

一测多评法同时测定常春藤口服液中 4 种皂苷

张立国¹, 王晓敏¹, 孙磊¹, 栾绍嵘^{1*}, 倪力军¹, 金汉台², 朱美鹏², 金志文²
(1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237; 2. 浙江康恩贝中药有限公司, 浙江 松阳 323400)

摘要: **目的** 建立一测多评法同时测定常春藤口服液(常春藤)中 4 种成分的含有量。**方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 Waters XTERRA RP-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相水-乙腈, 梯度洗脱; 柱温 25 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 205 nm。以常春藤皂苷 C 为内标, 计算其他 3 种成分的相对校正因子, 测定其含有量。**结果** 常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷分别在 0.009 5~0.191 0、0.001 7~0.033 1、0.001 2~0.024 1、0.001 9~0.038 6 mg/mL 范围内线性关系良好($r\geq 0.999\ 8$), 平均加样回收率(RSD)分别为 98.97% (1.12%)、99.83% (1.37%)、98.47% (1.19%)、99.57% (1.82%)。一测多评法所得结果与外标法接近。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于常春藤口服液的质量控制。
关键词: 常春藤口服液; 常春藤皂苷 C; 常春藤皂苷 D; 常春藤皂苷 B; α-常春藤皂苷; 一测多评
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)08-1756-07
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.08.017

Simultaneous determination of four saponins in Changchunteng Oral Liquid by QAMS

ZHANG Li-guo¹, WANG Xiao-min¹, SUN Lei¹, LUAN Shao-rong^{1*}, NI Li-jun¹, JIN Han-tai², ZHU Mei-peng², JIN Zhi-wen²
(1. School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. Zhejiang CONBA Chinese Medicine Co., Ltd., Songyang 323400, China)

ABSTRACT: AIM To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous content determination of four saponins in Changchunteng Oral Liquid (*Hedera helix* L.). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 25 ℃ thermostatic Waters XTERRA RP-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of water-acetonitrile flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 205 nm. With hederacoside C as an internal standard, the relative correction factors of the other three constituents were calculated, after which the content determination was made. **RESULTS** Hederacoside C, hederacoside D, hederasaponin B, α-hederin showed good linear relationships within the ranges of 0.009 5–0.191 0, 0.001 7–0.033 1, 0.001 2–0.024 1, 0.001 9–0.038 6 mg/mL ($r\geq 0.999\ 8$), whose average recoveries (RSDs) were 98.97% (1.12%), 99.83% (1.37%), 98.47% (1.19%), 99.57% (1.82%), respectively. The results obtained by QAMS approximated those obtained by external standard method. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the quality control of Changchunteng Oral Liquid.
KEY WORDS: Changchunteng Oral Liquid; hederacoside C; hederacoside D; hederasaponin B; α-hederin; quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS)

收稿日期: 2018-01-03
基金项目: 国家重大新药创制项目(2017ZX09201008009-105)
作者简介: 张立国(1963—), 男, 博士, 副教授, 从事中药新药开发及制药工程研究。E-mail: zlgfyt@163.com
* 通信作者: 栾绍嵘(1971—), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向为色谱与中药质量分析。E-mail: srluan@ecust.edu.cn

1756

目前,我国常用的儿童支气管炎中成药有小儿肺热咳喘口服液、儿童咳液、复方桔梗枇杷糖浆,其中小儿肺热咳喘口服液和儿童咳液均由麻黄、甘草等多种中药的提取液制备。但前者为神经兴奋剂^[1],不适合儿童长期使用,而支气管炎疗程较长,该类药物存在较大安全隐患。另外,儿童支气管炎的抗炎治疗主要采用抗生素等化学药物^[2-4],但其大多以成人药物减量后给患儿服用,而且普遍存在较大的耳毒性或肝肾毒性,长期使用还易造成菌群失调。因此,研发低毒(或无毒)、高效治疗儿童支气管炎的中药是非常有必要的。

常春藤 *Hedera helix* L. 为五加科常春藤属多年生常绿攀援灌木,具有祛风、利湿、平肝、解毒等功效,中医常用其治疗风湿性关节炎。研究表明^[5-7],以常春藤醇提取物为原料的糖浆剂、片剂、滴剂在欧美国家被用于治疗哮喘及支气管炎,不仅药效显著,而且不良反应较少,其主要成分为皂苷,具有显著的生物活性,能促进新陈代谢,调节免疫系统,有良好的抗炎、止咳及一定的抗菌、抗病毒、抗肿瘤等作用^[8]。常春藤口服液以本实验室制备的常春藤醇提取物^[9]为原料,采用一定处方配制成口服液,拟申报中药 5 类新药。

中药质量控制和评价是制约其现代化的关键问题之一,其多成分、多功效的特点决定了单一成分难以全面评价质量,故多成分、多指标含有量测定成为当前国际上广泛认可的质量评价模式,但传统方法存在对照品消耗量大、成本高、操作复杂等缺陷。基于此,王智民等^[10]提出一测多评的多指标质控模式,而且其研究思路已在中成药及中药饮片质量控制中得到了较广泛的应用^[11-13]。本实验前期建立了常春藤及其提取物的一测多评法,获得了良好的效果,但其中皂苷含有量与常春藤口服液中的差异很大,导致其校正因子直接用于口服液中各皂苷含有量测定时误差很大。因此,本实验开展常春藤口服液一测多评法的研究,以常春藤皂苷 C 为内标,通过建立该成分与其他成分(常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、 α -常春藤皂苷)之间的相对校正因子^[14]来测定含有量,以期探讨该方法的准确性与可行性。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-20AD XR 高效液相色谱仪(日本岛津国际贸易公司);LC solutionDB 工作站(日本岛津国际贸易公司);Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);DS-3510DTH 超

声波清洗器(上海生析超声仪器有限公司);ML104/02(万分之一)、XSE105DU(十万分之一)电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];RE-52D 旋转蒸发仪(上海青浦沪西仪器厂);FW177 中药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);DHG-9070A 电热鼓风干燥箱、HWS-28 电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);pHS-3C PH 计(上海精密科学仪器有限公司);SYQ-DSX-280A 手提式不锈钢压力蒸气灭菌锅(上海中安医疗器械厂);Mili-Q 超纯水仪(美国 Milipore 公司)。

1.2 试药 常春藤皂苷 C 对照品(批号 BCBV3783,含有量 95.3%,美国 Sigma-Aldrich 公司);常春藤皂苷 D(批号 GHGD20150820,含有量 98.63%)、常春藤皂苷 B(批号 CCTB20160222,含有量 98.9%)对照品(南京春秋生物工程有限公司); α -常春藤皂苷对照品(批号 111880-201202,含有量 95.6%,中国食品药品检定研究院)。山梨醇(批号 1711401,石家庄瑞雪制药有限公司);山梨酸钾(批号 20161001,湖南华日制药有限公司);木糖醇(批号 C117020408,山东福田药业有限公司);吐温 80(批号 161201,四川金山制药有限公司);甘油(批号 000120161211,湖南尔康制药股份有限公司);香精(批号 20151006,宁波威龙香精香料有限公司);DL-苹果酸(批号 FA20170118,常茂生物化学工程股份有限公司)。氢氧化钠(批号 20161010,上海凌峰化学试剂有限公司);乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司);其他试剂均为分析纯;水为超纯水。常春藤购自浙江省杭州市和上海市徐汇区,经中国中医科学院中药研究所陈士林研究员鉴定为五加科常春藤属多年生常绿攀援灌木常春藤 *Hedera helix* L.。常春藤口服液共 13 批(自制),批号分别为 17081003、17081004、17081001、17080804、17080801、17081402、17080803、17080802、17080701、17081002、17081102、17081103、17081104。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters XTERRA RP-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(程序见表 1);柱温 25 $^{\circ}$ C;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 205 nm;进样量 10 μ L。

2.2 提取物制备 称取药材干叶适量,粉碎成粗粉,80% 乙醇回流提取 2 次(85~90 $^{\circ}$ C),第 1 次 9 倍量回流 1 h,第 2 次 5 倍量回流 0.5 h,过滤,

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 水/%	B 乙腈/%
0 ~ 10	75	25
10 ~ 30	75 ~ 65	25 ~ 35
30 ~ 55	65 ~ 40	35 ~ 60
55 ~ 60	40 ~ 75	60 ~ 25

合并滤液，回收乙醇至无醇味，加碱液和水至总体积为药材体积的 6 倍，于 4 ℃ 下静置过夜，过滤，经 DM130 大孔吸附树脂，水洗脱至无色，再分别用 3 倍量 30%、70% 乙醇依次洗脱，收集 70% 乙醇洗脱液，滤液浓缩，干燥，粉碎，即得。

2.3 口服液制备 精密称取提取物、山梨醇、山梨酸钾、木糖醇适量，加水溶解，合并溶液。另取甘油、吐温 80、香精适量，与上述药液合并，摇匀，超声，静置，调节 pH 值为 5.0，过滤，罐装至 10 mL 棕色玻璃瓶中，热压灭菌，即得。

2.4 溶液制备

2.4.1 对照品溶液 精密称取对照品常春藤皂苷 C 5.01 mg、常春藤皂苷 D 0.84 mg、常春藤皂苷 B 0.61 mg、α-常春藤皂苷 1.01 mg，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，配制成 0.477 5、0.082 8、0.060 3、0.096 6 mg/mL 贮备液，精密吸取 0.1、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0 mL，置于 5 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，摇匀，即得，保存于 4 ℃ 冰箱中备用。

2.4.2 供试品溶液 精密量取口服液 5 mL，置于 50 mL 量瓶中，甲醇稀释至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

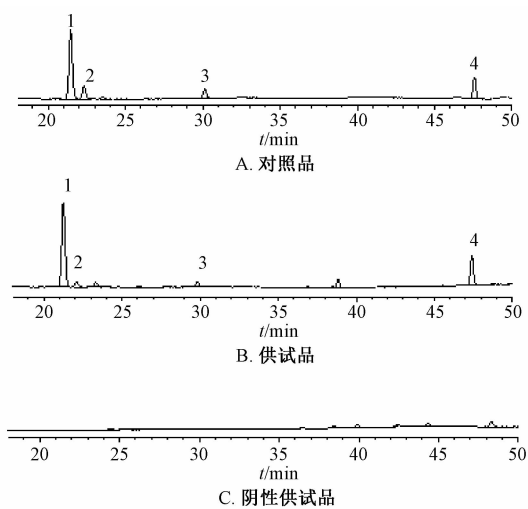
2.4.3 阴性供试品溶液 按“2.4.2”项下方法制得不含提取物的空白辅料溶液，即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 系统适应性及专属性考察 精密量取对照品、供试品、阴性供试品溶液各 10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，4 种成分与其相邻色谱峰的分度均大于 1.5，理论塔板数均在 30 000 以上，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取“2.4.1”项下对照品溶液 10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5.3 精密度试验 取口服液（批号 17080701）适量，按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液，在



1. 常春藤皂苷 C 2. 常春藤皂苷 D 3. 常春藤皂苷 B 4. α-常春藤皂苷
1. hederacoside C 2. hederacoside D 3. hederasaponin B
4. α-hederin

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (mg·mL ⁻¹)
常春藤皂苷 C	$Y = 2\,385\,830X - 1\,175.09$	0.999 9	0.009 5 ~ 0.191 0
常春藤皂苷 D	$Y = 2\,437\,220X - 549.723$	0.999 8	0.001 7 ~ 0.033 1
常春藤皂苷 B	$Y = 2\,518\,310X - 566.608$	0.999 9	0.001 2 ~ 0.024 1
α-常春藤皂苷	$Y = 3\,665\,930X - 1\,776.59$	0.999 9	0.001 9 ~ 0.038 6

“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷含有量 RSD 分别为 0.51%、3.79%、4.23%、1.47%，表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性试验 取口服液（批号 17080701）适量，按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷含有量 RSD 分别为 0.39%、3.10%、4.19%、2.34%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 取口服液（批号 17080701）适量，共 6 份，按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液，精密吸取 10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂含有量 RSD 分别为 0.95%、2.33%、3.54%、1.30%，表明该方法重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密量取同一批（批号

17080701) 含有量已知的口服液适量, 共 6 份, 按 项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件 1:1 比例分别加入等量对照品溶液, 按“2.4.2”项下进样测定, 计算回收率, 结果见表 3。

表 3 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 3 Results of recovery tests for various constituents (n=6)

成分	取样量/mL	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/% (RSD/%)
常春藤皂苷 C	2.5	1.947 0	1.932 5	3.834 9	97.69	98.97 (1.12)
	2.5	1.946 7	1.932 5	3.874 2	99.74	
	2.5	1.936 1	1.932 5	3.828 9	97.95	
	2.5	1.970 6	1.932 5	3.870 6	98.32	
	2.5	1.934 6	1.932 5	3.866 7	99.98	
	2.5	1.944 1	1.932 5	3.879 8	100.17	
常春藤皂苷 D	2.5	0.103 6	0.131 6	0.232 1	97.66	99.83 (1.37)
	2.5	0.104 3	0.131 6	0.237 3	101.04	
	2.5	0.097 6	0.131 6	0.229 2	100.01	
	2.5	0.108 7	0.131 6	0.239 2	99.17	
	2.5	0.105 2	0.131 6	0.236 3	99.59	
	2.5	0.106 0	0.131 6	0.239 5	101.47	
常春藤皂苷 B	2.5	0.094 6	0.130 6	0.223 3	98.58	98.47 (1.19)
	2.5	0.101 8	0.130 6	0.229 4	97.75	
	2.5	0.093 3	0.130 6	0.221 4	98.10	
	2.5	0.099 8	0.130 6	0.226 4	96.99	
	2.5	0.096 1	0.130 6	0.225 4	99.00	
	2.5	0.093 0	0.130 6	0.224 2	100.39	
α-常春藤皂苷	2.5	0.340 3	0.515 4	0.855 5	99.95	99.57 (1.82)
	2.5	0.336 0	0.515 4	0.843 6	98.50	
	2.5	0.339 3	0.515 4	0.854 5	99.96	
	2.5	0.343 9	0.515 4	0.865 8	101.27	
	2.5	0.330 5	0.515 4	0.852 2	101.22	
	2.5	0.340 2	0.515 4	0.837 6	96.51	

2.6 相对校正因子计算^[15] 以常春藤皂苷 C 为内标, 计算常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷的相对校正因子, 结果见表 4。

表 4 各成分相对校正因子

Tab. 4 Relative correction factors of various constituents

进样量/μL	相对校正因子		
	常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
0.2	0.924	0.954	1.488
0.6	0.967	0.977	1.437
1.0	0.994	1.044	1.462
2.0	1.028	1.024	1.520
3.0	1.026	1.061	1.521
4.0	1.009	1.044	1.516
平均值	0.991	1.017	1.491
RSD/%	4.03	4.18	2.35

2.7 耐用性考察

2.7.1 仪器、色谱柱 选择 Thermo UltiMate 3000、Shimadzu LC-20AD XR 仪, 以及 Waters XTERRA RP-C₁₈、InertSustainSwift™ C₁₈、Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 考察它们对相对校正因子的影响, 结果见表 5。可知不同仪器、色谱柱对其影响程度不明显, 耐用性

良好。

2.7.2 体积流量 精密吸取“2.4.1”项下对照品溶液 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 考察 0.9、1.0、1.1 mL/min 体积流量对相对校正因子的影响, 结果见表 6。可知不同体积流量对其影响程度不明显, 耐用性良好。

2.7.3 柱温 精密吸取“2.4.1”项下对照品溶液 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 考察 20、25、30、35 ℃柱温对相对校正因子的影响, 结果见表 7。可知不同柱温对其影响程度不明显, 耐用性良好。

2.7.4 检测波长 精密吸取“2.4.1”项下对照品溶液 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 考察 203、205、207 nm 检测波长对相对校正因子的影响, 结果见表 8。可知不同检测波长对其影响程度不明显, 耐用性良好。

2.8 色谱峰定位 分别考察相对保留值和保留时间差在不同仪器、色谱柱中的重复性, 结果见表 9。由表可知, 相对保留值波动较小, RSD 在 1.68% ~ 11.09% 之间, 故选择其作为色谱峰定位指标。

表 5 不同仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 5 Effects of different instruments and columns on relative correction factors

仪器	色谱柱	相对校正因子		
		常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
Thermo UltiMate 3000	Waters XTERRA RP-C ₁₈	1. 043	1. 099	1. 505
	InertSustainSwift™ C ₁₈	0. 954	1. 002	1. 445
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C ₁₈	1. 058	1. 013	1. 510
Shimadzu LC-20AD XR	Waters XTERRA RP-C ₁₈	0. 991	1. 017	1. 491
	InertSustainSwift™ C ₁₈	0. 975	0. 995	1. 391
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C ₁₈	1. 065	0. 993	1. 408
	平均值	1. 014	1. 020	1. 458
	RSD/%	4. 650	3. 920	3. 520

表 6 不同体积流量对相对校正因子的影响

Tab. 6 Effects of different volumetric flow rates on relative correction factors

体积流量/ (mL·min ⁻¹)	相对校正因子		
	常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
0. 9	1. 017	1. 142	1. 502
1. 0	1. 043	1. 099	1. 505
1. 1	1. 038	1. 059	1. 592
平均值	1. 033	1. 100	1. 533
RSD/%	1. 310	3. 780	3. 330

表 7 不同柱温对相对校正因子的影响

Tab. 7 Effects of different column temperatures on relative correction factors

柱温/℃	相对校正因子		
	常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
20	1. 036	1. 092	1. 617
25	1. 043	1. 099	1. 505
30	1. 044	1. 108	1. 602
35	1. 091	1. 132	1. 691
平均值	1. 054	1. 108	1. 604
RSD/%	2. 420	1. 580	4. 770

表 9 不同仪器、色谱柱对相对保留值的影响

Tab. 9 Effects of different instruments and columns on relative retention values

仪器	色谱柱	相对保留值		
		常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
Thermo UltiMate 3000	Waters XTERRA RP-C ₁₈	1. 046	1. 452	2. 358
	InertSustainSwift™ C ₁₈	1. 042	1. 396	1. 895
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C ₁₈	1. 083	1. 578	2. 440
Shimadzu LC-20AD XR	Waters XTERRA RP-C ₁₈	1. 040	1. 410	2. 063
	InertSustainSwift™ C ₁₈	1. 039	1. 374	1. 894
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C ₁₈	1. 065	1. 495	2. 294
	平均值	1. 052	1. 451	2. 157
	RSD/%	1. 680	5. 220	11. 090

甲醇溶解 5 种方法，发现甲醇溶解后微孔滤膜过滤进样时，所得色谱图中检测成分相对较多，各色谱峰峰高比例适中，且基线比较平稳，故采用 100% 甲醇溶解后微孔滤膜滤过作为供试品溶液制备方法。

表 8 不同检测波长对相对校正因子的影响

Tab. 8 Effects of different detection wavelengths on relative correction factors

检测波长/nm	相对校正因子		
	常春藤皂苷 D	常春藤皂苷 B	α-常春藤皂苷
203	0. 994	1. 003	1. 483
205	0. 991	1. 017	1. 491
207	0. 976	0. 967	1. 433
平均值	0. 987	0. 996	1. 469
RSD/%	1. 010	2. 600	2. 140

2. 9 样品含有量测定 取 13 批口服液，按“2. 4. 2”项下制备供试品溶液，精密吸取对照品、供试品溶液各 10 μL，在“2. 1”项色谱条件下进样测定，并与外标法进行比较，结果见表 10，可知 2 种方法所得结果接近。

3 讨论

3. 1 供试品溶液制备方法筛选 本实验考察了直接微孔滤膜过滤进样，甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇溶解后微孔滤膜过滤进样，正丁醇萃取回收溶剂后

3. 2 检测波长筛选 本实验对常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷溶液进行全波长扫描时发现，四者在 205 nm 波长下均有较好吸收，而且基线平稳，色谱峰峰形较好，出峰数较多，故选择其作为检测波长。

表 10 一测多评法和外标法所得结果比较 (mg/mL)
Tab. 10 Comparison of results obtained by QAMS method and external standard method (mg/mL)

批号	常春藤皂苷 C	常春藤皂苷 D		常春藤皂苷 B		α-常春藤皂苷	
	外标法	外标法	一测多评法	外标法	一测多评法	外标法	一测多评法
17081003	0.686 4	0.035 3	0.034 3	0.045 1	0.044 8	0.469 8	0.482 5
17081004	0.704 8	0.035 1	0.034 1	0.047 2	0.047 0	0.323 0	0.330 2
17081001	0.647 3	0.028 8	0.027 5	0.040 8	0.040 3	0.290 4	0.296 5
17080804	0.657 1	0.055 6	0.055 4	0.033 4	0.032 6	0.207 1	0.209 9
17080801	0.711 3	0.046 9	0.046 3	0.042 7	0.042 2	0.215 6	0.218 6
17081402	0.686 8	0.035 0	0.033 9	0.041 8	0.041 4	0.295 5	0.301 7
17080803	0.631 9	0.051 9	0.051 6	0.048 2	0.048 0	0.200 2	0.202 9
17080802	0.719 3	0.032 8	0.031 7	0.047 4	0.047 1	0.172 9	0.174 4
17080701	0.685 3	0.045 6	0.045 0	0.050 5	0.050 5	0.152 0	0.152 7
17081002	0.679 0	0.047 4	0.046 8	0.037 9	0.037 3	0.153 9	0.154 7
17081102	0.670 1	0.058 1	0.058 0	0.032 4	0.031 5	0.098 1	0.096 8
17081103	0.610 7	0.028 2	0.027 0	0.031 7	0.030 8	0.080 0	0.078 1
17081104	0.648 3	0.069 9	0.070 2	0.037 4	0.036 7	0.065 7	0.063 2

3.3 内标筛选 由于常春藤皂苷 C 为常春藤口服液中的主要有效成分, 而且含有量较高, 对照品价廉易得, 故选择其作为内标。

3.4 相对校正因子重复性考察 本实验考察了不同仪器、色谱柱、体积流量、柱温、检测波长对各成分相对校正因子的重复性, 用于验证一测多评法在常春藤口服液质量控制中的可行性和技术适应性。结果表明, 不同条件下相对校正因子的重复性均较理想, 即该方法可用于含有量测定。

3.5 色谱峰定位 针对在只使用单一对照品时如何正确定位常春藤口服液中其他 3 种成分色谱峰的问题, 本实验选择各成分之间的保留时间差、分离度、相对保留值(待测成分与内标调整保留时间之比)作为定位标准, 并在不同仪器、色谱柱下对三者进行考察。结果表明, 相对保留值能更准确地定位色谱峰。

4 结论

本实验建立一测多评法同时测定常春藤口服液中常春藤皂苷 C、常春藤皂苷 D、常春藤皂苷 B、α-常春藤皂苷的含有量。该方法简单、快速、准确, 相对校正因子具有良好的可信度和准确度, 能在对照品短缺的情况下用于含有量测定, 同时可减少溶剂消耗和分析时间, 更有利于环境保护和效率提升。

参考文献:

[1] 李佳莲, 方 磊, 张永清, 等. 麻黄的化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(7): 21-27.
[2] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 急性呼吸道感染抗生素合理使用指南(试行)(2000 年)[J]. 现代实用医学, 2003, 15(10): 649-655.

[3] Vandavelde N M, Tulkens P M, Iglesias D Y, et al. Characterisation of a collection of *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients suffering from acute exacerbations of chronic bronchitis; *In vitro* susceptibility to antibiotics and biofilm formation in relation to antibiotic efflux and serotypes/serogroups[J]. *Int J Anti-microb Agents*, 2014, 44(3): 209-217.
[4] Kroening-Roche J C, Soroudi A, Castillo E M, et al. Antibiotic and bronchodilator prescribing for acute bronchitis in the emergency department[J]. *J Emerg Med*, 2012, 43(2): 221-227.
[5] Stauss-Grabo M, Atiye S, Warnke A, et al. Observational study on the tolerability and safety of film-coated tablets containing ivy extract (Prospan[®] Cough Tablets) in the treatment of colds accompanied by coughing [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(6): 433-436.
[6] Lang C, Röttger-lüer P, Staiger C, et al. A valuable option for the treatment of respiratory diseases: review on the clinical evidence of the ivy leaves dry extract EA 575[®] [J]. *Planta Med*, 2015, 81(12-13): 968-974.
[7] Holzinger F, Chenot J F. Systematic review of clinical trials assessing the effectiveness of ivy leaf (*Hedera helix*) for acute upper respiratory tract infections [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 382789.
[8] 童 星. 中华常春藤中皂苷类成分和挥发油分离分析研究[D]. 长沙: 中南大学, 2007.
[9] 倪力军, 张立国, 朱婷婷, 等. 一种治疗支气管炎、肺炎和哮喘的药物及其制备方法: 中国, CN104306416A[P]. 2015-01-28.
[10] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925-1928.
[11] 何 兵, 刘 艳, 李春红, 等. 一测多评法同时测定鱼腥草不同部位中 6 种活性成分的含量[J]. 中草药, 2013, 44(15): 2160-2164.
[12] 党娟丽, 郭东艳, 王 露, 等. 一测多评法测定湖北海棠叶中 5 种黄酮的含量[J]. 中成药, 2017, 39(8):

1733-1736.

[13] 杨 菲, 冯伟红, 王智民, 等. 一测多评法测定银黄制剂中 4 种黄酮类成分含量[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(12): 984-989.

[14] 罗祖良, 仇 峰, 韦日伟, 等. 相对校正因子在中药多指

标测定中的应用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(7): 1448-1452.

[15] 李 倩, 刘 伟, 罗祖良, 等. 一测多评法测定丹参中丹参酮Ⅲ_A、隐丹参酮、丹参酮I、二氢丹参酮I的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 824-828.

葛花质量标准的研究

马奋刚, 张永萍*, 徐 剑, 杨立勇, 赵 南
(贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 建立葛花 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的质量标准。**方法** 对葛花性状、显微特征进行鉴别后, TLC 法作定性鉴别, HPLC、紫外分光光度法分别测定葛花苷、总黄酮含量, 《中国药典》方法测定水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量。**结果** TLC 斑点清晰, 重复性好, 阴性无干扰。葛花苷、总黄酮分别在 2.34 ~ 234 μg/mL ($r = 0.999\ 8$)、0.336 8 ~ 1.347 2 mg/mL ($r = 0.999\ 7$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率 (RSD) 分别为 100.66% (1.73%)、99.77% (2.2%)。10 批样品中, 水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量范围分别为 12.40% ~ 14.70%、8.16% ~ 10.13%、0.40% ~ 0.70%、20.25% ~ 29.5%。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于葛花的质量评价。

关键词: 葛花; 葛花苷; 总黄酮; TLC; HPLC; 紫外分光光度

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)08-1762-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.08.018

Quality standard for *Pueraria lobata*

MA Fen-gang, ZHANG Yong-ping*, XU Jian, YANG Li-yong, ZHAO Nan
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish the quality standard for *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi. **METHODS** The characteristic and microscopic features of *P. lobata* were identified, after which TLC was used for qualitative identification, HPLC and UV spectrophotometry were adopted in the content determination of kakkalide and total flavonoids, respectively, and the contents of water, total ash, acid-insoluble ash and extracts were determined by Chinese Pharmacopoeia methods. **RESULTS** The clear TLC plots displayed good reproducibility without negative interference. Kakkalide and total flavonoids showed good linear relationships within the ranges of 2.34 – 234 μg/mL ($r = 0.999\ 8$) and 0.336 8 – 1.347 2 mg/mL ($r = 0.999\ 7$), whose average recoveries (RSDs) were 100.66% (1.73%) and 99.77% (2.2%), respectively. In ten batches of samples, the content ranges of water, total ash, acid-insoluble ash and extracts were 12.40% – 14.70%, 8.16% – 10.13%, 0.40% – 0.70% and 20.25% ~ 29.5%, respectively. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the quality control of *P. lobata*.

KEY WORDS: *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; kakkalide; total flavonoids; TLC; HPLC; UV spectrophotometry

收稿日期: 2018-01-15

基金项目: 贵州省教育厅普通高等学校中药民族药(苗药)新剂型新制剂工程研究中心项目(黔教合 KY 字[2014]22); 贵州省科技计划重大专项项目(黔科合重大专项字[2015]6010); 国家苗药工程技术研究中心项目(2014FU125Q09); 贵州省贵阳中医学院院士工作站黔科合院士站([2014]4013)

作者简介: 马奋刚(1992—), 男, 硕士生, 从事中药、民族药新制剂与新剂型研究。Tel: 18786016885

* 通信作者: 张永萍(1965—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药、民族药新制剂与新剂型研究。Tel: (0851) 85652056