

基于多种内参物的一测多评法测定金莲清热颗粒中6种成分含量^Δ

和敏^{1*}, 毛珊¹, 李琳², 倪海峰², 都青钰¹, 于永杰^{1,3,4}, 张霞^{1,3,4#} (1. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2. 宁夏启元药业有限公司, 银川 750011; 3. 宁夏药物创制与仿制药研究重点实验室, 银川 750004; 4. 宁夏少数民族医药现代化教育部重点实验室, 银川 750004)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)17-2069-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.17.04



摘要 **目的** 建立基于多种内参物的一测多评法测定金莲清热颗粒中芒果苷、苾草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、苾草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷6个成分的含量。**方法** 以Agilent Eclipse Plus C₁₈为色谱柱,以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相(梯度洗脱),流速为1 mL/min,柱温为30℃,检测波长为270 nm。分别以苾草苷、牡荆苷、苾草素-2''-O-β-L-半乳糖苷为内参物,采用一测多评法建立另外5个待测成分与内参物的相对校正因子,然后计算21批金莲清热颗粒样品中6个成分的含量,并与外标法测定结果进行比较。**结果** 一测多评法测得21批金莲清热颗粒样品中芒果苷、苾草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、苾草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷的含量范围分别为0.234~0.516、1.804~2.270、2.143~2.606、0.190~0.223、0.594~0.782、0.080~0.152 mg/g,外标法测定结果分别为0.235~0.523、1.798~2.265、2.137~2.599、0.190~0.224、0.597~0.786、0.077~0.151 mg/g,2种方法所测结果的差异百分比不大于4.00%。**结论** 建立了基于多种内参物同时测定金莲清热颗粒中6种成分含量的一测多评法,该方法与外标法所得结果无明显差异,可用于金莲清热颗粒的质量控制。

关键词 金莲清热颗粒;一测多评法;芒果苷;苾草素-2''-O-β-L-半乳糖苷;苾草苷;藜芦酸;牡荆苷;哈巴俄苷;含量测定

Content determination of 6 components in Jinlian qingre granules by QAMS method based on a variety of internal reference substances

HE Min¹, MAO Shan¹, LI Lin², NI Haifeng², DU Qingyu¹, YU Yongjie^{1,3,4}, ZHANG Xia^{1,3,4} (1. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Ningxia Qiyuan Pharmaceutical Co. Ltd., Yinchuan 750011, China; 3. Ningxia Key Laboratory of Drug Development and Generic Drug Research, Yinchuan 750004, China; 4. Key Laboratory of Ningxia Minority Medicine Modernization, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method based on a variety of internal reference substances for the content determination of 6 components in Jinlian qingre granules, such as mangiferin, 2''-O-β-L-galactopyranosylorientin, orientin, veratric acid, vitexin, harpagoside. **METHODS** The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1 mL/min. The column temperature was 30 °C, and the detection wavelength was set at 270 nm. Taking orientin, vitexin and 2''-O-β-L-galactopyranosylorientin as internal references, the relative correction factors (RCF) of the other 5 components to be determined and internal substances were determined by QAMS. The contents of 6 components in 21 batches of Jinlian qingre granules were calculated and then compared with the results of the external standard method. **RESULTS** The contents of mangiferin, 2''-O-β-L-galactopyranosylorientin, orientin, veratric acid, vitexin and harpagoside in 21 batches of samples were determined by QAMS in the range of 0.234-0.516, 1.804-2.270, 2.143-2.606, 0.190-0.223, 0.594-0.782, 0.080-0.152 mg/g; the contents of them determined by external standard method were 0.235-0.523, 1.798-2.265, 2.137-2.599, 0.190-0.224, 0.597-0.786, 0.077-0.151 mg/g, respectively. The percentage difference between the results measured by the two methods should not exceed 4.00%. **CONCLUSIONS** QAMS has been constructed for the simultaneous determination of 6 components in Jinlian qingre granules based on a variety of internal reference substances. The results obtained by this method are not significantly different from those obtained by the external standard method, and can be used for the quality control of Jinlian qingre granules.

Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.81960711)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:药物分析。电话:0951-6880693。E-mail:hemin981210@163.com

通信作者 正高职高级工程师,硕士生导师,硕士。研究方向:中药质量控制。电话:0951-6980170。E-mail:ydzhx@126.com

KEYWORDS Jinlian qingre granules; quantitative analysis of multi-components by single marker; mangiferin; 2''-O-β-L-galactopyranosylorientin; orientin; veratric acid; vitexin; harpagoside; content determination

金莲清热颗粒是依据中医理论,在汉代名医张仲景《伤寒论》中的“白虎汤”和清代名医吴鞠通《温病条辨》中的“增液汤”基础上加减化裁而成,具有清热解毒、生津利咽、止咳祛痰的功效^[1-2]。方中金莲花、大青叶为君药,能清热解毒;知母、石膏为臣药,能清热泻火、除烦止渴,使高烧速降;玄参、生地为佐药,能养阴清热、润燥、除烦;苦杏仁为使药,可宣肺止咳化痰。2020年版《中国药典》仅以牡荆苷的含量作为金莲清热颗粒的质量控制指标^[3],而本品由7味中药组成,成分复杂,仅使用单一化学成分作为质量控制指标,难以全面准确控制其内在质量。近年来,对多个指标成分进行检测分析已成为中药质量控制的发展方向^[4],但部分中药成分的化学对照品分离难度大,而且对多个指标成分进行控制也会增加检测成本。

一测多评(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)法是选择一个有效成分为内参物,构建其他成分与内参物之间的相对校正因子(relative correction factors, RCF),通过测定一个有效成分的含量,可实现多成分的同时测定^[5-9]。但目前中药QAMS法存在重复研究的现象,即相同的分析对象、相同的待测成分,在不同的研究中选用不同的内参物重复建立RCF。由于RCF的建立需要对全部对照品溶液进行测定,这种情况造成了资源浪费,违背了QAMS法建立的初衷^[10]。基于此,本研究以金莲花中药理作用明确且含量较高的3个成分荜草苷、荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、牡荆苷分别作为内参物,建立可同时测定金莲清热颗粒中6种成分(分别是君药金莲花的活性成分荜草苷、荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、牡荆苷、藜芦酸,臣药知母的活性成分芒果苷,佐药玄参的活性成分哈巴俄苷)含量的QAMS法,并与外标法(external standard method, ESM)的测定结果进行比较,以期为该制剂质量的全面评价及质量标准提升奠定实验基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有XS105DU型分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)、Prominence LC-20A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司)、1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司)、TGL-16G型高速离心机(上海安亭科学仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

金莲清热颗粒(国药准字Z20023308)购自宁夏启元药业有限公司,共21批(编号S1~S21)。芒果苷对照品(批号111607-201704)购自中国食品药品检定研究院;荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荜草苷、藜芦酸、牡荆苷对照品(批号分别为P01O11F126428、S19GB161663、DN1127BA13、D29GB172870,纯度均不低于98%)均购

自上海源叶生物科技有限公司;哈巴俄苷对照品(批号PS000404,纯度≥98%)购自成都普思生物科技股份有限公司;乙腈为色谱纯,色谱分析用水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备

取金莲清热颗粒样品,研细,精密称取粉末约0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,密塞,称定质量;超声(功率250 W,频率33 kHz)30 min,取出放冷后,用溶剂补足减失的质量,摇匀;取适量,以10 000 r/min离心10 min,取上清液作为供试品溶液。

2.1.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取芒果苷、荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荜草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为1.000、1.000、0.420 0、0.350 0、0.232 0、1.000 mg/mL的对照品储备液;精密吸取上述对照品储备液适量置于同一5 mL容量瓶中,加甲醇稀释并定容,摇匀,得质量浓度分别为24.00、160.0、210.0、35.00、46.40、16.00 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 阴性供试品溶液的制备

按照金莲清热颗粒的处方比例和提取、干燥、成型等工艺条件,分别制备缺金莲花、缺知母、缺玄参的阴性样品,按“2.1.1”项下方法制备各阴性供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱为Agilent Eclipse Plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 97%B; 5~15 min, 97%B→95%B; 15~25 min, 95%B→90%B; 25~91 min, 90%B→68%B);流速为1.0 mL/min;柱温为30 °C;检测波长为270 nm;进样量为10 μL。

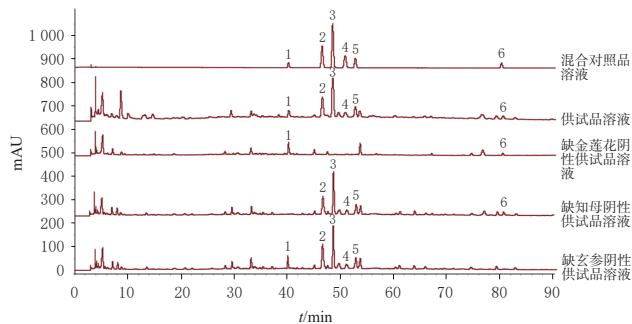
2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性考察

取“2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液、各阴性供试品溶液适量,按照“2.2”项下色谱条件进样测定,结果见图1。结果显示,各成分色谱峰的分度均符合要求,理论板数均大于5 000,阴性供试品分别在各成分的保留时间处无干扰。

2.3.2 线性关系考察

取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,经倍比稀释后按照“2.2”项下色谱条件进样检测,记录芒果苷、荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荜草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷的峰面积。将各对照品的质量浓度作为横坐标(x),峰面积作为纵坐标(y),进行线性回归,结果见表1。



1: 芒果苷; 2: 荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷; 3: 荭草苷; 4: 藜芦酸; 5: 牡荆苷; 6: 哈巴俄苷。

图1 系统适用性考察的高效液相色谱图

表1 6种化合物的线性关系考察结果

化合物	回归方程	线性范围/(μg/mL)	r
芒果苷	$y=17273x+1484.3$	0.750~24.00	0.9998
荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷	$y=14528x+8325.3$	5.000~160.0	0.9998
荭草苷	$y=20878x+16042$	6.562~210.0	0.9998
藜芦酸	$y=44973x+4764.9$	1.094~35.00	0.9998
牡荆苷	$y=21430x+3953.9$	1.450~46.40	0.9998
哈巴俄苷	$y=29380x+2797.5$	0.500~16.00	0.9997

2.3.3 精密度试验

取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件连续进样6次,记录芒果苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷的峰面积。结果显示,上述6个成分峰面积的RSD分别为0.40%、0.53%、0.27%、0.31%、0.24%、0.38%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验

精密称取同批金莲清热颗粒样品(编号S21),根据“2.1.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按标准曲线计算含量。结果显示,芒果苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、藜芦酸、牡荆苷、哈巴俄苷的平均含量分别为0.34、2.13、2.40、0.21、0.68、0.12 mg/g, RSD分别为1.25%、1.80%、1.65%、1.16%、1.38%、0.79%($n=6$),表明该方法重复性较好。

2.3.5 稳定性试验

精密称取同批金莲清热颗粒样品(编号S21),根据“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,分别在室温放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,芒果苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷峰面积的RSD分别为0.79%、0.66%、0.43%、0.75%、1.77%、0.60%($n=6$),表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验

取已知含量的同批金莲清热颗粒样品6份,每份约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入相当于样品中各成分含量100%的对照品溶液,根据“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算

加样回收率。结果显示,芒果苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、藜芦酸、牡荆苷和哈巴俄苷的平均加样回收率分别为99.7%、96.4%、94.6%、101.2%、96.0%、98.1%, RSD分别为3.00%、0.69%、1.20%、3.30%、1.90%、2.50%($n=6$),表明该方法准确度良好。

2.4 待测成分与不同内参物的RCF的建立

2.4.1 RCF的计算

本实验采用多点校正法计算RCF^[11],即根据“2.3.2”线性关系考察项下荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷3个成分6个质量点的峰面积和进样量,依据公式 $RCF=f_i/f_s=(W_i/A_i)/(W_s/A_s)=(W_i \times A_s)/(W_s \times A_i)$ 计算分别以上述3个成分作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的RCF。公式中 f_s 、 f_i 分别为内参物与待测成分的绝对校正因子, A_s 、 W_s 分别为内参物的峰面积和质量, A_i 、 W_i 分别为待测成分的峰面积和质量。结果显示,以上述3个成分作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的RCF的RSD均小于2.00%($n=6$)。结果见表2。

表2 不同内参物的RCF计算结果($n=6$)

待测成分	荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷(RSD/%)	荭草苷(RSD/%)	牡荆苷(RSD/%)
芒果苷	0.843(0.75)	1.214(1.10)	1.249(1.30)
荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷	-	1.440(0.44)	1.482(0.65)
荭草苷	0.695(0.44)	-	1.029(0.23)
藜芦酸	0.325(0.85)	0.468(1.30)	0.482(1.50)
牡荆苷	0.675(0.65)	0.972(0.23)	-
哈巴俄苷	0.489(0.68)	0.704(0.94)	0.725(1.10)

-: 作为内参物,无相应数据。

2.4.2 RCF重现性考察

取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件,分别采用Agilent Eclipse Plus C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Shimadzu InertSustain C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Zorbax SB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以不同型号的高效液相色谱仪(Prominence LC-20A型高效液相色谱系统、Agilent 1260型高效液相色谱系统)进行分析,计算分别以荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的RCF。结果显示,以荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷3个成分分别作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的RCF的RSD均小于5.00%($n=6$),表明RCF的重现性良好。

2.5 待测成分色谱峰的定位

记录“2.4.2”项下使用2种高效液相色谱系统、3种色谱柱测定的各成分色谱峰保留时间,计算以荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷3个成分分别作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的相对保留时间。结果显示,以荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷3个成分分别作为内参物时,另外5个待测成分与内参物的相对保留时间的RSD均小于3.00%($n=6$),表明采用不同色谱柱和色谱系统时各成分相对保留时间波动较小。

2.6 QAMS与ESM含量测定结果比较

取金莲清热颗粒样品21批,分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,分别采用ESM和QAMS法(以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、荜草苷、牡荆苷分别作为内参物)计算含量,并通过计算差异百分比[PD=|QAMS结果-ESM结果|×2/(QAMS结果+ESM结果)×100%]比较2种方法所得结果^[12]。

结果显示,以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、荜草苷、牡荆苷中任一化学成分作为内参物时,采用QAMS法计算21批金莲清热颗粒中6个成分含量的RSD均小于2.00%,与ESM测定结果的PD均不大于4.00%,表明本研究构建的QAMS法准确可靠,可在3个内参物中任何一个对照品存在的情况下,同时测定金莲清热颗粒中6个成分的含量。结果见表3。

表3 金莲清热颗粒中6个成分含量的ESM和QAMS法测定结果(mg/g, n=2)

编号	芒果苷						荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷					藜芦酸					
	ESM	QAMS法				PD/%	ESM	QAMS法			PD/%	ESM	QAMS法				PD/%
		以荜草苷为内参物	以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为内参物	以牡荆苷为内参物	平均值(RSD%)			以荜草苷为内参物	以牡荆苷为内参物	平均值(RSD%)			以荜草苷为内参物	以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为内参物	以牡荆苷为内参物	平均值(RSD%)	
S1	0.523	0.522	0.512	0.515	0.516(0.99)	1.35	2.166	2.167	2.181	2.174(0.46)	0.37	0.204	0.208	0.201	0.202	0.204(1.86)	0.00
S2	0.279	0.279	0.275	0.276	0.277(0.75)	0.72	2.119	2.115	2.129	2.122(0.47)	0.14	0.206	0.210	0.203	0.204	0.206(1.84)	0.00
S3	0.285	0.286	0.281	0.282	0.283(0.93)	0.70	2.024	2.022	2.034	2.028(0.42)	0.30	0.210	0.213	0.206	0.207	0.209(1.81)	0.48
S4	0.279	0.279	0.275	0.276	0.277(0.75)	0.72	2.054	2.050	2.063	2.057(0.45)	0.15	0.211	0.214	0.207	0.208	0.210(1.80)	0.48
S5	0.280	0.281	0.276	0.277	0.278(0.95)	0.72	2.069	2.066	2.079	2.072(0.44)	0.14	0.205	0.208	0.202	0.203	0.204(1.58)	0.49
S6	0.265	0.266	0.261	0.263	0.263(0.96)	0.76	2.012	2.011	2.023	2.017(0.42)	0.25	0.211	0.215	0.208	0.209	0.211(1.79)	0.00
S7	0.282	0.283	0.277	0.279	0.280(1.09)	0.71	2.011	2.010	2.022	2.016(0.42)	0.25	0.201	0.204	0.198	0.199	0.200(1.61)	0.50
S8	0.274	0.275	0.270	0.272	0.272(0.93)	0.73	2.018	2.016	2.028	2.022(0.42)	0.20	0.201	0.205	0.198	0.199	0.201(1.88)	0.00
S9	0.297	0.297	0.292	0.294	0.294(0.86)	1.02	2.035	2.032	2.045	2.039(0.45)	0.20	0.202	0.205	0.198	0.200	0.201(1.79)	0.50
S10	0.309	0.309	0.304	0.305	0.306(0.86)	0.98	1.912	1.911	1.922	1.917(0.41)	0.26	0.190	0.194	0.187	0.188	0.190(1.99)	0.00
S11	0.327	0.328	0.322	0.324	0.325(0.94)	0.61	2.031	2.031	2.043	2.037(0.42)	0.29	0.204	0.208	0.201	0.202	0.204(1.86)	0.00
S12	0.306	0.307	0.301	0.303	0.304(1.00)	0.66	2.003	2.003	2.013	2.008(0.35)	0.25	0.200	0.204	0.197	0.198	0.200(1.89)	0.00
S13	0.235	0.236	0.232	0.233	0.234(0.89)	0.43	1.798	1.798	1.809	1.804(0.43)	0.33	0.197	0.201	0.194	0.195	0.197(1.92)	0.00
S14	0.255	0.256	0.251	0.252	0.253(1.05)	0.79	1.936	1.936	1.947	1.942(0.40)	0.31	0.211	0.215	0.207	0.209	0.210(1.98)	0.48
S15	0.255	0.256	0.251	0.252	0.253(1.05)	0.79	1.936	1.936	1.947	1.942(0.40)	0.31	0.211	0.215	0.207	0.209	0.210(1.98)	0.48
S16	0.313	0.314	0.308	0.310	0.311(0.98)	0.64	2.022	2.023	2.033	2.028(0.35)	0.30	0.213	0.217	0.210	0.211	0.213(1.78)	0.00
S17	0.368	0.368	0.361	0.363	0.364(0.99)	1.09	2.071	2.072	2.082	2.077(0.34)	0.29	0.211	0.215	0.208	0.209	0.211(1.79)	0.00
S18	0.369	0.369	0.362	0.364	0.365(0.99)	1.09	2.265	2.264	2.276	2.270(0.37)	0.22	0.224	0.228	0.220	0.221	0.223(1.95)	0.45
S19	0.357	0.357	0.351	0.353	0.354(0.86)	0.84	2.155	2.154	2.165	2.160(0.36)	0.23	0.213	0.217	0.210	0.211	0.213(1.78)	0.00
S20	0.355	0.355	0.348	0.350	0.351(1.03)	1.13	2.040	2.039	2.051	2.045(0.41)	0.24	0.203	0.207	0.200	0.201	0.203(1.86)	0.00
S21	0.347	0.347	0.341	0.343	0.344(0.89)	0.87	2.124	2.121	2.131	2.126(0.33)	0.09	0.211	0.214	0.207	0.208	0.210(1.80)	0.48

编号	荜草苷					哈巴俄苷					牡荆苷					
	ESM	QAMS法			PD/%	ESM	QAMS法			PD/%	ESM	QAMS法			PD/%	
		以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为内参物	以荜草苷为内参物	平均值(RSD%)			以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为内参物	以牡荆苷为内参物	平均值(RSD%)			以荜草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为内参物	以荜草苷为内参物	平均值(RSD%)		
S1	2.599	2.596	2.616	2.606(0.54)	0.27	0.151	0.152	0.152	0.153	0.152(0.38)	0.66	0.786	0.782	0.782	0.782(0.00)	0.51
S2	2.222	2.224	2.236	2.230(0.38)	0.36	0.082	0.084	0.084	0.085	0.084(0.69)	2.41	0.644	0.641	0.642	0.642(0.11)	0.31
S3	2.253	2.254	2.267	2.261(0.41)	0.35	0.112	0.114	0.114	0.114	0.114(0.00)	1.77	0.645	0.642	0.642	0.642(0.00)	0.47
S4	2.177	2.179	2.191	2.185(0.39)	0.37	0.120	0.121	0.121	0.122	0.121(0.48)	0.83	0.631	0.628	0.629	0.628(0.11)	0.47
S5	2.187	2.189	2.201	2.195(0.39)	0.37	0.116	0.118	0.118	0.119	0.118(0.49)	1.71	0.636	0.633	0.634	0.634(0.11)	0.31
S6	2.288	2.288	2.302	2.295(0.43)	0.31	0.124	0.125	0.126	0.126	0.126(0.46)	1.60	0.650	0.647	0.647	0.647(0.00)	0.46
S7	2.297	2.297	2.311	2.304(0.43)	0.30	0.123	0.124	0.124	0.125	0.124(0.47)	0.81	0.642	0.639	0.639	0.639(0.00)	0.47
S8	2.259	2.259	2.272	2.266(0.41)	0.31	0.121	0.123	0.123	0.124	0.123(0.47)	1.64	0.633	0.630	0.631	0.630(0.11)	0.47
S9	2.177	2.179	2.191	2.185(0.39)	0.37	0.145	0.145	0.146	0.146	0.146(0.40)	0.69	0.630	0.627	0.628	0.628(0.11)	0.32
S10	2.160	2.160	2.173	2.167(0.42)	0.32	0.109	0.110	0.110	0.111	0.110(0.52)	0.91	0.610	0.607	0.608	0.608(0.12)	0.33
S11	2.371	2.369	2.385	2.377(0.48)	0.35	0.122	0.123	0.123	0.124	0.123(0.47)	0.82	0.678	0.674	0.675	0.674(0.10)	0.59
S12	2.322	2.321	2.335	2.328(0.43)	0.26	0.115	0.117	0.117	0.117	0.117(0.00)	1.72	0.635	0.633	0.633	0.633(0.00)	0.32
S13	2.137	2.135	2.150	2.143(0.49)	0.28	0.102	0.104	0.104	0.104	0.104(0.00)	1.94	0.597	0.594	0.594	0.594(0.00)	0.50
S14	2.264	2.263	2.277	2.270(0.44)	0.26	0.101	0.103	0.103	0.103	0.103(0.00)	1.96	0.631	0.628	0.628	0.628(0.00)	0.48
S15	2.264	2.263	2.277	2.270(0.44)	0.26	0.101	0.103	0.103	0.103	0.103(0.00)	1.96	0.631	0.628	0.628	0.628(0.00)	0.48
S16	2.446	2.444	2.459	2.452(0.43)	0.24	0.107	0.109	0.109	0.110	0.109(0.53)	1.85	0.665	0.662	0.662	0.662(0.00)	0.45
S17	2.514	2.511	2.527	2.519(0.45)	0.20	0.119	0.121	0.121	0.122	0.121(0.48)	1.67	0.680	0.677	0.677	0.677(0.00)	0.44
S18	2.537	2.536	2.551	2.544(0.42)	0.28	0.119	0.121	0.121	0.121	0.121(0.00)	1.67	0.701	0.698	0.698	0.698(0.00)	0.43
S19	2.417	2.417	2.430	2.424(0.38)	0.29	0.104	0.106	0.106	0.106	0.106(0.00)	1.90	0.666	0.663	0.664	0.664(0.11)	0.30
S20	2.309	2.309	2.323	2.316(0.43)	0.30	0.077	0.080	0.080	0.080	0.080(0.00)	3.82	0.644	0.641	0.642	0.642(0.11)	0.31
S21	2.396	2.396	2.410	2.403(0.41)	0.29	0.121	0.119	0.121	0.122	0.121(1.26)	0.00	0.667	0.664	0.664	0.664(0.00)	0.45

3 讨论

相关研究表明,金莲清热颗粒采用超声提取法和索氏提取法制备供试品溶液的效果相近,均优于回流提取法^[13],且超声提取法所需时间较短,操作相对简单便捷,因此本研究选取超声提取法制备样品。本研究还考察了不同提取溶剂(水、甲醇、乙醇)对供试品溶液制备的影响,结果表明,以甲醇为溶剂时各成分提取率最高;进一步比较了甲醇体积分数(30%、50%、70%)、提取时间(20、30、40、50 min)和提取溶剂用量(10、25、50、100 mL)的影响,最终确定金莲清热颗粒供试品溶液的制备方法为:精密称定金莲清热颗粒粉末0.50 g,加入50%甲醇溶液25 mL超声提取30 min。

本研究还考察了不同流动相组成(甲醇-水、乙腈-水、甲醇-甲酸、乙腈-磷酸)的洗脱分离效果,结果显示,以乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相时,各成分的色谱峰分离较好。金莲清热颗粒中含有多味药材,成分复杂,笔者前期采用光电二极管阵列检测器对供试品溶液进行了全波长扫描,结果发现,在270 nm波长处,6个成分均有较好吸收,色谱峰分离较好,理论板数符合要求。笔者还考察了柱温(25、30、35 °C)和流速(0.9、1.0、1.1 mL/min)的变化对各待测成分色谱峰分离度、相对保留时间和RCF的影响,结果显示,上述2个因素的变化均无显著影响。

综上所述,本研究建立了基于多种内参物同时测定金莲清热颗粒中6种成分含量的QAMS法,该方法与ESM所得结果无明显差异,可用于金莲清热颗粒的质量控制。

参考文献

[1] 宁夏启元药业有限公司. 金莲清热胶囊:CN03142686.7 [P]. 2009-03-11.

[2] 黎燕,陈利红,周红. 金莲清热颗粒抑制甲型流感病毒(A/PR/8/34 H1N1株)活性的体外细胞病变实验研究[J]. 宁夏医学杂志,2022,44(8):716-719,769.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2020

年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:317.

[4] DOU Z H, DAI Y, ZHOU Y Z, et al. Quality evaluation of rhubarb based on qualitative analysis of the HPLC fingerprint and UFLC-Q-TOF-MS/MS combined with quantitative analysis of eight anthraquinone glycosides by QAMS [J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35(6): e5074.

[5] 张亭亭,胡浩宁,李平媛,等. 一测多评法同时测定木瓜中5种五环三萜类成分的含量[J]. 中国药房, 2022, 33(20):2477-2480,2486.

[6] YANG G Y, LIU P, SHI H, et al. Identification of anti-inflammatory components in *Dioscorea nipponica* Makino based on HPLC-MS/MS, quantitative analysis of multiple components by single marker and chemometric methods[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2022, 1213: 123531.

[7] 郭国栋,康松松,郭晓文,等. 一测多评法同时测定蒙药制剂胡日查-6丸中5个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 1895-1901.

[8] 吴春,覃燕,杨慧丽,等. 一测多评法同时测定胆清胶囊中5种成分[J]. 中成药, 2022, 44(11): 3445-3449.

[9] 李佳寅,张小平,方梦婷,等. 一测多评法同时测定生脉注射液中12个成分[J]. 中草药, 2021, 52(24): 7484-7492.

[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] 冯亚茹,周荣荣,耿佳乐,等. 一测多评法同时测定大黄药材中8个结合型蒽醌含量的系统研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 1884-1894.

[12] 刘移兰,蔡卫华,窦志华,等. 一测多评法同时测定五味子中12个木脂素类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(7): 1207-1216.

[13] 高萌,李昕,齐喜红. HPLC法测定金莲清热颗粒中牡荆苷和荜草苷的含量[J]. 宁夏医学杂志, 2021, 43(12): 1130-1132.

(收稿日期:2023-03-09 修回日期:2023-07-25)

(编辑:唐晓莲)