doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2023.012.008

· 论著 ·

高效液相色谱一测多评法同时测定小儿咳嗽宁糖浆中 8 种成分含量

李美玲[1],魏谭军[1],杨芝芳[1],陈飞[1],黄爱苹[1],唐启荣[1],肖成[1],罗进芳[2](1.达州市中西医结合医院,四川达州 635000;2.贵州中医药大学,贵阳 550025)

[摘要]**目的**:建立小儿咳嗽宁糖浆中桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素 8 个成分的高效液相色谱一测多评(HPLC-QAMS)定量控制方法。**方法**:采用 Ultrasil C_{18} 色谱柱,流动相为乙腈(A)-1 mL/L 冰醋酸,流速为 1.0 mL/min 进行线性梯度洗脱,检测波长分别为 280 nm(桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷和汉黄芩苷)和 321 nm(白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素),柱温为 25 ℃。以黄芩苷为参照物,建立其他 7 个成分的相对校正因子,计算桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素含量。**结果**:桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素分别在 0.79~19.75、0.56~14.00、0.38~9.50、26.55~663.75、4.66~116.50、5.87~146.75、1.71~42.75 和 2.39~59.75 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好,各组分低、中、高浓度的平均加样回收率为 96.83%~100.14%,相对标准偏差(RSD)均≤1.42%(n=9),HPLC-QAMS 法计算结果与外标法(ESM)实测结果无明显差异。**结论**:HPLC-QAMS 法为小儿咳嗽宁糖浆提供了一个快捷可行的多指标同步质量评价模式。

[关键词]高效液相色谱一测多评法;小儿咳嗽宁糖浆;相对校正因子;含量测定
[中图分类号]R974 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2023)12-0033-05

Simultaneous Determination of Eight Kinds of Components in Xiao'er Kesouning Syrup by High-Performance Liquid Chromatography Combined with Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Marker

Li Meiling[1], Wei Tanjun[1], Yang Zhifang[1], Chen Fei[1], Huang Aiping[1], Tang Qirong[1], Xiao Cheng[1], Luo Jinfang[2] (1. *Dazhou Integrated TCM & Western Medicine Hospital, Sichuan Dazhou* 635000, *China*; 2. *Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang* 550025, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To establish the high-performance liquid chromatography combined with quantitative analysis of multi-components by single-marker (HPLC-QAMS) technology for the quantitative control of 8 kinds of components in Xiao'er Kesouning syrup, including mulberroside A, morusin M, dihydromorin, baicalin, wogonoside, praeruptorin A, praeruptorin B and praeruptorin E. **Methods**: Ultrasil C_{18} column was used with the mobile phase of acetonitrile (A) and 1 mL/L glacial acetic acid. The flow rate was 1.0 mL/min with a linear gradient elution, detection wavelengths were set at 280 nm (mulberroside A, morusin M, dihydromorin, baicalin and wogonoside), and 321 nm (praeruptorin A, praeruptorin B and praeruptorin E), the column temperature was maintained at 25 ℃. Baicalin was used as the reference substance, relative correction factors for the other 7 kinds of components were established to calculate the content of mulberroside A, morusin M, dihydromorin, wogonoside, praeruptorin A, praeruptorin B and praeruptorin E. **Results**: A good linear relationship with peak area was observed within the range from 0.79 to 19.75 μg/mL for mulberroside A, 0.56 to 14.00 μg/mL for moracin M, 0.38 to 9.50 μg/mL for dihydromorin, 26.55 to 663.75 μg/mL for baicalin, 4.66 to 116.50 μg/mL for wogonoside, 5.87 to 146.75 μg/mL for praeruptorin A, 1.71 to 42.75 μg/mL for praeruptorin B and 2.39 to 59.75 μg/mL for praeruptorin E, respectively. The average recovery rates for each component at low, medium and high concentrations ranged from 96.83% to 100.14%, with relative standard deviation (RSD) ≤1.42% (n=9). The results obtained by using the HPLC-QAMS technology showed no significant difference from those obtained by using the external standard method (ESM). **Conclusion**: HPLC-QAMS technology provides a fast and feasible multi-marker simultaneous quality evaluation model for Xiao'er Kesouning syrup.

[**Keywords**] high-performance liquid chromatography combined with quantitative analysis of multi-components by single-marker; Xiao'er Kesouning syrup; relative correction factor; content determination

小儿咳嗽宁糖浆是儿科常用的中药制剂,具有宣肺、止咳、化痰之功效,临床上主要用于因风热袭肺引起的咳嗽、气管炎、支气管炎及肺炎恢复期的治疗。小儿咳嗽宁糖浆由桑叶、桑白皮、黄芩、前胡等 15 味中药组方而成,其中桑叶疏散风热、清肺润燥、清肝明目,桑白皮泻肺平喘、利水消肿,苦杏仁降气止咳平喘、润肠通便,共为君药;前胡降气化痰、散风清热,桔梗宣肺利咽、祛痰排脓,枇杷叶清肺止咳,瓜蒌清热涤痰、宽胸散结、润燥滑肠,浙贝母清热化痰止咳、解毒散结消痈,牛蒡子疏散风热、宣肺透疹、解毒利咽,陈皮理气健脾、燥湿化痰,共为臣药;佐以黄芩清热燥湿、泻火解毒,芦根清热泻火、生津止渴,山楂消食健胃、行气散瘀,神曲健脾和胃、消食调中,麦芽行气消食、健脾开胃。小儿咳嗽宁糖浆现行质量标准[1]只对性状、鉴别、相对密度及其他常规检查进行了规定,不能客观反映其整体质量,相关文献[2]也仅对该制剂中的 2 个成分进行了定量分析。为提高小儿咳嗽宁糖浆的质量标准,更好地监管产品内在质量,本实验采用高效液相色谱一测多评法(high-performance liquid chromatography combined with quantitative analysis of multi-components by single-marker,HPLC-QAMS)[3-9]对小儿咳嗽宁糖浆方中 8 个成分含量进行同一色谱条件下的同步测定,并与外标法(ESM)进行比较,分析验证该方法的准确性和可行性,为小儿咳嗽宁糖浆多成分质量评价提供参考。

作者简介:李美玲(1989.03-),女,大学本科,主管中药师,主要从事中药质量评价、中药调剂工作,E-mail:827859227@qq.com。
通信作者:魏谭军(1984.10-),男,硕士,主管中药师,主要从事药物质量控制、医院制剂工作,E-mail:hkfmes81@163.com。

1　材料

1.1　仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公司),LC-20ADXR 型高效液相色谱仪(日本岛津公司)AB265-S 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);JK-250DB 型超声波清洗器(合肥金尼机械制造有限公司)。Ultrasil C_{18} 柱、Hedera C_{18} 柱及 Phenomenex C_{18} 柱,规格均为 250 mm×4.6 mm,5 μm。

1.2　试药及试剂

小儿咳嗽宁糖浆(每瓶装 50 mL,批号 210802、220101 和 220102)购于四川宝鉴堂药业有限公司。对照品黄芩苷(批号 110715-201821,纯度 95.4%)、汉黄芩苷(批号 112002-201702,纯度 98.5%)、白花前胡甲素(批号 111711-201904,纯度 99.4%)和白花前胡乙素(批号 111904-201804,纯度 98.9%)购于中国食品药品检定研究院;白花前胡 E 素(批号 18031222,纯度 99.9%)购于上海同田生物技术股份有限公司;桑辛素 M(批号 CFS201801,纯度 98.0%)和二氢桑色素(批号 CFS201901,纯度 98.0%)购于武汉天植生物技术有限公司;桑皮苷 A 对照品(批号 PRF7102141,纯度 99.0%)购于成都普瑞法科技开发有限公司;乙腈(批号 188390,美国 Fisher 公司)为色谱级,水为纯净水,其他试剂为分析纯。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

应用 Ultrasil C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),色谱柱柱温保持 25 ℃;以乙腈(A)-1 mL/L 冰醋酸进行梯度洗脱(0~9 min,15.0%A;9~21 min,15.0%→28.0%A;21~31 min,28.0%→50.0%A;31~52 min,50.0%A→78.0%A;52~60 min,78.0%→15.0%A);检测波长分别为 280 nm(0~31 min 检测桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷和汉黄芩苷)[10-17]和 321 nm(31~60 min 检测白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素)[18-21];流速为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL。

2.2　对照品溶液的制备

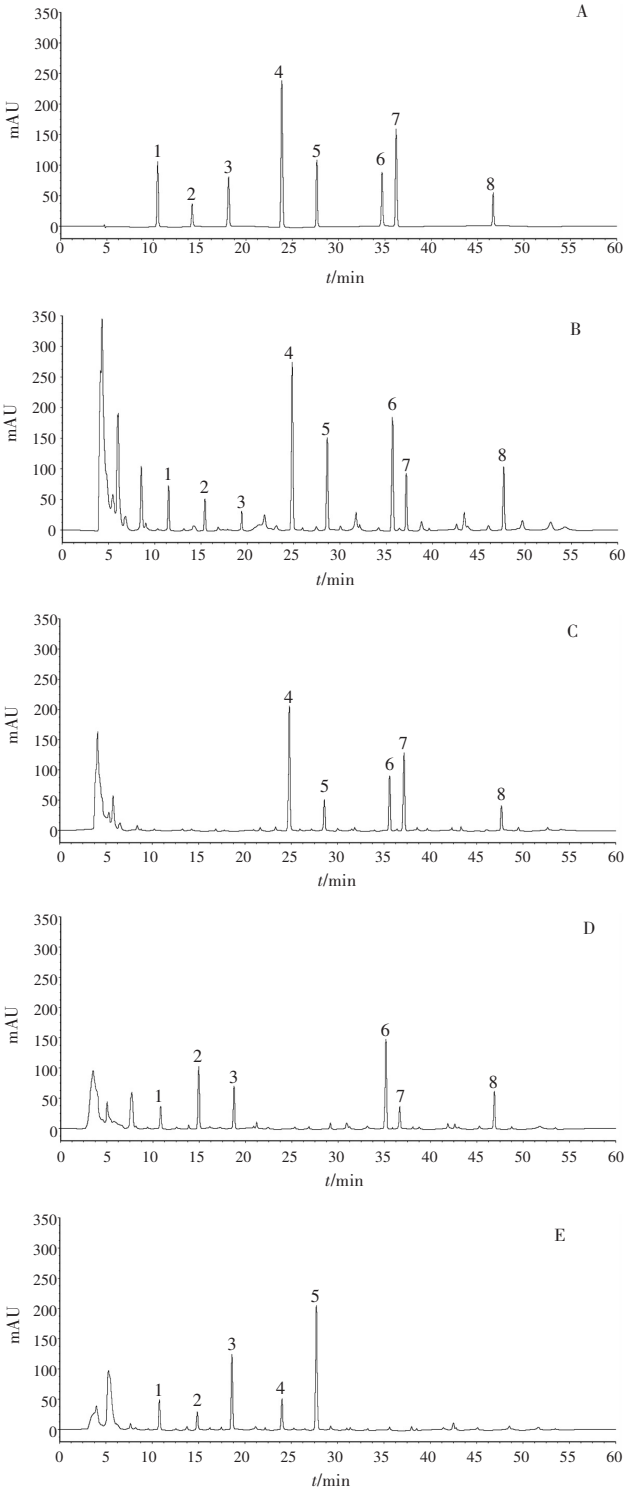
精密称取各对照品适量,用 70%乙醇制成桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素质量浓度依次为 0.158、0.112、0.076、5.310、0.932、1.174、0.342、0.478 mg/mL 的混合对照品贮备液;精密吸取该贮备液 2.5 mL,同一溶剂定容至 50 mL,制成桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素质量浓度分别为 7.9、5.6、3.8、265.5、46.6、58.7、17.1、23.9 μg/mL 的对照品溶液。

2.3　供试品溶液的制备

精密吸取小儿咳嗽宁糖浆 2.0 mL,用 70%乙醇定容至 25 mL,摇匀得小儿咳嗽宁糖浆供试品溶液。按照小儿咳嗽宁糖浆质量标准中工艺和制法的处理步骤,分别制备缺桑叶、桑白皮、缺黄芩、缺前胡的阴性样品,再按照上述方法制成各阴性供试品溶液。

2.4　方法学考察

2.4.1　专属性试验　依法进样对照品溶液和供试品溶液检测分析,结果桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素色谱峰峰形对称,理论塔板数均≥5 000,且与相邻色谱峰分离度均>1.5,阴性供试品对小儿咳嗽宁糖浆中 8 个成分的测定不干扰,见图 1。



1. 桑皮苷 A;2. 桑辛素 M;3. 二氢桑色素;4. 黄芩苷;5. 汉黄芩苷;6. 白花前胡甲素;7. 白花前胡乙素;8. 白花前胡 E 素。A. 混合对照品;B. 供试品溶液;C. 桑叶和桑白皮阴性;D. 黄芩阴性;E. 前胡阴性

图 1　HPLC 图

2.4.2 线性关系考察 精密吸取“2.2”项混合贮备液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，70%乙醇稀释成 20 mL，摇匀得不同浓度的混合对照品溶液，依法进样分析，横坐标 X 为对照品桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的质量浓度，色谱峰峰面积为纵坐标 Y，进行线性回归，回归方程和线性范围见表 1。

表 1 小儿咳嗽宁糖浆中 8 种成分的线性关系

目标成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)
桑皮苷 A	$Y=1.132\ 0\times10^{6}X+1\ 207.5$	0.999 3	0.79~19.75
桑辛素 M	$Y=8.655\ 8\times10^{5}X+697.1$	0.999 7	0.56~14.00
二氢桑色素	$Y=8.991\ 8\times10^{5}X-1\ 030.5$	0.999 2	0.38~9.50
黄芩苷	$Y=1.465\ 8\times10^{6}X+677.7$	0.999 4	26.55~663.75
汉黄芩苷	$Y=2.122\ 3\times10^{6}X-821.2$	0.999 6	4.66~116.50
白花前胡甲素	$Y=2.633\ 4\times10^{6}X+274.5$	0.999 5	5.87~146.75
白花前胡乙素	$Y=1.209\ 2\times10^{6}X+933.2$	0.999 1	1.71~42.75
白花前胡 E 素	$Y=1.893\ 5\times10^{6}X-296.4$	0.999 7	2.39~59.75

2.4.3 精密度实验 依法连续进样“2.2”项下对照品溶液 6 次，得桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素色谱峰峰面积的相对标准偏差(RSD)依次为 1.10%、1.23%、1.41%、0.56%、0.81%、0.74%、1.09% 和 0.68%。

2.4.4 稳定性实验 取小儿咳嗽宁糖浆供试品溶液一份，在室温条件下于制备后 0、2、5、9、16、24 h 进样分析，得桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素峰面积的 RSD 依次为 1.25%、1.31%、1.45%、0.63%、0.97%、1.01%、1.28%和 0.74%，表明小儿咳嗽宁糖浆供试品溶液室温条件下 24 小时内稳定。

2.4.5 重复性实验 取批号 190802 小儿咳嗽宁糖浆样品，按“2.3”项下步骤制备供试品溶液 6 份，依法进样分析，得桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素含量的 RSD 依次为 1.82%、1.89%、1.77%、0.95%、1.04%、1.13%、1.47%和 1.60%。

2.4.6 加样回收率 取已知含量的小儿咳嗽宁糖浆(批号 190802)9 份，每份精密吸取 1.0 mL，随机分成 3 组，每组分别按各成分已知含有量的 80%、100%和 120%精密加入混合对照品溶液(桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的质量浓度分别为 0.119、0.082、0.038、3.904、0.651、0.849、0.216、0.311 mg/mL)，依照供试品制备方法制备加样样品溶液。依法进样分析检测，结果所测成分桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的平均加样回收率(RSD)依次为 97.96%(1.28%)、96.83%(1.07%)、97.37%(1.42%)、100.05%(0.65%)、99.62%(0.77%)、100.14%(0.78%)、98.44%(1.27%)和 98.86%(1.36%)。

2.5 相对校正因子(RCF)的测定

依法依次进样“2.4.2”项下 6 个混合对照品溶液检测分析，以黄芩苷为内参物，按照公式 $f_{k/s}=f_k/f_s=(X_k\times Y_s)/(X_s\times Y_k)$(式中 X 代表质量浓度，Y 代表峰面积，下标 k 代表参照物，下标 s 代表其他成分)计算桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的 RCF，桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素 RCF 的 RSD 均≤1.91%，见表 2。

表 2 小儿咳嗽宁糖浆中各成分的 RCF

混合对照品溶液	桑皮苷 A	桑辛素 M	二氢桑色素	汉黄芩苷	白花前胡甲素	白花前胡乙素	白花前胡 E 素
1	1.287 7	1.675 3	1.6130	0.681 1	0.549 8	1.231 4	0.767 3
2	1.241 7	1.669 4	1.624 3	0.688 7	0.551 3	1.201 2	0.758 8
3	1.311 1	1.728 4	1.640 6	0.701 6	0.560 7	1.200 7	0.791 3
4	1.302 9	1.691 6	1.646 1	0.693 7	0.558 9	1.237 9	0.777 7
5	1.299 5	1.652 8	1.637 5	0.674 4	0.553 7	1.195 3	0.759 6
6	1.286 6	1.712 8	1.624 6	0.698 6	0.557 2	1.215 9	0.780 1
平均值	1.288 3	1.688 4	1.631 0	0.689 7	0.555 3	1.213 7	0.772 5
RSD/%	1.91	1.68	0.76	1.52	0.79	1.46	1.66

2.6 RCF 耐用性考察

2.6.1 不同仪器和色谱柱的 RCF 依法进样“2.2”项下对照品溶液检测分析，考察 RCF 在采用 LC-20ADXR 型、UltiMate 3000 型高效液相色谱仪和色谱柱 Ultrasil C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)、Hedera C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)、Phenomenex C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)时的结果，桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素 RCF 的 RSD 均≤1.88%，表明仪器和色谱对相对校正因子的检测无显著性影响，见表 3。

表 3 不同仪器、色谱柱对 RCF 的影响

仪器	色谱柱	桑皮苷 A	桑辛素 M	二氢桑色素	汉黄芩苷	白花前胡甲素	白花前胡乙素	白花前胡 E 素
LC-20ADXR	Ultrasil C_{18}	1.285 1	1.686 9	1.627 6	0.684 3	0.551 7	1.210 2	0.769 0
	Hedera C_{18}	1.267 6	1.678 3	1.618 3	0.675 0	0.548 2	1.188 0	0.754 1
	Phenomenex C_{18}	1.320 9	1.720 6	1.646 9	0.692 8	0.558 5	1.235 7	0.778 5
UltiMate 3000	Ultrasil C_{18}	1.261 1	1.660 4	1.615 5	0.680 9	0.548 3	1.207 6	0.763 9
	Hedera C_{18}	1.258 3	1.643 5	1.607 6	0.661 7	0.537 7	1.183 9	0.750 2
	Phenomenex C_{18}	1.294 7	1.708 9	1.633 0	0.694 5	0.554 8	1.223 8	0.766 3
平均值		1.281 3	1.683 1	1.624 8	0.681 5	0.549 9	1.208 2	0.763 7
RSD/%		1.88	1.72	0.87	1.78	1.30	1.66	1.35

2.6.2 不同柱温的 RCF 依法进样“2.2”项下对照品溶液检测分析，考察 RCF 在柱温 20、23、25、27、30 ℃时的结

果，桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素 RCF 的 RSD 均≤1.48%，表明柱温对 RCF 的检测无显著性影响，见表 4。

表 4　不同柱温对 RCF 的影响

柱温/℃	桑皮苷 A	桑辛素 M	二氢桑色素	汉黄芩苷	白花前胡甲素	白花前胡乙素	白花前胡 E 素
20	1.270 9	1.645 0	1.615 7	0.674 5	0.546 6	1.195 7	0.751 3
23	1.285 2	1.662 9	1.629 0	0.679 9	0.549 1	1.204 1	0.762 9
25	1.291 5	1.672 8	1.634 4	0.6861	0.552 8	1.210 3	0.769 6
27	1.307 6	1.680 4	1.641 6	0.690 3	0.556 0	1.219 5	0.772 8
30	1.320 1	1.703 3	1.650 3	0.697 4	0.558 5	1.228 0	0.778 1
平均值	1.295 1	1.672 9	1.634 2	0.685 6	0.552 6	1.211 5	0.766 9
RSD/%	1.48	1.29	0.80	1.30	0.88	1.05	1.35

2.6.3　不同流速的 RCF　依法进样“2.2”项下对照品溶液检测分析，考察 RCF 在流速为 0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 mL/min 条件下，桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素 RCF 的 RSD 均≤1.51%，表明流速对 RCF 的检测无显著性影响，见表 5。

表 5　不同流速对 RCF 的影响

流速/(mL/min)	桑皮苷 A	桑辛素 M	二氢桑色素	汉黄芩苷	白花前胡甲素	白花前胡乙素	白花前胡 E 素
0.8	1.311 5	1.710 9	1.637 3	0.699 3	0.562 5	1.231 7	0.789 0
0.9	1.307 2	1.704 4	1.630 8	0.691 6	0.556 1	1.226 9	0.783 5
1.0	1.2860	1.687 2	1.629 5	0.687 1	0.553 8	1.210 6	0.770 2
1.1	1.273 9	1.673 5	1.624 1	0.680 2	0.549 2	1.208 1	0.766 2
1.2	1.268 1	1.666 1	1.615 6	0.675 9	0.546 6	1.194 0	0.761 9
平均值	1.289 3	1.688 4	1.627 5	0.686 8	0.553 6	1.214 3	0.774 2
RSD/%	1.51	1.14	0.50	1.35	1.12	1.25	1.50

2.7　待测组分色谱峰的定位

依法进样“2.2”项下对照品溶液检测分析，以相对保留时间（RRT）定位各待测成分色谱峰，考察 LC-20ADXR 型、UltiMate 3000 型高效液相色谱仪和色谱柱 Ultrasil C_{18} 柱、Hedera C_{18} 柱、Phenomenex C_{18} 柱（规格均为 250 mm×4.6 mm，5 μm）对 RRT 的影响（RRT = RTs/RTk，其中 RTs 为其他待测化合物的保留时间，RTk 为内标化合物的保留时间），见表 6。结果各待测成分 RRT 的 RSD 均≤1.73%，可以用 RRT 对色谱峰进行定位。

表 6　不同仪器、色谱柱对 RRT 的影响

仪器	色谱柱	桑皮苷 A	桑辛素 M	二氢桑色素	汉黄芩苷	白花前胡甲素	白花前胡乙素	白花前胡 E 素
LC-20ADXR	Ultrasil C_{18}	0.441 9	0.594 5	0.760 8	1.159 5	1.453 3	1.517 1	1.956 7
	Hedera C_{18}	0.435 1	0.586 8	0.756 0	1.140 1	1.440 8	1.483 5	1.926 1
	Phenomenex C_{18}	0.453 2	0.603 2	0.772 3	1.173 9	1.463 9	1.538 6	1.984 6
UltiMate 3000	Ultrasil C_{18}	0.432 8	0.589 1	0.754 4	1.147 2	1.441 2	1.502 8	1.947 3
	Hedera C_{18}	0.447 9	0.591 7	0.751 9	1.155 0	1.439 5	1.508 5	1.935 8
	Phenomenex C_{18}	0.441 6	0.596 3	0.767 5	1.169 6	1.460 7	1.524 2	1.970 5
平均值		0.442 1	0.593 6	0.760 5	1.157 5	1.449 9	1.512 4	1.953 5
RSD/%		1.73	0.98	1.05	1.12	0.75	1.25	1.11

2.8　HPLC-QAMS 与 ESM 测定结果的比较

取 3 个批次的小儿咳嗽宁糖浆，按“2.3”项步骤制备的供试品溶液，每批次平行 3 份，依法进样检测，采用 ESM 计算公式含量 $C_X = (C_R \times A_X)/A_R$（式中 C_R 为对照品质量浓度，A_X 为待测成分峰面积，A_R 为对照品峰面积）计算 8 种成分的含量；以黄芩苷为参照物，根据“2.5”项下所得 RCF，采用 HPLC-QAMS 计算公式含量 $X_s = (X_k \times Y_s \times f_{k/s})/Y_k$（式中 X_k 为参考物质量浓度，Y_s 为待测成分峰面积，$f_{k/s}$ 为参考物相对于待测成分的 RCF，Y_k 为参考物峰面积）计算桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的含量，见表 7。结各待测成分含量均有一定的批间差异，表明建立多指标成分质量控制方法对稳定小儿咳嗽宁糖浆的整体质量具有重要意义。将桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡 E 素含量检测结果导入 SPSS 26.0 软件中进行 t 检验分析，结果待测成分 ESM 和 HPLC-QAMS 所得结果比较差异无统计学意义（$P>0.05$），表明所建立的 HPLC-QAMS 可用于小儿咳嗽宁糖浆多指标成分含量的同时测定。

表 7　两种方法测定结果比较（$n=3$）　mg/mL

成分	210802		220101		220102	
	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
黄芩苷	3.916±0.043		3.139±0.029		4.681±0.031	
桑皮苷 A	0.114±0.001	0.116±0.001	0.137±0.002	0.135±0.002	0.093±0.001	0.094±0.001
桑辛素 M	0.081±0.001	0.083±0.001	0.097±0.001	0.096±0.001	0.066±0.001	0.067±0.001
二氢桑色素	0.039±0.001	0.038±0.001	0.035±0.001	0.036±0.001	0.045±0.001	0.044±0.001
汉黄芩苷	0.654±0.003	0.647±0.005	0.524±0.005	0.538±0.003	0.780±0.004	0.769±0.004
白花前胡甲素	0.852±0.007	0.866±0.007	0.685±0.004	0.696±0.006	1.021±0.009	1.007±0.009
白花前胡乙素	0.217±0.002	0.214±0.002	0.259±0.003	0.255±0.004	0.174±0.002	0.178±0.002
白花前胡 E 素	0.315±0.003	0.319±0.005	0.378±0.004	0.373±0.004	0.255±0.003	0.258±0.002

3　讨论

3.1　流动相的选择

本实验考察了乙腈-1 mL/L 甲酸溶液[3-4,9]、乙腈-0.1 mL/L 磷酸溶液[5]、乙腈-10 mL/L 乙酸溶液[6]、甲醇-水[11-12]4 种不同的流动相系统，以桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素的色谱峰丰度、基线情况、分离情况为指标，结果发现，以乙腈-10 mL/L 乙酸溶液为流动相时基线最平稳，目标成分响应值较大，同时与相邻色谱峰分离度符合要求，检验用时合理，但 10 mL/L 乙酸酸性较强，为保护色谱柱，进而又对乙酸溶液浓度及有机相与水相的洗脱程序进行了优化考察，最终以“2.1”项下色谱条件为最优。

3.2　检测指标成分及内参物的选择

小儿咳嗽宁糖浆由桑叶、桑白皮、黄芩、前胡等共 15 味

中药组方而成,其中君药包括桑叶、桑白皮和苦杏仁,臣药由前胡、桔梗、枇杷叶、浙贝母、牛蒡子、瓜蒌和陈皮组成,黄芩、芦根、山楂、神曲和麦芽共为佐药,本实验在选择检测指标成分及内参物时,根据中医学配伍理论,选取君药桑叶和桑白皮,臣药前胡,佐药黄芩为研究对象,分析其所含主要成分,最终确定以桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素 8 个成分为指标成分,考虑到黄芩苷在该制剂中含量最高,且该对照品质稳价廉,检测色谱图中出峰时间居中,故选择黄芩苷作为内参物。

3.3 HPLC-QAMS 结果评价

HPLC-QAMS 可实现仅需测定 1 种成分,即可达到同时检测多种成分的目的,有效解决了中药材质量分析过程中由于对照品短缺带来的困难。本实验以黄芩苷为参照物,通过黄芩苷与其他 7 种成分间的相对校正因子,计算 3 批小儿咳嗽宁糖浆样品中 8 个成分的含量,并与 ESM 检测数据进行 t 检验,结果两种方法所得结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HPLC-QAMS 操作便捷,既可减少对照品的使用,节省成本,又能提高检测效率,利于方法的推广与应用,还提高了色谱峰定性的准确性和自动化程度,为中药制剂综合质量控制的发展提供了新思路和方向。

本实验应用 HPLC-QAMS 对小儿咳嗽宁糖浆中桑皮苷 A、桑辛素 M、二氢桑色素、黄芩苷、汉黄芩苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素及白花前胡 E 素进行了含量的同步分析,为全面评价小儿咳嗽宁糖浆质量和完善质量标准提供了实验依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 第十四册. WS-B-2655-97. 1997: 8.

[2] 周晓英. HPLC 测定小儿咳嗽宁糖浆中牛蒡子苷和黄芩苷的含量[J]. 华西药学杂志, 2001, 16(4): 303-304.

[3] 段丽, 祝清灿, 汪娥, 等. 一测多评法测定补骨脂中 5 种成分的含量[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(1): 10-14.

[4] 梁颖欣, 朱旦, 黄舒婷, 等. 一测多评法测定钩藤中 7 种生物碱类成分的含量[J]. 中药材, 2019, 42(8): 1820-1823.

[5] 黄永辉, 杨元飞, 陈勇. 一测多评法同时测定补肾防喘片中 7 种成分的含量[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(5): 653-658.

[6] 宝鲁尔, 王徽, 吴杰斯, 等. 一测多评法同时测定蒙药扎冲十三味丸中 8 种成分[J]. 中草药, 2021, 52(11): 3249-3256.

[7] 陈影, 吴婷, 姜超 ,等. 一测多评法同时测定 4 种中药注射液中 9 种丹参酚酸[J]. 中成药, 2021, 43(3): 590-595.

[8] 曹静亚, 陈玲, 魏悦, 等. 指纹图谱结合一测多评模式在连翘配方颗粒质量评价中的应用[J]. 中药材, 2018, 41(9): 2134-2138.

[9] 张荣华, 王桂红, 殷杰. 一测多评法测定固本统血颗粒中 7 种成分的含量[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(2): 188-193.

[10] 陈志永, 蒙麦侠, 杨媛媛, 等. HPLC 法同时测定桑白皮中 6 种活性成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(7): 911-914.

[11] 田欢, 赵锋, 杨媛媛, 等. 一测多评法测定桑白皮中 6 个成分的含量[J]. 中药材, 2021, 44(4): 924-927.

[12] 闫辉, 高欢, 崔清华, 等. HPLC 同时测定桑白皮中 4 种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 53-56.

[13] 陈倩, 孙登阳, 邓霖芳, 等. HPLC 法同时测定桑枝中桑皮苷 A 和桑皮黄素的含量[J]. 中国药房, 2015, 26(3): 364-366.

[14] 刘岩, 计小清, 孔令娟, 等. 不同炮制方法对黄芩化学成分及产品质量的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(3): 605-608.

[15] 申洁, 李珮, 刘双双, 等. 河北与山西产黄芩药材中主要黄酮类成分的含量比较研究[J]. 中国现代中药, 2019, 21(4): 487-493.

[16] 郭玲玲, 刘毅, 禄梦杰, 等. HPLC 法同时测定陕西产不同生长年限野生和栽培黄芩中 9 种化学成分的含量[J]. 中草药, 2018, 49(4): 935-940.

[17] 赵建军, 高晓娟, 王英华, 等. 栽培黄芩与其对照药材的 HPLC 指纹图谱及近红外图谱比较研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(22): 4204-4209.

[18] 邱晓霞, 张玲, 岳婧怡, 等. 宁前胡中 3 种香豆素含量影响因素的考察[J]. 中药材, 2016, 39(4): 713-716.

[19] 陈健. HPLC 法测定含化上清片中白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(3): 251-253.

[20] 吕新林, 徐国兵, 许雷鸣, 等. 前胡总香豆素提取物质量标准研究[J]. 中医药学报, 2020, 48(2): 43-46.

[21] 史行幸, 黄琴伟, 周建良, 等. 前胡香豆素类成分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 842-846.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2022-07-14 修回日期:2022-08-10)

· 编者 · 作者 · 读者 ·

本刊特别欢迎各类基金课题论文

为了鼓励作者将基金课题(包括国家自然科学基金、国家各部委及各省、市、自治区级的各种基金)产生的论文投到《儿科药学杂志》发表,以进一步提高本刊的学术水平,由上述基金课题产生的论文将在本刊优先发表,同时对该基金课题产生的研究性论文给予优厚稿酬。基金项目稿件需附基金课题文件复印件并在文中注明基金名称及编号,否则无效。热忱欢迎广大作者投稿。

投稿网址:http://www.ekyxzz.com.cn。