

HPLC法同时测定痰热清胶囊中7种成分的含量^Δ

张振华^{1*}, 钟萃萃², 徐英^{1,3#}(1.上海凯宝药业股份有限公司, 上海 201401; 2.上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 3.上海中药标准化研究中心, 上海 201203)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4256-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.21

摘要 目的:建立同时测定痰热清胶囊中7种成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Ultimate XB C₁₈,流动相为乙腈-0.2%甲酸溶液(梯度洗脱),流速为0.8 mL/min,检测波长为325 nm,柱温为35 ℃,进样量为10 μL。结果:绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C和黄芩苷检测进样量线性范围分别为0.025~0.5 μg($r=0.999\ 6$)、0.025~0.5 μg($r=0.999\ 7$)、0.050~1.0 μg($r=0.999\ 9$)、0.025~0.5 μg($r=0.999\ 7$)、0.025~0.5 μg($r=0.999\ 6$)、0.025~0.5 μg($r=0.999\ 6$)和0.750~1.5 μg($r=0.999\ 9$);定量限均≤1.5 ng,检测限均为0.5 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率为95.28%~106.30%(RSD为0.97%~2.14%, $n=9$)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于痰热清胶囊中7种成分含量的同时测定。

关键词 痰热清胶囊;绿原酸;异连翘酯苷A;连翘酯苷A;异绿原酸;黄芩苷;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of 7 Components in Tanreqing Capsules by HPLC

ZHANG Zhenhua¹, ZHONG Pingping², XU Ying^{1,3} (1.Shanghai Kaibao Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China; 2.College of TCM, Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China; 3.Shanghai Research Center for TCM Standardization, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of 7 components in Tanreqing capsules. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Ultimate XB C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% formic acid (gradient elution) at a flow rate of 0.8 mL/min. The detection wavelength was set at 325 nm, and column temperature was 35 ℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of chlorogenic acid, isoforsythiaside A, forsythiaside A, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C and baicalin were 0.025-0.5 μg($r=0.999\ 6$), 0.025-0.5 μg ($r=0.999\ 7$), 0.050-1.0 μg ($r=0.999\ 9$), 0.025-0.5 μg($r=0.999\ 7$), 0.025-0.5 μg ($r=0.999\ 6$), 0.025-0.5 μg ($r=0.999\ 6$), 0.750-1.5 μg($r=0.999\ 9$), respectively. The limit of quantitation was no more than 1.5 ng, and the limit of detection was 0.5 ng. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0%. The recoveries were 95.28%-106.30% (RSD ranged 0.97%-2.14%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, precise, stable and reproducible, and can be used for simultaneous determination of 7 components in Tanreqing capsules.

KEYWORDS Tanreqing capsules; Chlorogenic acid; Isoforsythiaside A; Forsythiaside A; Isochlorogenic acid; Baicalin; HPLC; Content determination

痰热清胶囊是由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花和连翘等5味中药材组合而成的中药复方制剂,具有疏风清热、化痰解毒的功效^[1-3]。现代药理学研究表明,痰热清胶囊的主要成分包括黄芩苷和汉黄芩苷等黄酮类成分^[4-8],牛磺熊去氧胆酸和熊去氧胆酸等胆汁酸类成分^[9-11],氨基酸、有机酸、苯乙醇苷类和木脂素类成分

等^[12-17]。该制剂现行国家标准的指标性成分为黄芩苷和熊去氧胆酸,尚无针对其他化学成分的分析报道。因此,本试验采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定痰热清胶囊中绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C和黄芩苷7种成分含量,以更好地控制该制剂质量提供参考。

析[J].中国药房,2008,19(30):2354-2356.

[9] Yang FQ, Feng K, Zhao J, et al. Analysis of sterols and fatty acids in natural and cultured Cordyceps by one-step

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81403089)

* 质量工程师。研究方向:中药质量控制。E-mail: kbzzh@sina.com

通信作者:助理研究员,博士。研究方向:药物分析及新药研发。E-mail: skyxu_1983@163.com

derivatization followed with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49 (5) : 1172-1178.

[10] Cui HY, Li TH, Song B, et al. GC-MS Analysis of fatty acids from Cordyceps guang dongensis[J]. *J Edib Fungi*, 2012, 2(1):89-92.

(收稿日期:2016-12-03 修回日期:2017-02-05)

(编辑:张静)

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括在线脱气装置、柱温箱、自动进样器、二极管阵列检测器、Agilent化学工作站(美国Agilent公司);BT25S型电子分析天平(德国Sartorius公司);Vortex Mixer型涡旋仪(美国Labnet公司);KQ-250DB型数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

痰热清胶囊(上海凯宝药业股份有限公司,批号:1406101、1407101、1407102,规格:0.4 g/粒);绿原酸对照品(批号:140601)、异连翘酯苷A对照品(批号:Y-184-140801)、连翘酯苷A对照品(批号:L-012-140730)、异绿原酸B对照品(批号:Y-069-141122-1)、异绿原酸A对照品(批号:140615)、异绿原酸C对照品(批号:Y-070-140801)、黄芩苷对照品(批号:150517)均购自上海欣拓贸易有限公司,纯度均 $\geq 98\%$;乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate XB C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈(A)-0.2%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~20 min, 10% \rightarrow 13% A; 20~25 min, 13% \rightarrow 18% A; 25~50 min, 18% A; 50~55 min, 18% \rightarrow 25% A; 55~60 min, 25% \rightarrow 85% A; 60~70 min, 85% \rightarrow 90% A; 70~80 min, 90% A);流速:0.8 mL/min;检测波长:325 nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取待测成分对照品各适量,精密称定,加甲醇制成绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、黄芩苷质量浓度分别为50、50、100、50、50、50、1 500 μ g/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品内容物适量,研细,混匀,取约25 mg,精密称定,置于5 mL量瓶中,加甲醇定容,密塞,称定质量,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理15 min,放冷,再次称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.22 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

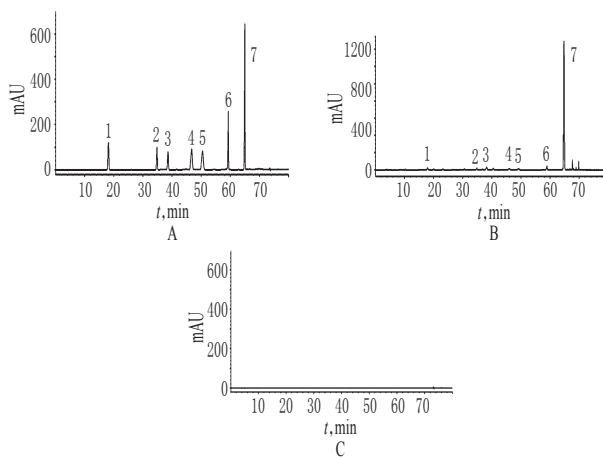
2.2.3 阴性对照溶液 按痰热清胶囊处方和工艺制备缺黄芩、金银花和连翘的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,理论板数以黄芩苷峰计为30 000;分离度 > 1.5 ,各成分基线分离良好。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液0.25、



A. 混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.绿原酸;2.异连翘酯苷A;3.连翘酯苷A;4.异绿原酸B;5.异绿原酸A;6.异绿原酸C;7.黄芩苷
A. mixed control; B. test sample; C. negative control; 1. chlorogenic acid; 2. isoforsythiaside A; 3. forsythiaside A; 4. isochlorogenic acid B; 5. isochlorogenic acid A; 6. isochlorogenic acid C; 7. baicalin

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 mL,分别置于5 mL量瓶中,加甲醇定容,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各10 μ L,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量(x, μ g)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

表1 回归方程、线性范围与定量限、检测限($n=6$)

Tab 1 Regression equations, linear ranges, quantitation limits and detection limits ($n=6$)

待测成分	回归方程	r	线性范围, μ g	定量限, ng	检测限, ng
绿原酸	$y=2\ 763.4x-10.459$	0.999 6	0.025~0.5	1.0	0.5
异连翘酯苷A	$y=1\ 679.2x-13.958$	0.999 7	0.025~0.5	1.5	0.5
连翘酯苷A	$y=1\ 678.7x-11.208$	0.999 9	0.050~1.0	1.5	0.5
异绿原酸B	$y=3\ 508.0x-14.216$	0.999 7	0.025~0.5	1.5	0.5
异绿原酸A	$y=4\ 486.6x-22.546$	0.999 6	0.025~0.5	1.5	0.5
异绿原酸C	$y=4\ 190.1x-20.928$	0.999 6	0.025~0.5	1.0	0.5
黄芩苷	$y=2\ 671.0x-51.833$	0.999 9	0.750~1.5	1.0	0.5

2.5 定量限与检测限考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,当信噪比为10:1时,得定量限;当信噪比为3:1时,得检测限,详见表1。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、黄芩苷峰面积的RSD分别为1.78%、1.27%、1.83%、1.76%、1.92%、1.03%、0.53% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:1406101)适量,分

别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、黄芩苷峰面积的RSD分别为1.19%、1.09%、1.69%、0.93%、1.35%、1.81%、1.16% ($n=6$),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

2.8 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:1406101)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、黄芩苷含量的平均值分别为0.40%、0.47%、0.99%、0.33%、0.22%、0.40%、19.20%,RSD分别为2.35%、1.63%、1.75%、2.04%、2.51%、1.83%、1.38% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:1406101)适量,共9份,分别加入低、中、高质量的待测成分对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery tests ($n=9$)

待测成分	取样量, mg	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %	
绿原酸	12.48	50.09	22.56	72.58	99.69	99.64	1.21	
	12.46	50.01	22.56	72.52	99.78			
	12.48	50.09	22.56	72.46	99.16			
	12.52	50.25	45.13	95.35	99.93			
	12.49	50.12	45.13	94.71	98.80			
	12.53	50.28	45.13	95.35	99.87			
	12.53	50.28	67.69	116.58	97.95			
	12.53	50.28	67.69	117.44	99.22			
	12.53	50.28	67.69	119.58	102.38			
	异连翘酯苷A	12.48	58.66	25.88	83.47	95.87	98.11	2.14
		12.46	58.56	25.88	83.47	96.25		
		12.48	58.66	25.88	83.77	97.02		
		12.52	58.84	51.75	110.29	99.42		
		12.49	58.70	51.75	109.36	97.89		
		12.53	58.89	51.75	109.12	97.06		
		12.53	58.89	77.63	137.06	100.70		
		12.53	58.89	77.63	138.02	101.93		
		12.53	58.89	77.63	134.08	96.86		
连翘酯苷A	12.48	123.55	54.44	178.11	100.22	101.70	0.97	
	12.46	123.35	54.44	177.83	100.07			
	12.48	123.55	54.44	178.78	101.45			
	12.52	123.95	108.88	235.66	102.60			
	12.49	123.65	108.88	234.23	101.56			
	12.53	124.05	108.88	235.19	102.08			
	12.53	124.05	163.31	290.96	102.20			
	12.53	124.05	163.31	292.11	102.91			
	12.53	124.05	163.31	291.00	102.23			
异绿原酸B	12.48	40.86	18.25	58.56	96.99	97.81	1.28	
	12.46	40.80	18.25	58.52	97.10			
	12.48	40.86	18.25	58.61	97.26			
	12.52	41.00	36.50	77.36	99.62			

续表2

Continued tab 2

待测成分	取样量, mg	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
异绿原酸A	12.49	40.89	36.50	76.64	97.95		
	12.53	41.03	36.50	76.70	97.73		
	12.53	41.03	54.75	93.38	95.62		
	12.53	41.03	54.75	95.27	99.07		
	12.53	41.03	54.75	95.24	99.01		
	12.48	28.06	12.50	40.11	96.40	97.03	1.42
	12.46	28.01	12.50	39.92	95.28		
	12.48	28.06	12.50	40.22	97.28		
	12.52	28.15	25.00	52.98	99.32		
	12.49	28.08	25.00	52.26	96.72		
	12.53	28.16	25.00	52.38	96.88		
	12.53	28.16	37.50	64.31	96.40		
	12.53	28.16	37.50	64.10	95.84		
	12.53	28.16	37.50	65.35	99.17		
	异绿原酸C	12.48	49.72	22.00	71.99	101.23	102.04
12.46		49.64	22.00	72.11	102.14		
12.48		49.72	22.00	71.87	100.68		
12.52		49.87	44.00	94.60	101.66		
12.49		49.75	44.00	93.79	100.09		
12.53		49.91	44.00	94.16	100.57		
12.53		49.91	66.00	120.07	106.30		
12.53		49.91	66.00	117.49	102.39		
12.53		49.91	66.00	118.09	103.30		
黄芩苷	12.48	2396.16	1142.19	3558.06	101.73	99.53	1.90
	12.46	2392.32	1142.19	3551.88	101.52		
	12.48	2396.16	1142.19	3560.12	101.91		
	12.52	2403.84	2284.40	4662.52	98.87		
	12.49	2398.08	2284.40	4653.78	98.74		
	12.53	2405.76	2284.40	4685.79	99.81		
	12.53	2405.76	3426.56	5739.83	97.30		
	12.53	2405.76	3426.56	5720.33	96.73		
	12.53	2405.76	3426.56	5804.87	99.20		

2.10 样品含量测定

分别取3批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果($n=3, \%$)

Tab 3 Results of content determination of samples ($n=3, \%$)

样品批号	绿原酸	异连翘酯苷A	连翘酯苷A	异绿原酸B	异绿原酸A	异绿原酸C	黄芩苷	总含量
1406101	0.40	0.47	0.99	0.33	0.22	0.40	19.20	22.01
1407101	0.39	0.59	1.18	0.32	0.24	0.40	19.09	22.21
1407102	0.42	0.58	1.23	0.37	0.25	0.44	18.58	21.87
平均值	0.40	0.55	1.13	0.34	0.24	0.41	18.96	22.03

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的考察

3.1.1 提取溶剂的选择 笔者分别考察了甲醇、50%甲醇溶液、70%甲醇溶液和水4种不同提取溶剂对痰热清胶囊提取效果的影响。结果表明,70%甲醇溶液对异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C的提取效果最好,水对绿原酸的提取效果最好,甲醇对黄芩苷的提取效果最好。鉴于痰热清胶囊中7种成

分含量最高的是黄芩苷,同时考虑到制备方法的简便性,本试验选择甲醇作为提取溶剂。

3.1.2 提取时间的选择 笔者分别考察了5、10、15、20、25、30 min 6种不同提取时间对痰热清胶囊提取效果的影响。结果表明,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、黄芩苷含量均随着提取时间的增加,呈先增后减的趋势。超声提取时间过长或过短均不利于样品中7种成分的提取,而且当提取时间为15 min时7种成分的整体提取效果最佳。因此,超声提取时间选定为15 min。

3.1.3 溶剂量的考察 预试验中,笔者取样品内容物的粉末约25 mg,精密称定,置于不同规格的量瓶中,分别加入5、10、25 mL的甲醇,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进行测定,记录各成分的峰面积。结果表明,提取溶剂为5 mL时7种成分的峰面积分别为提取溶剂为10、25 mL时的峰面积的2、5倍,同时考虑节省溶剂并绿色环保的原则,选择提取溶剂甲醇的量为5 mL。

3.2 色谱条件的优化

3.2.1 检测波长的选择 笔者分别考察了280、290、300、310、325、330、340 nm 7种不同波长下7种成分的吸光度。结果,随着检测波长的增加,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C的吸光度均呈先增后减的趋势,而黄芩苷则呈递减的趋势,鉴于黄芩苷在痰热清胶囊中含量较高,为了提高低含量成分的检测结果的准确度,宜选择较大的波长。经分析,发现当波长为325 nm时,绿原酸、异连翘酯苷A、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C的吸光度最大,能较好地反映出样品中7种成分的整体含量。因此,选择325 nm为检测波长。

3.2.2 色谱柱的选择 笔者分别考察了3种不同色谱柱Ultimate XB C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Phenomenex Gemini C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Agilent Zorbax SB C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)对供试品溶液的分离效果。结果表明,Ultimate XB C₁₈色谱柱分离效果优于其他两种色谱柱。因此,选择Ultimate XB C₁₈为分析色谱柱。

3.2.3 流动相系统的选择 笔者分别考察了乙腈-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.2%甲酸溶液、乙腈-0.3%甲酸溶液(梯度洗脱)3种不同流动相系统对供试品溶液的分离效果。结果表明,采用乙腈-0.2%甲酸溶液(梯度洗脱)为流动相系统时,峰形较好,保留时间适中,基线较平稳。因此,选择乙腈-0.2%甲酸溶液(梯度洗脱)作为分析流动相系统。

3.2.4 柱温的选择 笔者分别考察了25、30、35、40 ℃ 4种不同柱温对供试品溶液的分离效果。结果表明,当柱温为35 ℃时,7种成分分布较均匀,整体分离度最好,基线比较平稳。因此,柱温选定为35 ℃。

3.2.5 流速的选择 笔者分别考察了0.7、0.8、0.9、1.0 mL/min 4种不同流速对供试品溶液的分离效果。结果表明,当流速为0.8 mL/min时,7种成分整体分离度最好。因此,流速选择为0.8 mL/min。

3.3 样品含量测定结果分析

3批样品含量测定结果表明,7种成分中黄芩苷含量最高,分别为19.20%、19.09%、18.58%,均符合现有痰热清胶囊国家标准中“本品每粒(0.4 g/粒)含黄芩以黄芩苷计,不得少于60 mg”(即黄芩苷含量不得少于15%)的规定;且3批样品黄芩苷含量的RSD为1.75%,说明黄芩苷含量的批间差异较小。

3批样品中来自金银花的绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C的平均含量分别为0.40%、0.34%、0.24%、0.41%,共计1.39%;来自连翘的异连翘酯苷A、连翘酯苷A的平均含量分别为0.55%、1.13%,共计1.68%。鉴于这6种成分的含量均较低,含量测定结果误差较大,因此在建立痰热清胶囊质量标准中含量测定部分时,可以考虑以金银花中有机酸类成分总量、连翘中苯乙醇苷类成分总量作为含量测定指标。

综上所述,本方法操作简便,精密密度、稳定性、重复性好,可用于痰热清胶囊中7种成分含量的同时测定。

参考文献

- [1] 钟莘莘,刘绍勇,张小利,等.痰热清胶囊HPLC指纹图谱研究[J].江苏科技信息,2016(20):37-40.
- [2] 张黎莉,李展,徐晓月,等.痰热清胶囊的主要药效学研究[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(3):37-40.
- [3] 张广伟,宋庆宏,杜学航,等.不同处方工艺的痰热清胶囊解热、祛痰作用比较[J].中国药业,2010,19(14):23-25.
- [4] Qiao X, Li R, Song W, *et al.* A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering[J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1223(4):83-95.
- [5] Liu G, Ma J, Chen Y, *et al.* Investigation of flavonoid profile of *Scutellaria baicalensis* Georgi by high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(23):4809-4814.
- [6] 孟庆刚,王微,李强,等.黄芩解热作用的谱效关系研究[J].北京中医药大学学报,2011,34(6):379-383.
- [7] 辛文好,宋俊科,何国荣,等.黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J].中国新药杂志,2013,22(6):647-659.
- [8] 赵梅,周淑琴.黄芩中黄酮类化合物抗肿瘤作用的研究进展[J].中国药房,2013,24(11):1050-1052.
- [9] Qiao X, Ye M, Pan D, *et al.* Differentiation of various traditional Chinese medicines derived from animal bile and gallstone: simultaneous determination of bile acids by liquid chromatography coupled with triple quadrupole

近红外漫反射光谱法结合PLS法快速测定红景天药材中水分和红景天苷的含量^Δ

牟倩倩^{1,2*}, 贺敬霞^{1,2}, 张建琪³, 杨 滨¹, 李小芳², 刘江弟¹, 唐 艳¹, 李 化^{1#}(1.中国中医科学院中药研究所地道药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700; 2.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 3.西华大学食品与生物工程学院, 成都 610039)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4260-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.22

摘要 目的:建立快速测定红景天药材中水分和红景天苷含量的方法。方法:采用烘干法测定药材中水分含量(作为参考值);采用高效液相色谱法测定药材中红景天苷含量(作为参考值)。采用近红外漫反射光谱(NIR)分析技术结合偏最小二乘法(PLS)建立预测药材中水分和红景天苷含量的定量模型:根据参考值,采集83批药材样品,分别以二阶导数法联合 Savitsky Golay 滤波法、一阶导数法联合 Norris Derivative 滤波法预处理光谱,药材样品中水分和红景天苷含量预测最佳波段分别为 7 343.60~6 865.34、5 183.72~4 890.59 cm⁻¹和 7 050.47~4 327.48 cm⁻¹。结果:药材样品中红景天苷含量测定方法学考察符合要求。水分和红景天苷定量模型的校正集相关系数分别为 0.968 9、0.920 3,校正均方差分别为 0.273 0、0.085 0;验证集的相关系数分别为 0.977 1、0.930 0,验证均方差分别为 0.222 0、0.075 5。结论:该方法快速、准确、简便、无污染,可用于红景天药材中水分和红景天苷含量的快速测定。

关键词 近红外漫反射光谱技术;红景天;水分;红景天苷;偏最小二乘法

Rapid Determination of Moisture and Salidroside in *Rhodiola crenulatae* by NIR Combined with PLS Algorithm

MOU Qianqian^{1,2}, HE Jingxia^{1,2}, ZHANG Jianqi³, YANG Bin¹, LI Xiaofang², LIU Jiangdi¹, TANG Yan¹, LI Hua¹(1. State Key Laboratory Breeding Base of Genuine Regional Herbs, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 3. School of Food and Bio-engineering, Xihua University, Chengdu 610039, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for rapid determination of moisture and salidroside in *Rhodiola crenulatae*. METHODS: The content of moisture was determined by the methods of oven drying (as reference value); the content of salidroside was determined by HPLC (as reference value). Near infrared spectroscopy (NIR) combined with partial least squares (PLS) algorithm were adopted to establish quantitative model for the contents of moisture and salidroside. According to reference value, 83 samples were collected for preprocessing spectra by Savitsky Golay with second derivative and Norris Derivative with first derivative. The optimal spectrum range of moisture and salidroside were 7 343.60-6 865.34, 5 183.72-4 890.59 cm⁻¹ and 7 050.47-

- mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(1): 107-117.
- [10] 王佳婧, 郑勇凤, 秦晶, 等.熊胆粉的药理作用与新剂型研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2016, 36(7): 598-602.
- [11] 周超凡, 高国建, 刘颖.熊胆粉研究进展述评[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(7): 1252-1258.
- [12] 刘绍勇, 薛东升, 李江海, 等.山羊角提取物中氨基酸的种类研究与含量测定[J]. *中南药学*, 2014, 12(3): 271-274.
- [13] 杨清林, 傅亚.山羊角提取物中氨基酸含量测定研究[J].

- 中药材, 2011, 34(7): 1023-1026.
- [14] 李小芬, 孙晓红, 蔡爽, 等.采用UPLC-ESI-MS/MS以及主成分聚类分析研究不同品种金银花的化学成分及其差异[J]. *药学学报*, 2009, 44(8): 895-904.
- [15] 雷玲, 李兴平, 白筱璐, 等.金银花抗内毒素、解热、抗炎作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(1): 115-117.
- [16] Cui Y, Wang Q, Shi X, et al. Simultaneous quantification of 14 bioactive constituents in Forsythia Suspensa by liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2010, 21(3): 253-260.
- [17] 孟祥乐, 李俊平, 李丹, 等.连翘的化学成分及其药理活性研究进展[J]. *中国药房*, 2010, 21(43): 4117-4119.

Δ 基金项目: 中医药行业科研专项项目(No. 国中医药科技发[2014]10号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药新制剂、新剂型、新技术。E-mail: qqmou22@163.com

通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 中药及其复方制剂的质量评价与药效物质基础。E-mail: lihua621@hotmail.com

(收稿日期: 2016-11-18 修回日期: 2017-01-16)

(编辑: 张 静)