

一测多评法同时测定梅翁退热颗粒中 8 种成分

刘媛媛¹, 孟秀杰¹, 李丽静²

(1. 唐山职业技术学院, 河北 唐山 063000; 2. 承德医学院附属医院药剂科, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 建立一测多评法同时测定梅翁退热颗粒(金银花、野菊花、连翘等)中木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸的含量。**方法** 该药物 70% 甲醇提取液的分析采用 Thermo ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.5% 磷酸为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 205、275、295、350 nm。以连翘苷为内标, 计算其他 7 种成分相对校正因子, 测定其含量。**结果** 8 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.999\ 0$), 平均加样回收率 96.98%~100.08%, RSD 0.60%~1.42%。一测多评法所得结果与外标法接近。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于梅翁退热颗粒的质量控制。

关键词: 梅翁退热颗粒; 化学成分; 一测多评

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)08-1782-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.08.006

Simultaneous determination of eight constituents in Meiweng Tuire Granules by QAMS

LIU Yuan-yuan¹, MENG Xiu-jie¹, LI Li-jing²

(1. Tangshan Vocational & Technical College, Tangshan 063000, China; 2. Department of Pharmacy, the Hospital Affiliated to Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

ABSTRACT: AIM To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous content determination of luteolin-7-glucoside, luteolin, dryocrassine, forsythoside B, forsythoside A, forsythin, arctigenin and pomolic acid in Meiweng Tuire Granules (*Lonicerae japonicae Flos*, *Chrysanthemi indicis Flos*, *Forsythiae Fructus*, etc.). **METHODS** The analysis of 70% methanol extract of this drug was performed on a 25 ℃ thermostatic Thermo ODS C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.5% phosphate acid flowing at 0.9 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 205, 275, 295, 350 nm. Forsythin was used as an internal standard to calculate the relative correction factors of the other seven constituents, after which the content determination was made. **RESULTS** Eight constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 0$), whose average recoveries were 96.98%–100.08% with the RSDs of 0.60%–1.42%. 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 Meiweng Tuire Granules.

KEY WORDS: Meiweng Tuire Granules; chemical constituents; quantitative analysis of multi-components by single-marker

梅翁退热颗粒收载于《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第十七册^[1], 由金银花、野菊花、绵马贯众、连翘、岗梅、水翁花、鱼腥草等 10 味中药材组成, 具有疏风清热、解毒利咽、消痈散结

的功效, 临床上主要用于风热感冒、发热咳嗽、咽喉肿痛、胸膈胀痛、喉痹、乳蛾等疾病的治疗, 但其现行质量标准未对方中成分进行定量控制, 前期报道仅有对连翘苷含量进行测定^[2]。

收稿日期: 2019-02-01
作者简介: 刘媛媛 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事中医药教学及科研工作。Tel: 18232579997, E-mail: yuanyuan9997@qq.com

中成药复方制剂中的有效成分复杂多样，单一成分难以对其质量进行全面准确的评价和控制，近年来多成分、多指标质量评价模式已成为相关研究的必然趋势，但存在部分成分对照品不稳定、价格昂贵等因素，限制了其普及和推广。一测多评法通过测定对照品易得、质量稳定的一种成分，利用中药有效成分间存在的内在函数和比例关系建立相对校正因子，计算其他成分含有量，从而实现多种成分同时测定，有效降低了检验成本。因此，本实验采用该方法同时测定梅翁退热颗粒中木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸的含有量，以期为该制剂质量控制和评价提供科学依据。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；Waters e2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；Thermo ODS C₁₈、Phenomenex BDS C₁₈、SunFire-C₁₈ 色谱柱；XPE205DR 型电子天平（十万分之一，瑞士 Mettler-Toledo 公司）；YQ-620C 型超声波清洗器（上海易净超声波仪器有限公司）。木犀草苷（111720-201609）、木犀草素（111520-201605）、连翘酯苷 B（111811-201603）、连翘酯苷 A（111810-201707）、连翘苷（110821-201816）对照品均购自中国食品药品检定研究院；东北贯众素（12777-70-7）、牛蒡子苷元（7770-78-7）、坡模酸（13849-91-7）对照品均购自上海纯优生物科技有限公司。梅翁退热颗粒（每袋装 15 g，批号 171202、180203、180401）购自广州康和药业有限公司。乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Thermo ODS C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.5% 磷酸（B），梯度洗脱（0~16.0 min，12.0% A；16.0~41.0 min，12.0% ~ 35.0% A；41.0~49.0 min，35.0% ~ 52.0% A；49.0~55.0 min，52.0% ~ 75.0% A；55.0~65.0 min，75.0% ~ 12.0% A）；0~24.0 min 在 350 nm^[3] 波长下检测木犀草苷、木犀草素，24.0~32.0 min 在 295 nm^[4] 波长下检测东北贯众素，32.0~49.0 min 在 275 nm^[5] 波长下检测连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、牛蒡子苷元，49.0~65.0 min 在 205 nm^[6-7] 波长下检测坡模酸；体积流量 0.9 mL/min；柱温 25 ℃；进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液制备 精密各对照品适量，70%

甲醇制成分别含木犀草苷 0.498 mg/mL、木犀草素 0.312 mg/mL、东北贯众素 4.876 mg/mL、连翘酯苷 B 0.574 mg/mL、连翘酯苷 A 1.716 mg/mL、连翘苷 0.852 mg/mL、牛蒡子苷元 0.238 mg/mL、坡模酸 0.702 mg/mL 的贮备液，精密吸取适量，70% 甲醇制成每 1 mL 分别含木犀草苷 24.9 μg、木犀草素 15.6 μg、东北贯众素 243.8 μg、连翘酯苷 B 28.7 μg、连翘酯苷 A 85.8 μg、连翘苷 42.6 μg、牛蒡子苷元 11.9 μg、坡模酸 35.1 μg 的溶液，即得。

2.3 供试品溶液制备 取颗粒适量，研细，精密称取约 1.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 25 mL，称定质量，超声（300 W、40 kHz）提取 30 min，放冷，70% 甲醇补足减失质量，摇匀，滤过，即得。

2.4 阴性样品溶液制备 按照颗粒处方和制法，分别制备不含金银花和野菊花、绵马贯众、连翘、岗梅的阴性样品，按“2.3”项下方法制备，即得。

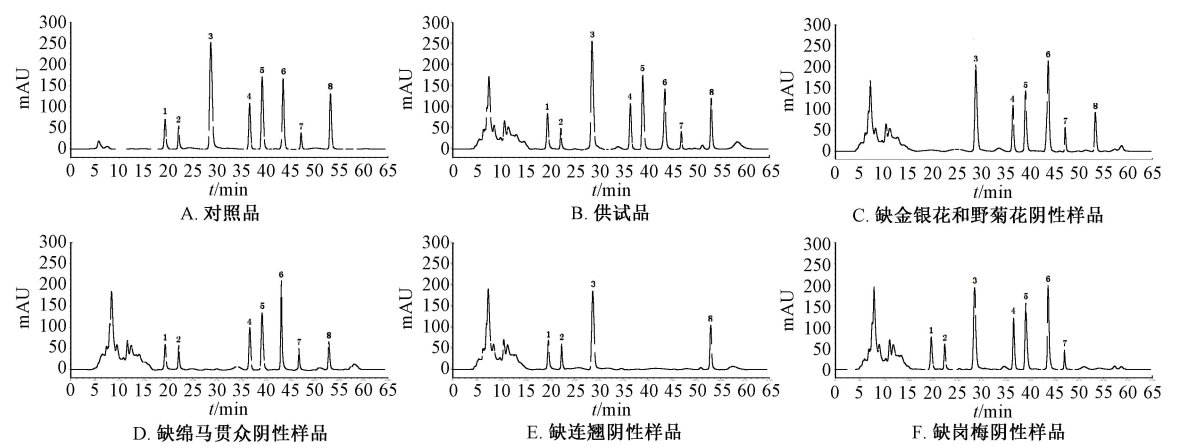
2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，各成分色谱峰分离度良好（>1.5），理论塔板数均大于 4 000，阴性无干扰。

2.5.2 线性关系考察 精密称取各对照品适量，置于同一 20 mL 量瓶中，70% 甲醇制成线性溶液 I，70% 甲醇再依次稀释 2、4、8、16、25 倍，分别制成线性溶液 II、III、IV、V、VI，精密吸取适量，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 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

Tab. 1 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
木犀草苷	Y=4.134 7×10 ⁵ X+898.5	0.999 3	2.49 ~ 62.25
木犀草素	Y=2.932 6×10 ⁵ X-102.3	0.999 1	1.56 ~ 39.00
东北贯众素	Y=3.890 5×10 ⁵ X-538.4	0.999 6	24.38 ~ 609.50
连翘酯苷 B	Y=6.933 7×10 ⁵ X+955.8	0.999 7	2.87 ~ 71.75
连翘酯苷 A	Y=6.945 8×10 ⁵ X-144.1	0.999 1	8.58 ~ 214.50
连翘苷	Y=9.054 3×10 ⁵ X+755.2	0.999 7	4.26 ~ 106.50
牛蒡子苷元	Y=3.126 6×10 ⁵ X+255.5	0.999 4	1.19 ~ 29.75
坡模酸	Y=6.433 5×10 ⁵ X+239.8	0.999 7	3.51 ~ 87.75



1. 木犀草苷 2. 木犀草素 3. 东北贯众素 4. 连翘酯苷 B 5. 连翘酯苷 A 6. 连翘苷 7. 牛蒡子苷元 8. 坡模酸
1. luteolin-7-glucoside 2. luteolin 3. dryocrassine 4. forsythoside B 5. forsythoside A 6. forsythidin 7. arctigenin 8. pomolic acid

图1 各成分HPLC色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of various constituents

2.5.3 精密度试验 精密吸取“2.2”项下对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸峰面积RSD分别为1.03%、1.11%、0.61%、0.94%、0.72%、0.85%、1.30%、0.89%，表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 取同一批（批号171202）颗粒适量，按“2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸含有量RSD分别为0.55%、1.63%、1.07%、0.18%、1.29%、1.21%、0.86%、1.37%，表明该方法重复性良好。

2.5.5 稳定性试验 精密吸取同一批（批号171202）供试品溶液，室温下于0、2、4、6、12、16h在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸峰面积RSD分别为0.97%、1.06%、0.58%、0.91%、0.77%、0.82%、1.35%、0.94%，表明溶液在16h内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密称取含有量已知的同一批（批号171202）颗粒6份，每份约0.5g，加入对照品溶液〔木犀草苷（0.267 mg/mL）1.0 mL、木犀草素（0.199 mg/mL）1.0 mL、东北贯众素（1.031 mg/mL）3.0 mL、连翘酯苷B（0.363 mg/mL）1.0 mL、连翘酯苷A（1.038 mg/mL）1.0 mL、连

翘苷（0.634 mg/mL）1.0 mL、牛蒡子苷元（0.147 mg/mL）1.0 mL、坡模酸（0.479 mg/mL）1.0 mL〕，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，木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸平均加样回收率分别为98.54%、97.29%、100.08%、98.88%、99.42%、99.04%、96.98%、98.93%，RSD分别为1.32%、1.08%、0.60%、0.94%、1.16%、0.79%、1.42%、1.22%。

2.6 相对校正因子计算 精密吸取“2.5.2”项下6个线标溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，以连翘苷为内标，计算其他7种成分的相对校正因子 $f_{k/s}$ ，公式为 $f_{k/s} = (W_k A_s) / (W_s A_k)$ （ W_k 为其他成分质量浓度， A_k 为其他成分峰面积， W_s 为内标质量浓度， A_s 为内标峰面积），结果见表2。

2.7 耐用性考察

2.7.1 仪器、色谱柱 考察Agilent 1200、Waters 2695型色谱仪，以及Thermo ODS C₁₈、Phenomenex BDS C₁₈、SunFire-C₁₈色谱柱对相对校正因子的影响，发现不同仪器、色谱柱均无明显影响，RSD分别为1.35%、0.71%、1.26%、0.52%、1.90%、1.17%、0.54%。

2.7.2 体积流量 考察0.8、0.9、1.0 mL/min体积流量对相对校正因子的影响，发现不同体积流量均无明显影响，RSD分别为1.26%、0.77%、1.18%、0.15%、1.83%、1.20%、0.44%。

表 2 各成分相对校正因子

Tab. 2 Relative correction factors of various constituents

线标溶液	木犀草苷	木犀草素	东北贯众素	连翘酯苷 B	连翘酯苷 A	牛蒡子苷元	坡模酸
Ⅵ	0. 455 7	0. 325 8	0. 421 6	0. 768 4	0. 772 8	0. 352 1	0. 711 4
V	0. 449 9	0. 318 6	0. 422 0	0. 767 7	0. 755 8	0. 341 8	0. 718 0
Ⅳ	0. 448 8	0. 321 5	0. 423 5	0. 767 8	0. 764 3	0. 344 7	0. 710 3
Ⅲ	0. 453 9	0. 315 0	0. 433 3	0. 766 2	0. 743 7	0. 341 1	0. 711 1
Ⅱ	0. 465 5	0. 331 0	0. 432 1	0. 765 1	0. 784 9	0. 349 1	0. 708 1
I	0. 454 9	0. 322 5	0. 428 9	0. 766 1	0. 763 9	0. 344 7	0. 711 1
平均值	0. 454 8	0. 322 4	0. 426 9	0. 766 9	0. 764 2	0. 345 6	0. 711 7
RSD/%	1. 30	1. 74	1. 22	0. 17	1. 85	1. 24	0. 48

2.8 色谱峰定位 以连翘苷为内标，考察其他 7 种成分在不同色谱仪、色谱柱下与内标物的相对保留值，对待测成分色谱峰进行定位，结果见表 3，可知不同仪器、色谱柱下相对保留值无明显差异。

表 3 各成分相对保留值

Tab. 3 Relative retention values of various constituents

仪器	色谱柱	木犀草苷	木犀草素	东北贯众素	连翘酯苷 B	连翘酯苷 A	牛蒡子苷元	坡模酸
Agilent 1200	Thermo ODS C ₁₈	0. 447 7	0. 509 5	0. 657 5	0. 837 9	0. 897 5	1. 077 9	1. 219 6
	Phenomenex BDS C ₁₈	0. 441 9	0. 508 3	0. 656 7	0. 837 9	0. 895 4	1. 071 5	1. 214 3
	SunFire-C ₁₈	0. 454 6	0. 517 2	0. 659 4	0. 839 1	0. 901 1	1. 081 2	1. 232 5
Waters e2695	Thermo ODS C ₁₈	0. 450 2	0. 510 6	0. 658 2	0. 839 5	0. 899 4	1. 078 6	1. 223 8
	Phenomenex BDS C ₁₈	0. 437 6	0. 501 6	0. 649 9	0. 832 7	0. 890 6	1. 049 2	1. 214 9
	SunFire-C ₁₈	0. 461 6	0. 520 4	0. 659 7	0. 842 4	0. 899 2	1. 092 5	1. 240 5
	平均值	0. 448 9	0. 511 3	0. 656 9	0. 838 3	0. 897 2	1. 075 1	1. 224 3
	RSD/%	1. 93	1. 31	0. 55	0. 38	0. 42	1. 34	0. 85

2.9 样品含有量测定 取 3 批颗粒（批号 171202、180203、180401）适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，分别采用外标法和一测多评法计算含有量，结果见表 4，可知 2 种方法所得结果无明显差异，相对平均偏差（RAD）均<2.0%。

表 4 各成分含有量测定结果（mg/g）

Tab. 4 Results of content determination of various constituents（mg/g）

批号	连翘苷		木犀草苷		木犀草素			东北贯众素		
	外标法	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%
171202	1. 271	0. 528	0. 533	0. 47	0. 413	0. 422	1. 08	6. 179	6. 144	0. 28
180203	1. 092	0. 606	0. 595	0. 92	0. 471	0. 465	0. 64	5. 577	5. 652	0. 67
180401	1. 326	0. 479	0. 493	1. 44	0. 355	0. 366	1. 53	6. 460	6. 283	1. 39

批号	连翘酯苷 B			连翘酯苷 A			牛蒡子苷元			坡模酸		
	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%
171202	0. 735	0. 748	0. 88	2. 104	2. 176	1. 68	0. 282	0. 291	1. 57	0. 957	0. 980	1. 19
180203	0. 830	0. 811	1. 16	2. 199	2. 161	0. 87	0. 240	0. 247	1. 44	0. 885	0. 901	0. 90
180401	0. 623	0. 600	1. 88	1. 863	1. 917	1. 43	0. 321	0. 317	0. 63	1. 003	0. 992	0. 55

3 讨论

3.1 流动相优化 本实验考察了不同流动相（乙腈-水^[2-3,7-8]、乙腈-0.5%冰醋酸^[3,8]、乙腈-0.5%磷酸^[5-6,8-13]）对木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸峰形、分离效果、基线平稳的影响，同时不断优化流动相比例。最终确定，以乙腈-0.5%磷酸为流动相，按“2.1”项下比例进行梯度洗脱。

3.2 供试品溶液制备方法筛选 本实验考察了不

同提取溶剂（甲醇^[2-3,6]、70% 甲醇^[3,5]、乙醇^[7]、70% 乙醇^[3]）对木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸提取率的影响，发现以 70% 甲醇为提取溶剂时，各成分综合提取率最佳。在此基础上，又考察了不同提取方式（超声提取^[3,5-8,10]、加热回流提取^[2,8-9]）对各成分提取率的影响，发现差异不大，可能与梅翁退热颗粒生产工艺有关，结合检验操作便捷性，选择超声提取。同时，又对超声

提取时间（15、30、45 min）进行考察。最终确定，采用70%甲醇超声提取30 min作为供试品溶液制备方法。

4 结论

本实验以连翘苷为内标，建立一测多评法同时测定梅翁退热颗粒中木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸的含有量，可实现该制剂多指标成分定量测定的质量评价模式，而且该方法操作简便，重复性好，为其质量控制和评价提供科学依据。

参考文献：

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. WS3-B-3319-98. 卫生部颁药品标准（中药成方制剂第十七册）[S]. 1998.

[2] 李书渊, 施玉旋, 李巨华. 梅翁退热颗粒中连翘苷的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(7): 734-735.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 170-171, 221, 314-315, 330.

[4] 高增平, 王宝华, 陆蕴如, 等. HPLC和TLCS测定绵马贯众抗疟有效部位中东北贯众素含量[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(11): 878.

[5] 付云飞, 李清, 毕开顺. RP-HPLC法同时测定不同产地连翘中的7种成分[J]. 中草药, 2013, 44(8): 1043-1046.

[6] 黄锦茶, 陈丰连, 陈海明, 等. HPLC法测定不同产地岗梅药材中坡模酸的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6): 679-681.

[7] 姜琼, 邹盛勤. RP-HPLC-PDA同时测定石见穿不同部位中5个三萜酸[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4379-4382.

[8] 原江锋, 邱智军, 刘建利, 等. 河南和山西连翘叶中总木脂素、连翘酯苷A、连翘酯苷B和连翘苷的含量比较[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(5): 845-848, 864.

[9] 戴胜, 张明, 程文明, 等. HPLC测定野菊花药材中8种黄酮和有机酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1961-1965.

[10] 艾光丽, 王维, 曾桢, 等. HPLC法同时测定银黄颗粒中6种成分[J]. 中成药, 2017, 39(3): 528-532.

[11] 赵诗怡, 渠亚蓉, 徐天龙, 等. 2015版《中国药典》连翘项下连翘苷、连翘酯苷A测定方法的改进[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2324-2327.

[12] 崔俊凤, 赵卫, 刘晓鹏, 等. HPLC-DAD法同时测定梔苓清热合剂中4种成分[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1954-1957.

[13] 包刚, 左雅敏, 黄建军, 等. HPLC法同时测定消结安胶囊中4种成分[J]. 中成药, 2017, 39(3): 536-539.

HPLC法同时测定良姜胃疡胶囊中7种成分

肖耀华^{1,2}, 雷丹丹^{1,2}, 徐国波^{1,2}, 周孟², 何迅², 廖尚高^{1,2,*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵安新区 550025; 2. 国家苗药工程技术中心, 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004)

摘要：**目的** 建立HPLC法同时测定良姜胃疡胶囊（吴茱萸、高良姜、藿香等）中东莩萜苷、异嗪皮啶、东莩萜内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱、去氢吴茱萸碱的含有量。**方法** 该药物70%甲醇提取液的分析采用Diamonsil C₁₈色谱柱（150 mm×4.6 mm, 5 μm）；流动相甲醇-0.1%甲酸，梯度洗脱；体积流量1.0 mL/min；柱温30℃；检测波长267、334 nm。**结果** 7种成分在各自范围内线性关系良好（ $r \geq 0.9997$ ），平均加样回收率98.84%~102.63%，RSD 0.69%~2.00%。**结论** 该方法简便准确，重复性好，可用于良姜胃疡胶囊的质量控制。

关键词：良姜胃疡胶囊；化学成分；HPLC

中图分类号：R927.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2019)08-1786-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.08.007

收稿日期：2019-02-02

基金项目：贵州省科学技术支撑计划（黔科合支撑〔2017〕2888）

作者简介：肖耀华（1985—），女，硕士生，从事药物制剂质量控制研究。Tel: (0851) 88416164, E-mail: 411583324@qq.com

*通信作者：廖尚高（1972—），男，博士，教授，从事中药物质基础及质量控制研究。Tel: (0851) 88416164, E-mail: lshangg@163.com