-18]报道,分别考察了流动相乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-0.05%磷酸、乙腈-0.2%磷酸,以及检测波长223、225、227、232、283 nm。最终确定,以乙腈-0.1%磷酸为流动相,232 nm为检测波长时,各成分色谱峰分离度良好,峰形理想。

一测多评法普遍采用相对保留时间来定位,但待测成分、内标保留时间间距越远,定位误差越大^[19-20]。本实验分别采用保留时间法和时间差法,发现以单一对照品为参照时,2种方法都有个别峰定位不够精准的情况。前期报道采用双标多测法,即先使用1个定量对照品,在色谱峰定

位时再增加1个对照品^[21-23],与单一对照品比较大大提高了定性准确度,但操作繁琐。本实验选择栀子苷和盐酸小檗碱作为定性参照物,计算其余成分的相对保留时间,比单一参照物定位更准确,也较双标线性法更简便。

4 结论

本实验建立一测多评法同时测定ZL清胃颗粒中栀子苷、芍药苷、橙皮苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、甘草苷和1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸的含量,所得结果与外标法无显著差异,表明该方法重复性良好,可用于该制剂多成分定量分析,为其质量全面控制提供了新方法。但本研究样品数量较少,无法制定各成分含量限度,故下一步将考察更多批次。

参考文献:

- [1] 杨力. 基于栀子主要活性成分分析的品质研究[D]. 成都: 四川大学, 2021.
- [2] 周新新, 崔悦, 朱鹤云, 等. 栀子的化学成分、药理作用及提取工艺的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(5): 374-376.
- [3] 田华, 闫平慧, 张锋利. 黄连素通过 ROS/ERK1/2 通路抗幽门螺旋杆菌相关性胃炎的实验研究[J]. 中医药通报, 2017, 16(6): 66-69; 60.
- [4] 邹忠杰, 龚梦鹃, 谢媛媛, 等. 黄连总生物碱对乙醇致大鼠胃黏膜损伤保护作用的代谢组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 807-810.
- [5] 龚远翔, 严鑫, 曾逸佳, 等. 陈皮化学成分与药理活性研究进展[J]. 广东化工, 2024, 51(20): 96-97.
- [6] 胡婧, 胡斌, 邓莉, 等. 胃炎颗粒中3种活性成分的定性鉴别及芍药苷含量测定[J]. 中国药业, 2019, 28(1): 31-34.
- [7] 方敬贤. 白及非多糖组分治疗胃溃疡的效应成分及机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023.
- [8] 范宝军, 刘志新, 王瑶, 等. 基于网络药理学探讨白及治疗消化性溃疡的活性成分及作用机制[J]. 中医临床研究, 2022, 14(2): 1-9.
- [9] 王福成, 李冬华, 郭文宾, 等. HPLC-DAD 法同时测定栀子金花丸中10个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(1): 145-154.
- [10] 王美红, 张晓芹, 王慧玉. 中草药医院制剂的研究进展与发展趋势[J]. 中医药管理杂志, 2018, 26(20): 11-13.
- [11] 胡瑞雪, 梁元昊, 徐文丽, 等. 一测多评法在中药中的应用及研究进展[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(11): 1968-1979.
- [12] 秦昆明, 杨冰, 胡静, 等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考[J]. 中草药, 2018, 49(3): 725-731.
- [13] 权勤波, 李启红. HPLC 法测定胃炎康胶囊中芍药苷、盐酸小檗碱及甘草酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 120-122.
- [14] 周芳芳, 谷雪妹, 王微, 等. 黄连解毒汤6种主要成分高效液相色谱检测方法的建立和应用[J]. 检验医学, 2024, 39(5): 468-473.
- [15] 王奕菲. HPLC 测定陈皮制剂中橙皮苷的含量[J]. 现代诊断与治疗, 2023, 34(14): 2176-2179; 2182.
- [16] 黄月纯, 魏刚, 刘翠玲, 等. 白芍 HPLC 特征指纹图谱的稳定性考察[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 280-284.
- [17] 刘娜, 袁金凤, 彭诗涛, 等. 基于 militarine 含量结合 UPLC 指纹图谱的不同产地白及饮片质量分析[J]. 天津中医药, 2020, 37(5): 583-589.
- [18] 苗娜, 王来兵, 于姝燕, 等. HPLC 同时测定芍药甘草附子汤中芍药苷和甘草苷的含量[J]. 内蒙古医科大学学报, 2023, 45(5): 452-455.
- [19] 何兵, 梁思成, 田吉, 等. 不同校正和定位方法在常春藤一测多评中的应用[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(7): 1135-1147.
- [20] 孙磊, 金红宇, 逢瑜, 等. 双标多测法 I - 双标线性校正技术用于色谱峰的定性[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(8): 1424-1430.
- [21] 李金鑫, 董雪, 段帅, 等. 基于 HPLC 特征图谱及双标多测法的川芎配方颗粒质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(11): 246-253.
- [22] 逢瑜, 孙磊, 金红宇, 等. 替代对照品法在中药多指标含量测定中的应用与技术要求探讨[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1): 169-177.
- [23] 万林春, 赵雯, 许妍, 等. 双标多测法在柏子养心丸5个成分含量测定中的应用[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(1): 138-146.