

一测多评法测定不同来源石韦及其制剂中 3 个咖啡酰奎宁酸类成分^{*}

陈贵, 夏稷子, 徐作刚

(黔南州检验检测院, 都匀 558000)

摘要 **目的:** 采用一测多评法(QAMS)同时测定 3 种不同来源石韦及其 2 种复方制剂中绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸的含量。**方法:** 采用高效液相色谱法, 使用 InertSustain C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱; 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 327 nm。以绿原酸为内参物, 计算其与新绿原酸和隐绿原酸的相对校正因子, 建立 QAMS 并测定各样品的含量, 与外标法(ESM)测定结果相比较, 以验证 QAMS 的准确性和可行性。**结果:** 新绿原酸和隐绿原酸的相对校正因子分别为 1.108 和 0.995, 在不同仪器和不同色谱柱重现性良好(RSD<5%)。QAMS 测得 3 种石韦样品及其 2 种复方制剂中绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸的含量范围分别为 0.593~3.537、0.119~2.497 和 0.149~2.254 mg·g⁻¹, 与 ESM 所测结果之间均无显著差异。**结论:** 建立的 QAMS 可应用于 3 种不同来源石韦、复方石韦胶囊和复方石韦片的质量控制。

关键词: 石韦; 复方石韦胶囊; 复方石韦片; 绿原酸; 新绿原酸; 隐绿原酸; 一测多评法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2020)02-0360-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2020.02.22

Simultaneous determination of three caffeoylquinic acids in different species of Pyrrosiae Folium and their preparations by QAMS^{*}

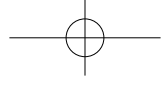
CHEN Gui, XIA Ji-zi, XU Zuo-gang

(Qiannan Inspection and Testing Institute, Duyun 558000, China)

Abstract **Objective:** To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker(QAMS) method for the simultaneous determination of chlorogenic acid, neochlorogenic acid and cryptochlorogenic acid in three species of Pyrrosiae Folium and their preparations. **Methods:** HPLC was performed on a thermostatic Shimadzu InertSustain C₁₈ column(150 mm×4.6 mm, 5 μm) at 30 ℃, with the mobile phase comprising of methanol-0.1% phosphoric acid at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ in a gradient elution manner. The detection wavelength was set at 327 nm. Using chlorogenic acid as the internal reference substance, the relative correction factors(RCFs) of neochlorogenic acid and cryptochlorogenic acid were determined. These three index contents were determined by external standard method(ESM) and QAMS. The results between two methods were compared to verify the accuracy and feasibility of QAMS. **Results:** The RCFs

^{*} 黔南州理论创新项目(Qnzskl-2018-62)

第一作者 Tel:(0854)8321021; E-mail: chengui211@126.com



of neochlorogenic acid and cryptochlorogenic acid were 1.108 and 0.995, respectively, and showed good reproducibility under different instruments and chromatographic columns ($RSD < 5\%$). The content ranges of chlorogenic acid, neochlorogenic acid and cryptochlorogenic acid in three species of *Pyrrosiae Folium* and two preparations by QAMS were $0.593\text{--}3.537\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.119\text{--}2.497\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $0.149\text{--}2.254\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. There were no significant difference between QAMS and ESM. **Conclusion:** The QAMS can be used for the quality control of *Pyrrosiae Folium* from three species, Fufang Shiwei capsules and Fufang Shiwei tablets.

Keywords: *Pyrrosiae Folium*; Fufang Shiwei capsules; Fufang Shiwei tablets; chlorogenic acid; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS)

石韦 (*Pyrrosiae Folium*) 为水龙骨科植物石韦 *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell、有柄石韦 *Pyrrosia petiolosa* (Christ) Ching 或庐山石韦 *Pyrrosia shearerii* (Bak.) Ching 的干燥叶,具有利尿通淋、凉血止血和清肺止咳的功效,用于热淋、血淋、石淋、小便不通等^[1]。石韦中含有绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸等多种有机酸类成分,是其发挥药理功效的重要物质基础,目前有关石韦的含量测定大多以绿原酸作为指标成分^[2-9]。复方石韦胶囊和复方石韦片均由石韦、黄芪、苦参和篇蓄 4 味药等量组成,具有清热燥湿、利尿通淋的功效,现行质量标准将绿原酸作为这 2 种复方制剂薄层色谱鉴别的指标。中药所含成分复杂,多成分质量控制模式更能反映中药整体质量,但对照品供求矛盾、检验成本高昂严重制约了其应用,一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 的出现有效地解决了这一难题,该方法已成功应用于黄连、大黄、重楼等中药的含量控制^[10-12]。在 3 个绿原酸对照品中,目前中国食品药品检定研究院能提供的只有绿原酸,其余不易获得,而且价格昂贵、供应不足。本研究以绿原酸为内参物,建立 QAMS,同时测定 3 种不同来源石韦、复方石韦胶囊和复方石韦片中绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸的含量,为更加有效地控制石韦药材及其复方制剂质量提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 LC-2010A 型高效液相色谱仪 (岛津公司); 安捷伦 1260 型高效液相色谱仪 (安捷伦公司); AG135 型十万分之一电子天平、AL204 型万分之一电子天平 (梅特勒-托利多公司); SK250LHC 型超声仪 (上海科导公司)。

1.2 试剂

绿原酸对照品 (批号 110753-201415, 含量

96.2%), 购于中国食品药品检定研究院; 新绿原酸对照品 (批号 171004, 含量 98.48%) 和隐绿原酸对照品 (批号 171103, 含量 98.94%), 购于北京世纪奥科生物技术有限公司。

石韦 (批号 20180107、20180114、160901, 分别编号为 A1、A2、A3)、有柄石韦 (批号 180102、160401、161101, 分别编号为 B1、B2、B3)、庐山石韦 (批号 501003425W、501003703T、20181014, 分别编号为 C1、C2、C3) 和黄芪 (批号 170501)、苦参 (批号 160702)、篇蓄 (批号 B604221) 均购于都匀市药材市场及湘君连锁药房, 经黔南州检验检测院夏稷子主任药师鉴定为正品。

复方石韦胶囊 (批号 180805、20161105、20161004, 分别编号为 D1、D2、D3), 陕西步长高新制药有限公司、贵州济仁堂药业有限公司、黑龙江天翼药业有限公司生产; 复方石韦片 (批号 730170、730389、830125, 分别编号为 E1、E2、E3), 颈复康药业集团有限公司生产。

甲醇为色谱纯, 磷酸为优级纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 InertSustain C_{18} 色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~25 min, 5%A $\rightarrow$ 9%A; 25~92.5 min, 9%A $\rightarrow$ 10.5%A), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长为 327 nm, 进样量为 10 μL 。

2.2 对照品储备液的制备

分别取新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的对照品适量, 精密称定, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入 50% 甲醇制成每 1 mL 各含 204.4、203.9 和 210.9 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取药材粉末 (过 2 号筛) 约 1 g (复方石韦胶囊

取粉末约 0.5 g; 复方石韦片除去包衣, 研细混匀后取约 0.5 g), 精密称定, 精密加入 50% 甲醇溶液 25 mL, 超声 (300 W, 33 kHz) 90 min (复方石韦胶囊和复方石韦片样品均超声 10 min), 放冷, 加入 50% 甲醇补足减失的量, 用微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

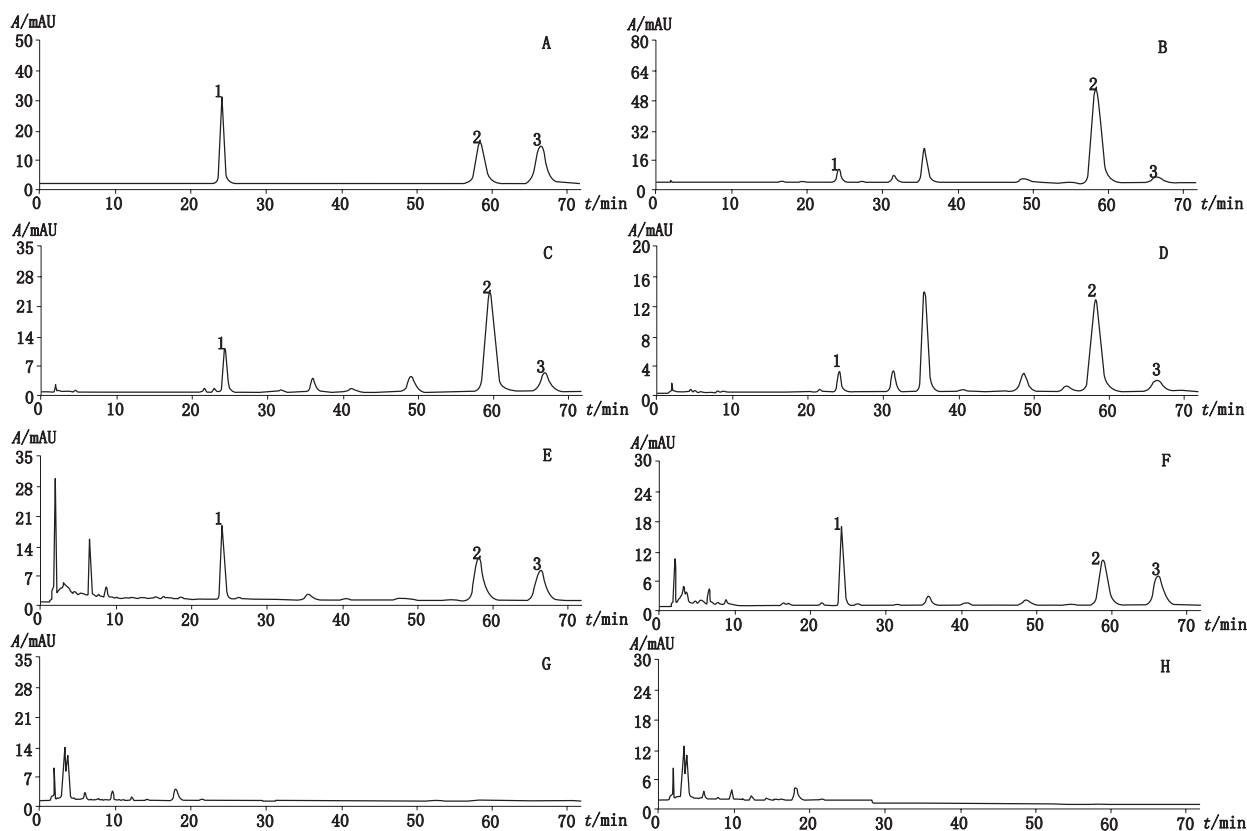
2.4 阴性对照溶液的制备

照复方石韦胶囊和复方石韦片质量标准的处方法和制法, 分别制备缺石韦的阴性对照样品, 并按“2.3”

项下方法分别制备相应的阴性对照溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 系统适用性试验 取“2.2”项下的对照品储备液、“2.3”项下的供试品溶液和“2.4”项下的阴性对照溶液, 照“2.1”项下的色谱条件进样。在此条件下, 绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸的理论塔板数均大于 10 000, 3 个成分与相邻成分之间分离度均大于 1.5, 阴性对照无干扰, HPLC 色谱图见图 1。



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid) 3. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)

A. 混合对照品 (mixed reference substances) B. 石韦 (Pyrrhosiae Folium) C. 有柄石韦 (Pyrrhosia petiolosa) D. 庐山石韦 (Pyrrhosia shearerii) E. 复方石韦胶囊 (Fufang Shiwei capsules) F. 复方石韦片 (Fufang Shiwei tablets) G. 复方石韦胶囊阴性样品 (negative sample of Fufang Shiwei capsules) H. 复方石韦片阴性样品 (negative sample of Fufang Shiwei tablets)

图 1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.5.2 线性关系考察 分别精密吸取“2.2”项下对照品储备液 1 mL, 置 5、10、25、100、200 mL 棕色量瓶中, 加入 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列浓度对照品溶液。取“2.2”项下对照品储备液及上述 5 个系列浓度溶液进样测定。以各对照品质量浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得到新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的回归方程分别为

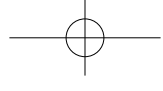
$$Y=27\,981X-118 \quad r=1.000$$

$$Y=31\,318X-3\,874 \quad r=1.000$$

$$Y=31\,012X+2\,545 \quad r=1.000$$

线性范围分别为 1.022~204.4、1.020~203.9 和 1.055~210.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5.3 精密度试验 取“2.5.2”项下定容至 5 mL 的对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录各对照品峰面积, 计算新绿原酸、绿原酸和隐绿



原酸峰面积的 RSD 分别为 0.046%、0.25% 和 0.26%。结果表明仪器的精密度良好。

2.5.4 稳定性试验 取庐山石韦(批号 501003425W)、复方石韦胶囊(批号 20161004)、复方石韦片(批号 830125)样品,按“2.3”项下方法分别制备稳定性试验用溶液,分别于 0、4、8、12、18、24 h 后按“2.1”项下条件进样测定。结果庐山石韦中新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸含量的 RSD 分别为 0.36%、0.32% 和 0.85%,复方石韦胶囊中的分别为 0.086%、0.14% 和 0.53%,复方石韦片中的分别为 0.19%、0.36% 和 0.86%。表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 取庐山石韦(批号 501003425W)、复方石韦胶囊(批号 20161004)、复方石韦片(批号 830125)样品,按“2.3”项下方法制得 6 份重复性试验用溶液,按“2.1”项下条件测定。结果庐山石韦 6 份样品中新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的含量分别为 0.128 2、1.217 和 0.171 2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 2.4%、2.0% 和 2.8%;复方石韦胶囊中上述 3 个成分的平均含量分别为 2.517、3.181 和 2.263 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.25%、0.30% 和 0.56%;复方石韦片中上述 3 个成分的平均含量分别为 1.105、1.350 和 0.942 3 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.21%、0.18% 和 0.57%。表明该方法的重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验 分别取新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 mL 各含 5.320、50.99 和 6.750 μg 的混合溶液,作为庐山石韦加样回收用储备液,同法制备复方石韦胶囊加样回收用储备液(每 1 mL 含新绿原酸 63.38 μg 、绿原酸 81.58 μg 、隐绿原酸 61.17 μg)和复方石韦片加样回收用储备液(每 1 mL 含新绿原酸 26.17 μg 、绿原酸 32.22 μg 、隐绿原酸 22.78 μg)。分别取含量已知的庐山石韦(批号 501003425W)、复方石韦胶囊(批号 20161004)、复方石韦片(批号 830125)样品各 6 份,庐山石韦每份 0.5 g,复方石韦胶囊和复方石韦片每份 0.25 g,精密称定,分别精密加入上述加样回收用储备液 10 mL 和 50% 甲醇 15 mL,按“2.3”项下方法制备加样回收用供试溶液,按“2.1”项下条件进行测定,计算 3 个绿原酸的加样回收率。结果见表 1。

2.6 相对校正因子的确定

2.6.1 相对校正因子的计算 根据《一测多评法

建立的技术指南》^[13],相对校正因子的计算公式为:

$$f_{si} = \frac{A_s/C_s}{A_i/C_i} \quad (1)$$

式中, f_{si} 为内参物 s 对待测物 i 的校正因子, A_s 为内参物的峰面积, C_s 为内参物的质量浓度; A_i 为待测物质的峰面积, C_i 为待测物质的质量浓度。

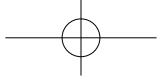
2.6.2 校正因子的重现性考察 取“2.2”项下和“2.5.2”项下定容至 5、10、25、100、200 mL 的对照品溶液,分别编号为 1、2、3、4、5 和 6 号。在岛津 LC-2010A 液相色谱仪(S-HPLC)上考察 InertSustain C_{18} 、Agilent Zorbax SB- C_{18} 和 Waters Symmetry® C_{18} 3 种色谱柱(规格均为 150 mm × 4.6 mm, 5 μm),安捷伦 1260 液相色谱仪(A-HPLC)上考察 InertSustain C_{18} 色谱柱(规格为 150 mm × 4.6 mm, 5 μm),根据公式(1)计算新绿原酸和隐绿原酸的相对校正因子,结果见表 2。由表 2 可知,在不同仪器和不同色谱柱上得到的相对校正因子并无显著差异,各次试验得到的值取平均数,可确定新绿原酸和隐绿原酸的相对校正因子分别为 1.108 和 0.995, RSD 均小于 5%。

2.7 色谱峰的定位

实验利用相对保留值对新绿原酸和隐绿原酸峰进行定位,相对保留值计算公式为 $r_{is} = t_i/t_s$,式中 t_i 为待测物 i 的保留时间, t_s 为内参物 s 的保留时间。实验考察了不同色谱柱和不同仪器的影响,结果新绿原酸和隐绿原酸相对保留值在不同仪器重现性良好(相对偏差小于 3%),在不同色谱柱之间有一定差异,结果见表 3。

2.8 QAMS 与外标法(external standard method, ESM)测定结果比较

分别取不同批次的石韦、有柄石韦、庐山石韦、复方石韦胶囊和复方石韦片样品,按“2.3”项下方法每批次平行制备 3 份供试品溶液,按“2.1”项下条件测定,用 ESM 计算绿原酸含量,用 ESM 和 QAMS 分别计算新绿原酸和隐绿原酸的含量,结果见表 4。用 t -检验分别对 2 种方法测得新绿原酸和隐绿原酸的含量进行比较,结果无显著差异。

表 1 加样回收率测试结果 ($n=6$)

Tab. 1 Results of recovery tests

样品 (sample)	成分 (component)	原含有量 (content in sample)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (measured)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
庐山石韦 (<i>Pyrrosia shearer</i>)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.056 7	0.053 2	0.106 4	93.4	93.1	1.6
		0.056 9	0.053 2	0.106 9	94.0		
		0.056 8	0.053 2	0.107 0	94.4		
		0.056 9	0.053 2	0.106 6	93.4		
		0.056 7	0.053 2	0.104 7	90.2		
		0.057 0	0.053 2	0.106 6	93.2		
	绿原酸 (chlorogenic acid)	0.539 8	0.509 9	1.027 9	95.7	94.5	1.4
		0.541 6	0.509 9	1.028 5	95.5		
		0.540 1	0.509 9	1.019 7	94.1		
		0.541 0	0.509 9	1.027 3	95.4		
		0.539 2	0.509 9	1.009 7	92.3		
		0.542 3	0.509 9	1.021 5	94.0		
	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	0.075 3	0.067 5	0.139 8	95.6	91.7	2.8
		0.075 6	0.067 5	0.137 2	91.3		
		0.075 4	0.067 5	0.136 4	90.4		
		0.075 5	0.067 5	0.137 5	91.8		
		0.075 2	0.067 5	0.134 5	87.8		
		0.075 7	0.067 5	0.138 5	93.0		
复方石韦胶囊 (Fufang Shiwei capsules)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.640 3	0.633 8	1.292 1	102.8	101.9	0.56
		0.644 4	0.633 8	1.286 1	101.2		
		0.646 4	0.633 8	1.293 1	102.0		
		0.635 8	0.633 8	1.278 5	101.4		
		0.649 9	0.633 8	1.294 7	101.7		
		0.650 4	0.633 8	1.297 5	102.1		
	绿原酸 (chlorogenic acid)	0.809 2	0.815 8	1.657 6	104.0	102.8	0.72
		0.814 3	0.815 8	1.645 5	101.9		
		0.816 8	0.815 8	1.656 0	102.9		
		0.803 5	0.815 8	1.636 8	102.2		
		0.821 3	0.815 8	1.659 8	102.8		
		0.821 9	0.815 8	1.661 8	103.0		
	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	0.574 0	0.611 7	1.198 0	102.0	101.2	0.57
		0.577 6	0.611 7	1.191 3	100.3		
		0.579 4	0.611 7	1.198 9	101.3		
		0.569 9	0.611 7	1.186 1	100.7		
		0.582 5	0.611 7	1.202 4	101.3		
		0.583 0	0.611 7	1.202 3	101.2		
复方石韦片 (Fufang Shiwei tablets)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.279 1	0.261 7	0.520 8	92.4	92.5	1.1
		0.276 4	0.261 7	0.522 6	94.1		
		0.278 4	0.261 7	0.522 0	93.1		
		0.279 9	0.261 7	0.520 4	91.9		
		0.280 6	0.261 7	0.522 3	92.4		
		0.283 2	0.261 7	0.522 0	91.2		
	绿原酸 (chlorogenic acid)	0.340 8	0.322 2	0.652 2	96.6	96.4	0.83
		0.337 5	0.322 2	0.651 1	97.3		
		0.340 0	0.322 2	0.651 0	96.5		
		0.341 7	0.322 2	0.651 2	96.1		
		0.342 7	0.322 2	0.654 0	96.6		
		0.345 8	0.322 2	0.651 7	94.9		
	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	0.239 1	0.227 8	0.466 9	100.0	100.2	1.4
		0.236 9	0.227 8	0.470 9	102.7		
		0.238 6	0.227 8	0.466 5	100.0		
		0.239 8	0.227 8	0.468 2	100.3		
		0.240 5	0.227 8	0.466 5	99.2		
		0.242 6	0.227 8	0.467 9	98.9		

表 2 相对校正因子重现性考察结果

Tab. 2 Reproducibility of relative correction factors

编号 (No.)	InertSustain C ₁₈ (S-HPLC)		Agilent Zorbax SB-C ₁₈ (S-HPLC)		Waters Symmetry® C ₁₈ (S-HPLC)		InertSustain C ₁₈ (A-HPLC)	
	$f_{s/n}$	$f_{s/c}$	$f_{s/n}$	$f_{s/c}$	$f_{s/n}$	$f_{s/c}$	$f_{s/n}$	$f_{s/c}$
1	1.119	1.009	1.099	1.004	1.100	1.006	1.089	1.017
2	1.115	0.997	1.112	0.980	1.115	0.986	1.116	0.985
3	1.101	0.993	1.099	0.978	1.103	0.985	1.099	0.975
4	1.111	0.989	1.094	0.986	1.099	1.002	1.130	0.969
5	1.090	0.985	1.100	0.991	1.100	0.995	1.163	1.005
6	1.108	1.018	1.095	0.987	1.093	0.980	1.143	1.052
平均值 (mean)	1.107	0.998	1.100	0.988	1.102	0.992	1.123	1.000
RSD/%	0.95	1.3	0.58	0.94	0.66	1.0	2.5	3.1

注 (notes): f : 相对校正因子 (relative correction factor); s: 绿原酸 (chlorogenic acid); n: 新绿原酸 (neochlorogenic acid); c: 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)

表 3 各成分相对保留值

Tab. 3 Relative retention of each compound

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	$r_{n/s}$	$r_{c/s}$
S-HPLC	InertSustain C ₁₈	0.419	1.154
	Agilent Zorbax SB-C ₁₈	0.453	1.314
	Waters Symmetry® C ₁₈	0.467	1.358
A-HPLC	InertSustain C ₁₈	0.397	1.103
RSD/%		7.3	10.0

3 讨论

3.1 流动相的选择

3 种不同来源石韦及其复方制剂由于所含成分的不同,其 HPLC 色谱特征也存在一定的差异。为了有效地分离 5 种样品中的绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸,实验在选择甲醇-0.1% 磷酸水溶液为流动相的基础上,考察了 3 种洗脱条件,分别为等度洗脱 (10:90)、梯度洗脱 (0~10 min, 11%A → 20%A;

表 4 不同来源石韦及其制剂中 3 个绿原酸类成分测定结果 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=3$)

Tab. 4 Contents of three components by ESM and QAMS

样品 (sample)	绿原酸 (chlorogenic acid)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)		隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS
A1	2.992	0.792	0.786	0.559	0.558
A2	3.537	0.250	0.248	0.254	0.254
A3	0.638	0.208	0.206	0.221	0.221
B1	1.874	0.375	0.372	0.365	0.364
B2	2.162	0.562	0.558	0.600	0.600
B3	0.593	0.127	0.126	0.149	0.149
C1	1.211	0.127	0.126	0.169	0.169
C2	1.504	0.120	0.119	0.166	0.166
C3	2.257	0.248	0.246	0.358	0.357
D1	2.175	1.482	1.470	1.499	1.497
D2	0.691	0.415	0.411	0.493	0.492
D3	3.182	2.518	2.497	2.257	2.254
E1	1.584	1.115	1.106	1.006	1.005
E2	1.375	1.084	1.075	1.006	1.005
E3	1.348	1.104	1.095	0.946	0.945

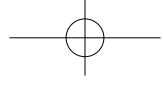
注 (notes): r : 相对保留值 (relative retention value); s, n, c: 同表 2 (the same as Tab. 2)

10~25 min, 20%A → 22%A) 和梯度洗脱 (0~25 min, 5%A → 9%A; 25~92.5 min, 9%A → 10.5%A), 结果采用前 2 种条件时, 复方石韦胶囊和复方石韦片中的 3 个绿原酸可与相邻成分有效分离, 但 3 种石韦中的未能完全分离, 当采用第 3 种条件时, 5 种样品中的 3

个成分与相邻峰之间均达到了基线分离。

3.2 提取条件的选择

实验考察了不同提取时间 (庐山石韦: 60、90 和 120 min; 复方石韦胶囊和复方石韦片: 10、20 和 30 min) 对样品中各成分提取的影响, 结果显示庐山



石韦提取 90 min, 复方石韦胶囊和复方石韦片提取 10 min 效率较高。

3.3 方法耐用性

实验考察了 3 种色谱柱 (InertSustain C₁₈、Agilent Zorbax SB-C₁₈ 和 Waters Symmetry® C₁₈, 规格均为 150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 对样品中各成分检测的影响, 结果各样品中的 3 个绿原酸在不同色谱柱均得到了有效分离, 使用 ESM 和 QAMS 测得结果之间均无显著差异。绿原酸、新绿原酸和隐绿原酸属同分异构体, 实验在 200~400 nm 范围内进行了光谱扫描, 结果三者的紫外吸收特征基本一致, 使用相对保留值法定位新绿原酸和隐绿原酸色谱峰时, 应考虑不同色谱柱间的差异性, 并结合未知峰的紫外吸收特征进行确认。

3.4 小结

从含量测定结果看, 新绿原酸和隐绿原酸在 3 种来源石韦中的含量远低于绿原酸, 但在复方石韦胶囊和复方石韦片中却仅比绿原酸略低, 这可能与制剂生产工艺造成了物质的转化有关^[14-15]。为保证石韦复方制剂质量的稳定性, 同时为了节约检验成本, 在制剂生产过程中可应用 QAMS 对原药材、中间体及成品中的 3 个绿原酸成分进行控制。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 90
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 90
- [2] 李开通, 张艺轩, 曹阳, 等. HPLC 法测定不同产地和品种石韦中绿原酸和芒果苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2075
LI KT, ZHANG YX, CAO Y, et al. Determination of chlorogenic acid and mangiferin in Folium Pyrrosiae from different habitats and species by HPLC[J]. Chin J Chin Mater Med, 2010, 35(16): 2075
- [3] 贾富娟, 崔露露, 张颖颖, 等. HPLC 测定不同品种石韦中绿原酸、芒果苷、咖啡酸、芦丁含量[J]. 食品与药品, 2017, 19(3): 187
JIA FJ, CUI LL, ZHANG YY, et al. Determination of chlorogenic acid, mangiferin, caffeic acid and rutin from different breeds of Pyrrosiae Folium by HPLC[J]. Food Drug, 2017, 19(3): 187
- [4] 吴怀恩, 劳深, 王雯慧, 等. HPLC 测定石韦配方颗粒中绿原酸、咖啡酸及芒果苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16): 54
WU HE, LAO S, WANG WH, et al. Determination of chlorogenic acid, caffeic acid and mangiferin in Shiwei Dispensing granules by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2010, 16(16): 54
- [5] 李玉华, 彭敬东, 郑敏, 等. HPLC 法同时测定石韦药材中绿原酸、芒果苷和木犀草素的质量浓度[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2011, 36(2): 104
LI YH, PENG JD, ZHENG M, et al. Simultaneous determination of chlorogenic acid, mangiferin and luteolin in Pyrrosia lingua leaves [J]. J Southwest Chin Norm Univ (Nat Sci Ed), 2011, 36(2): 104

- [6] REN B, SUN HY, WANG H. Simultaneous determination of seven caffeoylquinic acids and three flavonoids in *Pyrrosia petiolosa* (Christ) Ching by RP-UFLC-DAD [J]. J Chin Pharm Sci, 2014, 23(9): 642
- [7] 刘丽欣, 王岳, 张敬晶. HPLC 法测定复方石韦片中绿原酸的含量[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(26): 4130
LIU LX, WANG Y, ZHANG JJ. Determination of chlorogenic acid in Fufang Shiwei tablets by HPLC [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2008, 17(26): 4130
- [8] 刘晓星, 索志荣, 郑建斌, 等. RP-HPLC 法同时测定复方石韦胶囊中 5 种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(12): 1547
LIU XX, SUO ZR, ZHENG JB, et al. RP-HPLC determination of 5 components in Fufang Shiwei capsules [J]. Chin J Pharm Anal, 2005, 25(12): 1547
- [9] 那袭雪, 张文涛, 谈远锋, 等. 绿原酸及其异构体药理作用及不良反应研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(3): 140
NA XX, ZHANG WT, TAN YF, et al. Research progress on the pharmacological effects and adverse reactions of chlorogenic acid and its isomers [J]. J Liaoning Univ TCM, 2018, 20(3): 140
- [10] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(5): 390
KUANG YH, ZHU JJ, WANG ZM, et al. Simultaneous quantitative analysis of five alkaloids in Rhizoma of *Coptis chinensis* by multi-components assay by single-marker [J]. Chin J Pharm, 2009, 44(5): 390
- [11] 李树翠, 冯俭, 张秋燕, 等. 采用“一测多评”法测定大黄及其制剂中大黄蒽醌类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 66
LI SC, FENG J, ZHANG QY, et al. Determination of main anthraquinones in *Rheum officinale* and formulation by QAMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(10): 66
- [12] 袁会琼, 刘江, 柳波, 等. “一测多评法”测定不同种重楼植物中的 4 种重楼皂苷含量[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(16): 1612
YUAN HQ, LIU J, LIU B, et al. Determination of four polyphyllins in *Paris* by quantitative analysis of multi-components with single-marker [J]. Chin Hosp Pharm J, 2017, 37(16): 1612
- [13] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657
WANG ZM, QIAN ZZ, ZHANG QW, et al. Technical guidelines for the establishment of QAMS [J]. Chin J Chin Mater Med, 2011, 36(6): 657
- [14] 张倩, 张加余, 董鲁艳, 等. 一测多评法测定清开灵注射液中的绿原酸类成分[J]. 中成药, 2014, 36(4): 768
ZHANG Q, ZHANG JY, DONG LY, et al. Simultaneous determination of chlorogenic acids in Qingkailing injection by QAMS [J]. Chin Tradit Pat Med, 2014, 36(4): 768
- [15] MA YC, WANG XQ, HOU FF, et al. Rapid resolution liquid chromatography (RRLC) analysis and studies on the stability of Shuanghuanglian preparations [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 54(2): 265

(本文于 2018 年 12 月 21 日收到)