

基于一测多评法的长城感冒片质量控制

骆航, 李华生

(永州职业技术学院药学系, 永州 425100)

摘要 **目的:** 建立一测多评法同时测定长城感冒片中连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的含量, 并验证此方法用于长城感冒片中 8 个指标成分测定的可行性。**方法:** 该药物 70% 甲醇提取液的分析采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.2% 磷酸溶液, 梯度洗脱; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 275 nm (连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷)、350 nm (木犀草苷、木犀草素)、315 nm (紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素); 柱温 30 °C; 以连翘苷为内参物, 建立其他 7 个待测成分的相对校正因子, 并用 2 台不同品牌的色谱仪和 3 种不同的色谱柱对建立的相对校正因子的耐用性进行考察, 用建立的校正因子进行计算, 完成一测多评法含量测定。同时采用常规的外标法对这 8 个成分进行含量测定。**结果:** 连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇和异欧前胡素质量浓度分别在 3.780~94.50、14.67~366.8、4.860~121.5、1.990~49.75、1.660~41.50、4.070~101.8、1.090~27.25、9.470~236.8 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好; 以连翘苷为内参物, 测得的相对校正因子值分别为 1.052 3、1.384 9、1.381 9、1.840 1、0.904 3、2.322 9 和 1.216 9, 且建立的一测多评法与外标法测定结果无显著性差异, 一测多评法可以替代外标法。**结论:** 利用相对校正因子对长城感冒片中 8 个成分的含量测定是可行的, 一测多评法可以用于长城感冒片的质量评价研究。**关键词:** 长城感冒片; 连翘酯苷; 连翘苷; 木犀草苷; 木犀草素; 紫花前胡苷; 羌活醇; 异欧前胡素; 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) 03-0536-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2020.03.19

Quality control of Changcheng Ganmao tablets based on QAMS

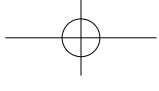
LUO Hang, LI Hua-sheng

(Department of Pharmacy, Yongzhou Vocational and Technical College, Yongzhou 425100, China)

Abstract **Objective:** To establish a simultaneous determination method of forsythoside B, forsythoside A, forsythidin, luteolin-7-glucoside, luteolin, nodakenin, notopterol and isoimperatorin in Changcheng Ganmao tablets with strategy of multi-components by single-marker (QAMS) and validate its feasibility. **Methods:** The analysis of 70% methanol extract of this drug was performed on a thermostatic Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 30 °C. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ in a gradient elution manner. The detection wavelength were set at 275 nm (forsythoside B, forsythoside A and

* 湖南省教育厅科学研究项目 (17C1603)

第一作者 Tel: 18974649050; E-mail: luohang9050@163.com



forsythin), 350 nm (luteolin-7-glucoside and luteolin) and 315 nm (nodakenin, notopterol and isoimperatorin). The relative correction factors (RCFs) of other components were calculated with forsythoside B as the internal reference. Then durability of the RCFs was investigated with 2 different HPLC instruments and 3 columns. Meanwhile, contents of 8 components were determined by conventional external standard method. **Results:** The standard curves of forsythoside B, forsythoside A, forsythoside, luteolin-7-glucoside, luteolin, nodakenin, notopterol and isoimperatorin showed good linearity in 3.78–94.50, 14.67–366.75, 4.86–121.50, 1.99–49.75, 1.66–41.50, 4.07–101.75, 1.09–27.25, 9.47–236.75 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. With forsythoside B as the internal reference standard, the relative correction factors were 1.052 3, 1.384 9, 1.381 9, 1.840 1, 0.904 3, 2.322 9 and 1.216 9, respectively. The results determined by two methods were compared without significant differences. So QAMS can replace external standard method. **Conclusion:** The use of relative correction factor is feasible to determine the contents of eight components in Changcheng Ganmao tablets. The QAMS method can be used for the quality evaluation of Changcheng Ganmao tablets.

Keywords: Changcheng Ganmao tablets; forsythoside; forsythoside; luteolin-7-glucoside; luteolin; nodakenin; notopterol; isoimperatorin; QAMS

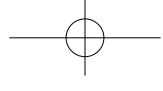
长城感冒片收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册,具有清热散风、解表退烧的临床功效,临床上主要用于流行感冒、发冷发烧、四肢酸懒、头痛咳嗽、咽喉肿痛、瘟毒发颐、两腮赤肿等症状的治疗^[1]。该制剂由连翘、金银花、桔梗、羌活、牛蒡子、芦根、黄芩、淡豆豉、羚羊角粉、甘草膏、薄荷脑、荆芥穗油 12 味中药材加工而成,在现行的长城感冒片质量标准中仅对其性状、氯原酸的鉴别及片剂的通则项进行了控制,未对长城感冒片中任何成分进行含量测定,也仅检索到对该制剂单成分定量测定的文献报道,尚无通过多指标成分含量测定对长城感冒片进行质量控制的方法^[2-3]。中成药复方制剂所含成分多样,其临床疗效往往都是来自多种成分共同作用的结果,单一成分难以全面评价长城感冒片的产品质量,无法全面地控制其产品质量的稳定性和临床疗效的一致性,多指标控制模式已成为中成药复方制剂质量控制的发展趋势。但传统的多指标评价模式存在因所测物质不稳定,部分对照品不易获得或者价格昂贵,以及检验成本过高等不足,一测多评法利用中成药复方制剂中所含成分间存在的内在函数关系,通过测定 1 个质量稳定,价廉易得的成分,实现对中成药复方制剂中多个指标性成分的同时测定,大大地降低了检验成本,逐渐成为中药多指标成分含量测定的首选方法。本实验采用一测多评的方法,以连翘苷为内标物,建立其与连翘酯苷 B、连翘

酯苷 A、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的校正因子,计算其多个指标成分的含量,并与外标法进行对比,可以较全面地控制长城感冒片的产品质量,实现长城感冒片的多指标质量评价模式。

1 仪器与试药

Agilent 1260 型液相色谱仪(安捷伦公司), Dionex Ulti Mate 3000 型液相色谱仪(Thermo-Fisher 公司);色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Agilent Extend-C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); AB135-S 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);SB25-12DTD 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

对照品连翘酯苷 B(批号 111811-201603, 含量 96.6%)、连翘酯苷 A(批号 111810-201707, 含量 97.2%)、连翘苷(批号 110821-201816, 含量 95.1%)、木犀草苷(批号 111720-201609, 含量 94.9%)、木犀草素(批号 111520-201605, 含量 99.6%)、紫花前胡苷(批号 111821-201604, 含量 99.6%)、羌活醇(批号 111820-201705, 含量 99.9%)、异欧前胡素(批号 110827-201812, 含量 99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;长城感冒片购自天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂(每片重 0.265 g, 批号 D115012、D115023、D115027);乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。



2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相 乙腈(A)-0.2% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱 (0~13.0 min, 19.0%A; 13.0~25.0 min, 19.0%A → 41.0%A; 25.0~38.0 min, 41.0%A → 56.0%A; 38.0~55.0 min, 56.0%A → 78.0%A; 55.0~65.0 min, 78.0%A → 19.0%A); 检测波长分别为 275 nm (0~25.0 min, 连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷)^{[4]170, [5-7]}、350 nm (25.0~38.0 min, 木犀草苷、木犀草素)^{[4]182, [8-9]}和 315 nm (38.0~65.0 min, 紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素)^{[4]221, [10]}; 体积流量 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品储备液 分别精密称取连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的对照品适量, 分别用 70% 甲醇制成单个成分的对照品储备液 (经折纯计算各成分质量浓度分别为连翘酯苷 B 0.756 mg · mL⁻¹、连翘酯苷 A 2.934 mg · mL⁻¹、连翘苷 0.972 mg · mL⁻¹、木犀草苷 0.398 mg · mL⁻¹、木犀草素 0.332 mg · mL⁻¹、紫花前胡苷 0.814 mg · mL⁻¹、羌活醇 0.218 mg · mL⁻¹、异欧前胡素 1.894 mg · mL⁻¹), 即得。

2.2.2 混合对照品溶液 精密吸取“2.2.1”项下制备的单个成分的对照品储备液各 2.5 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 用 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 线性关系考察混合对照品溶液 精密吸取“2.2.1”项下制备的单个成分的对照品储备液各 2.5 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度摇匀, 制成线性关系考察混合对照品溶液 1。再精密吸取线性关系考察混合对照品溶液 1 各适量, 依次用 70% 甲醇稀释 2、5、10、20、25 倍, 制成线性关系考察混合对照品溶液 2、3、4、5 和 6。

2.2.4 长城感冒片供试品溶液 取长城感冒片适量, 除去薄膜衣, 研细, 取约 0.6 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 称量, 超声 (功率 600 W, 频率 40 kHz) 提取 30 min, 放冷至室温, 用 70% 甲醇补足损失的量, 摇匀, 过滤, 即得。

2.2.5 阴性样品溶液 按照长城感冒片的处方和制备工艺, 分别制备不含连翘的阴性样品、不含金银花和桔梗的阴性样品、不含羌活的阴性样品, 再按照“2.2.4”项下所述的长城感冒片供试品溶液制备方法

制备 3 种阴性样品溶液。

2.3 方法学考察

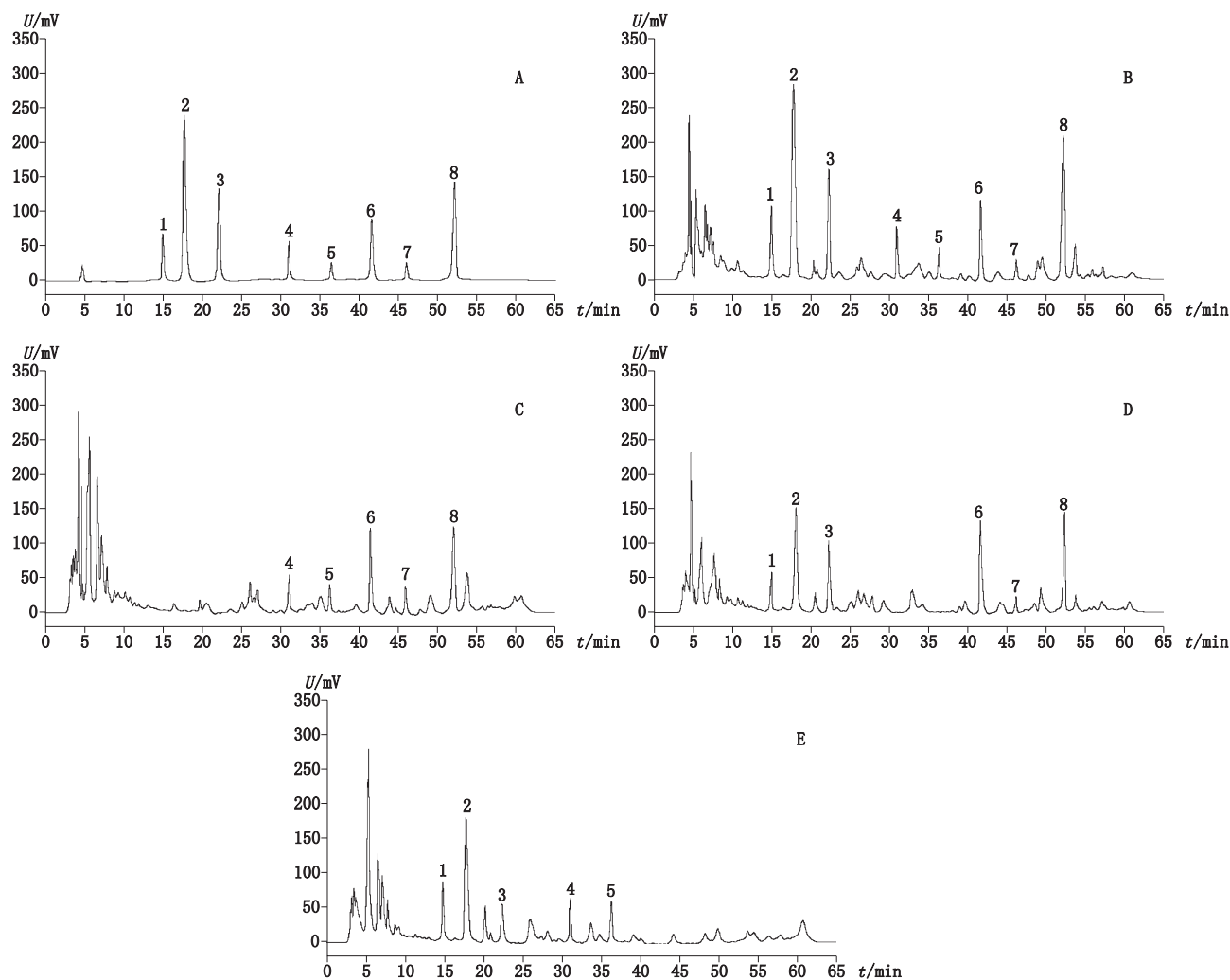
2.3.1 专属性试验 分别精密吸取“2.2.2”项下制备的混合对照品溶液、“2.2.4”项下制备的长城感冒片供试品溶液及“2.2.5”项下制备的连翘阴性样品溶液、金银花桔梗阴性样品溶液和羌活阴性样品溶液各 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下, 依法进样测定, 结果见图 1。专属性试验结果显示待测成分连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素可与相邻成分达到基线分离, 分离度均大于 1.5, 理论塔板数按照所测各成分色谱峰计均不低于 4 000, 阴性样品无干扰。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.3”项下制备的线性关系考察混合对照品溶液 6、5、4、3、2 和 1, 依法进样测定, 记录连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素 8 个成分色谱峰的峰面积, 以所测各成分质量浓度 X 为横坐标, 所测成分峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程, 结果见表 1。

2.3.3 精密度试验 取长城感冒片 (批号 D115012) 的同一供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 计算连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的峰面积的 RSD 分别为 0.64%、0.51%、1.6%、0.73%、0.80%、0.67%、1.0% 和 0.55%。

2.3.4 重复性试验 取同一批次长城感冒片 (批号 D115012) 样品, 按照“2.2.4”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, 记录连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的峰面积, 计算含量, 结果所测各成分平均含量分别为 1.643、6.371、2.468、0.878、0.681、1.976、0.494、4.415 mg · g⁻¹, RSD 分别为 1.4%、0.27%、1.3%、1.6%、0.69%、1.5%、0.87% 和 1.4%。

2.3.5 稳定性试验 取长城感冒片 (批号 D115012) 的同一供试品溶液, 分别于室温下 0、2、4、8、12、16 h 进样检测, 记录连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的峰面积, 结果长城感冒片供试品溶液室温下 16 h 内稳定, 所测上述各成分峰面积的 RSD 分别为 0.59%、1.5%、0.63%、0.70%、1.8%、0.69%、1.1% 和 0.61%。



1. 连翘酯苷 B (forsythoside B) 2. 连翘酯苷 A (forsythoside A) 3. 连翘苷 (forsythiin) 4. 木犀草苷 (luteolin-7-glucoside)
5. 木犀草素 (luteolin) 6. 紫花前胡苷 (nodakenin) 7. 羌活醇 (notopterol) 8. 异欧前胡素 (isoimperatorin)

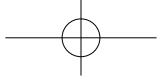
图 1 混合对照品 (A)、长城感冒片 (B)、连翘阴性样品 (C)、金银花桔梗阴性样品 (D) 和羌活阴性样品 (E) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Changcheng Ganmao tablets (B), negative sample without Forsythiae Fructus (C), negative sample without Lonicerae Japonicae Flos and Playcodonis Radix (D) and negative sample without Notopterygii Rhizoma et Radix (E)

表 1 线性关系试验结果

Tab. 1 The results of the linear relationship test

成分 (component)	线性方程 (regression equation)	线性范围 (linear range) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	r
连翘酯苷 B (forsythoside B)	$Y=1.039 \times 10^6 X-904.6$	3.780~94.50	0.999 6
连翘酯苷 A (forsythoside A)	$Y=7.990 \times 10^5 X+886.8$	14.67~366.8	0.999 4
连翘苷 (forsythiin)	$Y=1.094 \times 10^5 X+1\ 082$	4.860~121.5	0.999 7
木犀草苷 (luteolin-7-glucoside)	$Y=7.961 \times 10^5 X-270.9$	1.990~49.75	0.999 5
木犀草素 (luteolin)	$Y=5.968 \times 10^5 X+427.8$	1.660~41.50	0.999 3
紫花前胡苷 (nodakenin)	$Y=1.207 \times 10^6 X+997.0$	4.070~101.8	0.999 7
羌活醇 (notopterol)	$Y=4.694 \times 10^5 X+343.8$	1.090~27.25	0.999 5
异欧前胡素 (isoimperatorin)	$Y=9.098 \times 10^5 X-1\ 006$	9.470~236.8	0.999 3



2.3.6 加样回收率试验 取同一批次已知含量的长城感冒片(批号 D115012)适量,除去薄膜衣,研细,取 9 份,每份约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入另行配制的混合对照品溶液(连翘酯苷 B $0.492\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、连翘酯苷 A $1.914\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、连翘苷 $0.738\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、木犀草苷 $0.262\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、木犀草素 $0.198\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、紫花前胡苷 $0.592\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、羌活醇 $0.146\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异欧前胡素 $1.288\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 0.5 、 1.0 、 1.5 mL 各 3 份,按照“2.2.4”项下方法制备供试溶液,依次进样测定,结果所测成分连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的平均加样回收率分别为 98.4%、100.0%、99.1%、98.0%、98.1%、98.7%、97.4%、99.3%,

RSD 分别为 1.2%、0.90%、1.3%、1.3%、1.3%、0.75%、1.5%、0.86%。

2.4 相对校正因子的建立

2.4.1 相对校正因子的计算 精密吸取“2.2.3”项下制备的 6 个系列浓度的线性关系考察混合对照品溶液依法进样检测,记录各成分连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素色谱峰峰面积,以连翘苷为内标物,按照相对校正因子计算公式 $f_{\text{si}}=f_{\text{s}}f_{\text{i}}=(A_{\text{s}}C_{\text{i}})/(A_{\text{i}}C_{\text{s}})$ (式中 A_{s} 为内标物峰面积, C_{s} 为内标物浓度, A_{i} 为待测成分的峰面积, C_{i} 为待测成分的浓度)^[11]分别计算连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的相对校正因子,结果见表 2。

表 2 以连翘苷为内标的相对校正因子

Tab. 2 RCFs with forsythoside as internal standard

线性考察混对溶液 (linear mixed reference solution)	相对校正因子 (relative correction factor)						
	连翘酯苷 B (forsythoside B)	连翘酯苷 A (forsythoside A)	木犀草苷 (luteolin-7- glucoside)	木犀草素 (luteolin)	紫花前胡苷 (nodakenin)	羌活醇 (notopterol)	异欧前胡素 (isoimperatorin)
6	1.029 4	1.410 6	1.388 4	1.845 4	0.898 4	2.268 0	1.248 0
5	1.053 3	1.408 5	1.391 6	1.828 5	0.897 5	2.315 8	1.225 1
4	1.061 5	1.389 9	1.379 3	1.839 2	0.905 5	2.335 4	1.222 2
3	1.064 7	1.379 9	1.393 8	1.889 4	0.909 1	2.369 7	1.218 7
2	1.050 9	1.345 2	1.360 4	1.797 4	0.908 9	2.314 6	1.179 0
1	1.053 9	1.375 5	1.378 0	1.841 1	0.906 2	2.333 8	1.208 6
平均值 (average)	1.052 3	1.384 9	1.381 9	1.840 1	0.904 3	2.322 9	1.216 9
RSD/%	1.2	1.8	0.89	1.6	0.56	1.4	1.9

2.4.2 不同仪器和不同色谱柱对相对校正因子的影响 本试验考察了不同品牌高效液相色谱仪(Agilent 1260 型高效液相色谱仪、Dionex Ulti Mate 3000 型高效液相色谱仪)和不同品牌色谱柱(Kromasil C₁₈ 色谱柱、Agilent Extend-C₁₈ 色谱柱、Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱规格均为 250 mm, 4.6 mm, 5 μm)对待测成分相对校正因子的影响,结果见表 3。

2.4.3 不同流速对相对校正因子的影响 本试验考察了不同流速(0.9、1.0、1.1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)对待测成分相对校正因子的影响,结果见表 4。

2.5 待测成分色谱峰的定位

实现多指标成分一测多评的前提是对待测定成分色谱峰的准确定位。精密吸取“2.2.4”项下制备的长城感冒片供试品溶液,分别在 Agilent 1260 型高效液相色谱仪、Dionex Ulti Mate 3000 型高效液相色谱仪,以及 Kromasil C₁₈ 色谱柱、Agilent Extend-C₁₈ 色谱柱、Hypersil ODS 色谱柱(规格均为 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)条件下,依法进样测定,以连翘苷为内标,考察连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的相对保留时间值,对所测各成分色谱峰进行定位,结果见表 5。

表 3 不同色谱仪和色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 3 RCFs tested by different instruments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (chromatographic column)	相对校正因子 (relative correction factor)						
		连翘酯苷 B (forsythoside B)	连翘酯苷 A (forsythoside A)	木犀草苷 (luteolin-7-glucoside)	木犀草素 (luteolin)	紫花前胡苷 (nodakenin)	羌活醇 (notopterol)	异欧前胡素 (isoimperatorin)
Agilent 1260	Kromasil C ₁₈	1.053 7	1.381 1	1.384 5	1.837 9	0.907 5	2.319 8	1.213 4
	Agilent Extend-C ₁₈	1.048 2	1.403 0	1.385 7	1.821 0	0.896 4	2.306 3	1.239 1
	Hypersil ODS	1.029 6	1.394 5	1.382 4	1.828 8	0.883 6	2.289 4	1.246 8
Dionex Ulti Mate 3000	Kromasil C ₁₈	1.050 7	1.407 7	1.390 2	1.821 7	0.881 6	2.304 7	1.212 9
	Agilent Extend-C ₁₈	1.025 6	1.395 9	1.376 3	1.830 5	0.897 2	2.299 6	1.238 5
	Hypersil ODS	1.068 8	1.418 2	1.385 8	1.841 3	0.895 0	2.308 3	1.224 4
平均值 (average)		1.046 1	1.400 1	1.384 1	1.830 2	0.893 5	2.304 7	1.229 2
RSD/%		1.5	0.91	0.33	0.45	1.1	0.44	1.2

表 4 不同流速对相对校正因子的影响

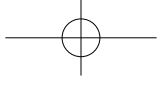
Tab. 4 RCFs tested by different flow rate

流速 (flow rate) / (mL · min ⁻¹)	相对校正因子 (relative correction factor)						
	连翘酯苷 B (forsythoside B)	连翘酯苷 A (forsythoside A)	木犀草苷 (luteolin-7-glucoside)	木犀草素 (luteolin)	紫花前胡苷 (nodakenin)	羌活醇 (notopterol)	异欧前胡素 (isoimperatorin)
0.9	1.070 5	1.393 4	1.385 1	1.850 2	0.907 3	2.341 5	1.229 4
1.0	1.056 1	1.379 5	1.382 4	1.839 1	0.906 4	2.325 3	1.210 9
1.1	1.049 2	1.371 6	1.378 7	1.835 4	0.899 3	2.314 7	1.204 3
平均值 (average)	1.058 6	1.381 5	1.382 1	1.841 6	0.904 3	2.327 2	1.214 9
RSD/%	1.0	0.80	0.23	0.42	0.48	0.58	1.1

表 5 不同仪器和色谱柱测得的相对保留时间

Tab. 5 Relative retention time tested by different instruments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (chromatographic column)	相对保留时间 (relative retention time)						
		连翘酯苷 B (forsythoside B)	连翘酯苷 A (forsythoside A)	木犀草苷 (luteolin-7-glucoside)	木犀草素 (luteolin)	紫花前胡苷 (nodakenin)	羌活醇 (notopterol)	异欧前胡素 (isoimperatorin)
Agilent 1260	Kromasil C ₁₈	0.674 3	0.802 1	1.387 1	1.626 9	1.865 1	2.064 8	2.330 9
	Agilent Extend-C ₁₈	0.672 9	0.800 5	1.381 4	1.624 3	1.843 7	2.059 8	2.324 6
	Hypersil ODS	0.679 4	0.803 2	1.389 9	1.627 5	1.879 4	2.070 1	2.338 2
Dionex Ulti Mate 3000	Kromasil C ₁₈	0.678 2	0.804 6	1.393 5	1.627 2	1.859 7	2.068 3	2.336 1
	Agilent Extend-C ₁₈	0.669 5	0.798 2	1.371 6	1.619 4	1.840 3	2.051 3	2.324 3
	Hypersil ODS	0.682 1	0.811 5	1.407 4	1.631 6	1.889 1	2.079 1	2.341 7
平均值 (average)		0.676 1	0.803 3	1.388 5	1.626 2	1.862 9	2.065 6	2.332 6
RSD/%		0.69	0.57	0.87	0.25	1.0	0.46	0.32



2.6 一测多评法与外标法测定结果的比较

取3个批的长城感冒片样品适量,按“2.2.4”项下方法,每个批次平行制备3份供试品溶液,记录所测各成分连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的峰面积,分别采用外标法和一测多评法计算连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素

的含量,将一测多评法(QAMS)计算值与外标法(ESM)实测值采用SPSS 17.0软件进行 t 检验分析,结果两组数据间连翘酯苷B、连翘酯苷A、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素 P 值分别为0.961、0.989、0.937、0.964、0.981、0.924和0.942,均大于0.05,表明一测多评法与外标法所测定结果无明显差异,结果见表6。

表6 含量测定结果($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=3$)

Tab. 6 Results of content determination

批号 (batch number)	连翘苷 (forsythin) ESM	连翘酯苷B (forsythoside B)		连翘酯苷A (forsythoside A)		木犀草苷 (luteolin-7- glucoside)		木犀草素 (luteolin)		紫花前胡苷 (nodakenin)		羌活醇 (notopterol)		异欧前胡素 (isoimperatorin)	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
D115012	2.472	1.651	1.679	6.364	6.393	0.879	0.866	0.682	0.693	1.985	2.002	0.496	0.507	4.411	4.458
D115023	2.706	1.810	1.798	6.678	6.651	0.750	0.759	0.575	0.582	2.080	2.061	0.423	0.411	4.620	4.601
D115027	2.229	1.411	1.420	5.729	5.744	0.918	0.905	0.783	0.777	1.788	1.799	0.569	0.552	3.972	4.005
P	-	0.961		0.989		0.937		0.964		0.981		0.924		0.942	

4 讨论

4.1 流动相的选择 中成药复方制剂所含化学成分较为复杂,且待测成分的极性也存在较大差异,流动相的选择在中成药复方制剂多组分控制研究中尤为重要。作者首先考察了甲醇-水流动相体系、乙腈-水流动相体系^[4,12],结果以甲醇-水为流动相时,部分峰分离效果不好,且分析时间过长,乙腈-水流动相体系优于甲醇-水流动相体系,但存在个别色谱峰拖尾现象;在此试验结果的基础上,作者又分别考察了乙腈-0.2%磷酸溶液流动相体系^[4-5,13-14]、乙腈-0.2%醋酸溶液流动相体系^[4,10,15],同时对流动相的比例不断摸索,最终确定以乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相,按照“2.1”项色谱条件项下的流动相比对长城感冒片中连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素进行同时测定。

4.2 供试品溶液提取方式选择 作者在实验过程中首先考察了不同提取溶剂(50%甲醇^[8,16]、70%甲醇^[5,15]、甲醇^[4,10,12-13])对所测定成分连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素提取率的影响,结果以

70%甲醇为提取溶剂时,所测各成分综合提取率最佳;在此试验结果的基础上,作者又考察了超声提取和加热回流提取2种不同提取方式对上述所测定成分提取率的影响,结果超声提取结果与加热回流提取无明显差异,考虑到在试验操作过程中的稳定性,选取超声提取作为长城感冒片供试品溶液的制备方式,同时对超声时间进行考察,最终确定长城感冒片供试品溶液的最佳制备方法为70%甲醇超声提取30 min。

本文采用一测多评法建立了同时测定长城感冒片中连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素含量的方法,所建立的方法简便,通过精密度试验、重复性试验、稳定性试验和加样回收率试验,验证长城感冒片多成分质量控制模式的可行性。同时利用中成药复方制剂所含成分间存在的函数关系建立了连翘苷与连翘酯苷B、连翘酯苷A、木犀草苷、木犀草素、紫花前胡苷、羌活醇、异欧前胡素的相对校正因子,通过耐用性考察和对所测定色谱峰的定位,验证所建立的一测多评方法的可行性,为全面评价长城感冒片的产品质量提供依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第二十册[S]. 1998: 62
Drug Standards Issued by Ministry of Health, the People's Republic of China. Traditional Chinese Medicine Preparations. Vol 20[S]. 1998: 62
- [2] 周爽, 张永旺, 赵琳娜. 长城感冒片的质量标准研究[J]. 海峡药学, 2014, 26(11): 76
ZHOU S, ZHANG YW, ZHAO LN. Studies on quality standard of Changcheng Ganmao tablets[J]. Strait Pharm J, 2014, 26(11): 76
- [3] 赵继霄, 杨瑾, 王乃婕. 高效液相色谱法测定长城感冒片中甘草酸的含量[J]. 中华医学写作杂志, 2004, 11(17): 1451
ZHAO JX, YANG J, WANG NJ. High efficiency liquid chromatography determination glycyrrhizin content in the Great Wall cold piece[J]. Chin J Med Writing, 2004, 11(17): 1451
- [4] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 170, 182, 221
ChP 2015. Vol I[S]. 2015: 170, 182, 221
- [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
FU YF, LI Q, BI KS. Determination of seven components in *Forsythia suspensa* by RP-HPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2013, 44(8): 1043
- [6] 刘章友, 李杨, 周永峰, 等. 基于 UPLC 最佳色谱参数的连翘中 7 个活性成分一测多评分析方法的建立及应用[J]. 大理大学学报, 2018, 3(4): 24
LIU ZY, LI Y, ZHOU YF, et al. A new QAMS analytical method for rapid determination of seven bioactive components in *Forsythia suspensa* based on UPLC[J]. J Dali Univ, 2018, 3(4): 24
- [7] 韦永浩, 周安, 韩荣春, 等. 不同炮制方法对连翘中连翘苷及连翘酯苷 A 含量的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34(3): 446
WEI YH, ZHOU A, HAN RC, et al. Analysis of forsythidin and forsythoside A contents in differently processed forsythiae fructus[J]. J Changchun Univ Chin Med, 2018, 34(3): 446
- [8] 王春秋, 李雯霞. RP-HPLC 法同时测定金银花中 10 种化学成分[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1973
WANG CQ, LI WX. Simultaneous determination of ten chemical constituents in *Lonicera japonica* Thunb. by RP-HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med, 2015, 37(9): 1973
- [9] 程敏, 梁芷韵, 张文莉, 等. 金银花提取物的质量评价研究[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(3): 511
CHEN M, LIANG ZY, ZHANG WL, et al. Study on quality evaluation of *Lonicerae japonicae* Thunb. extracts[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2018, 35(3): 511
- [10] 唐国琳, 黄凤, 高天元, 等. HPLC 同时测定宽叶羌活药材中 5 种成分含量[J]. 中药与临床, 2018, 9(6): 14
TANG GL, HUANG F, GAO TY, et al. Simultaneous determination of five components in *Notopterygium franchetii* H. de Boiss. by HPLC[J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2018, 9(6): 14
- [11] 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. The technical guidance of quantitative analysis of multi-components by single-marker[J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36(6): 657
- [12] 鱼江, 封家福, 曾邦国. HPLC 测定羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量的效果分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(35): 4769
YU J, FENG JF, ZENG BG. Effectiveness analysis of determining the content of notopterol and isoimperatorin in *Notopterygium*[J]. Chongqing Med, 2014, 43(35): 4769
- [13] 周秀娟, 储晓琴, 桂双英, 等. 高效液相色谱法测定桔梗中木犀草素与芹菜素的含量[J]. 安徽中医学院学报, 2013, 32(2): 73
ZHOU XJ, CHU XQ, GUI SY, et al. Content determination of luteolin and apigenin in *Platycodon grandiflorus* by high-performance liquid chromatography[J]. J Anhui TCM Coll, 2013, 32(2): 73
- [14] 田刚, 李超, 吴菲, 等. 基于一测多评法对小儿豉翘清热颗粒中 9 个成分的质量控制[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(11): 1922
TIAN G, LI C, WU F, et al. Quality control of 9 components in Xiao'er Chiqiao Qingre granules by multi-components with a single-marker (QAMS)[J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38(11): 1922
- [15] 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
YUAN JF, QIU ZJ, LIU JL, et al. Determination of total lignans, forsythiaside A, forsythiaside B and phillyrin in *Forsythia suspensa* leaves from Henan and Shanxi[J]. Nat Prod Res Dev, 2015, 27(5): 845
- [16] 张玉姗, 刘谢英, 姚新成, 等. 高效液相色谱法同时测定茵栀黄颗粒中 14 个化学成分[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(7): 1229
ZHANG YS, LIU XY, YAO XC, et al. Simultaneous determination of fourteen constituents in Yinzhihuang granules by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2019, 39(7): 1229

(本文于 2019 年 5 月 13 日收到)