

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.21.018

抗炎退热片高效液相色谱指纹图谱的建立及其 7 种成分含量测定

肖何芳

(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院,福建 福州 350000)

摘要:目的 建立抗炎退热片的高效液相色谱指纹图谱,同时测定其中 7 种成分(绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)的含量。方法 色谱柱为 Diamonsil Plus C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),以乙腈(A)-0.5% 磷酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱,流速为 0.85 mL/min,检测波长为 328 nm(绿原酸、咖啡酸、菊苣酸)和 280 nm(黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素),柱温为 40 ℃,进样量为 10 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统进行相似度评价,采用 SPSS 22.0 统计学软件对含量测定结果进行聚类分析。结果 11 批样品指纹图谱有 19 个共有峰,相似度大于 0.92;绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素质量浓度分别在 8.447~84.470 μg/mL,18.22~182.20 μg/mL,16.01~160.10 μg/mL,29.58~295.80 μg/mL,20.05~200.50 μg/mL,15.91~159.10 μg/mL,8.507~85.070 μg/mL($r \geq 0.9996$)范围内与峰面积线性关系良好,平均加样回收率分别为 99.56%,99.08%,99.36%,100.67%,99.37%,99.78%,98.94%,RSD 分别为 0.47%,0.78%,0.90%,0.87%,0.60%,0.87%,1.00%($n=6$)。11 批样品聚为 2 类。结论 所建立的抗炎退热片高效液相色谱指纹图谱及定量测定方法重复性好、准确、稳定性好,可用于抗炎退热片的质量评价。

关键词:抗炎退热片;绿原酸;咖啡酸;菊苣酸;黄芩苷;汉黄芩苷;黄芩素;汉黄芩素;指纹图谱;含量测定

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)21-0062-05

Establishment of HPLC Fingerprint and Content Determination of Seven Components in Kangyan Tuire Tablets

XIAO Hefang

(The 900th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Fuzhou, Fujian, China 350000)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography(HPLC) fingerprint of Kangyan Tuire Tablets and determine the contents of seven components(chlorogenic acid,caffeic acid,cichoric acid,baicalin,wogonoside,baicalein and wogonin) simultaneously.

Methods The chromatographic column was Diamonsil Plus C₁₈ column(250 mm×4.6 mm,5 μm),the mobile phase was acetonitrile(A)-0.5% phosphoric acid aqueous solution(B) with gradient elution,the flow rate was 0.85 mL/min,the detection wavelength was 328 nm for chlorogenic acid,caffeic acid,cichoric acid and 280 nm for baicalin,wogonoside,baicalein and wogonin,the column temperature was 40 ℃,and the injection volume was 10 μL.The similarity evaluation system for the chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine was used to evaluate the similarity,and the SPSS 22.0 statistical software was used for clustering analysis of the results of content determination. **Results** There were 19 common peaks in the HPLC fingerprints of 11 batches of samples with the similarities more than 0.92.The chlorogenic acid,caffeic acid,cichoric acid,baicalin,wogonoside,baicalein and wogonin showed good linear relationship with the peak area in the ranges of 8.447-84.470 μg/mL,18.22-182.20 μg/mL,16.01-160.10 μg/mL,29.58-295.80 μg/mL,20.05-200.50 μg/mL,15.91-159.10 μg/mL,8.507-85.070 μg/mL($r \geq 0.9996$),respectively. The average recoveries were 99.56%,99.08%,99.36%,100.67%,99.37%,99.78%,98.94%,and the RSDs were 0.47%,0.78%,0.90%,0.87%,0.60%,0.87%,1.00%($n=6$),respectively. The samples of 11 batches of Kangyan Tuire Tablets could be divided into two categories. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and quantitative determination method of Kangyan Tuire Tablets have good repeatability,accuracy and stability,which can be used for the quality evaluation of Kangyan Tuire Tablets.

Key words: Kangyan Tuire Tablets;chlorogenic acid;caffeic acid;cichoric acid;baicalin;wogonoside;baicalein;wogonin;fingerprint;content determination

抗炎退热片收载于 2015 年版《中国药典(一部)》,由蒲公英、黄芩 2 味中药按 1:1 加工制备而成,具有清热解毒、消肿散结功效,用于治疗肺胃热盛所致的咽喉肿痛、疮痍疔疖、红肿热痛诸症^[1]。方中蒲公英为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲公英 *Taraxacum borealisinense* Kitam. 或同属数种植物的干燥全草,属药食同源中药材,有抑菌抗炎、利胆保肝、通乳、健脾等药理作用,常用于治疗慢性咽喉炎、乳腺炎、尿路感染等疾病,含有酚酸类、黄酮类、植物甾醇

类、香豆素类等多种有效成分,常以绿原酸、咖啡酸及菊苣酸等酚酸类成分作为质量控制的指标性成分^[2-4]。黄芩来源于唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等黄酮类成分是其重要活性成分。具有泻火解毒、清热燥湿、凉血止血、安胎利尿功效^[5-6]。目前,多家企业生产的抗炎退热片的质量标准仅对黄芩中的指标成分黄芩苷进行了含量测定,难以全面反映该制剂的内在质量。指纹图谱技术作为多组分复杂样品的质量控制方法,具有整体

第一作者:肖何芳,男,大学本科,药师,研究方向为药品质量研究及临床药学,(电子信箱)420784762@qq.com。

性和模糊性特点,实现了对待测样品内在化学成分的整体质量和综合评价的全面控制^[7-8]。本研究采用高效液相色谱(HPLC)指纹图谱技术构建了抗炎退热片的指纹图谱,同时测定了绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素7种成分的含量,并结合聚类分析对其含量测定结果进行综合分析,旨在多角度、多技术、更全面地控制抗炎退热片的质量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪,包括 2695 四元梯度泵,2695 自动进样器,2489 紫外可见光检测器,Empower3 色谱工作站(美国沃特世公司);AUW-220D 型电子天平(日本岛津公司,精度为 0.01 mg);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山超声波仪器有限公司,功率为 500 W,频率为 40 kHz)。

1.2 试药

绿原酸对照品(批号为 110753-201817,纯度为 96.8%),咖啡酸对照品(批号为 110885-201703,纯度为 99.7%),菊苣酸对照品(批号为 111752-201703,纯度为 97.6%),黄芩苷对照品(批号为 110715-201821,纯度为 95.4%),汉黄芩苷对照品(批号为 112002-201702,纯度为 98.5%),黄芩素对照品(批号为 111595-201808,纯度为 97.9%),汉黄芩素对照品(批号为 111514-201706,纯度为 100.0%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯,批号为 AS192217),甲醇(色谱纯,批号为 MS1923814),均购自德国 Merck 公司;磷酸(分析纯,批号为 20181117,西陇科学股份有限公司);试验用水为纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);抗炎退热片[天津美伦医药集团有限公司,批号分别为 20180123(S1),20180219(S2),20180317(S3),20180421(S4),20180519(S5),20180614(S6),20180908(S7),20181015(S8),20181103(S9),171027(S10),171205(S11),规格为每片 0.25 g]。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[9-12]与系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil Plus C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.5% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min 时 8% A,10~22 min 时 8% A→35% A,22~30 min 时 35% A→48% A,30~45 min 时 48% A→88% A,45~60 min 时 88% A→8% A);流速:0.85 mL/min;检测波长:328 nm(0~30 min,绿原酸、咖啡酸、菊苣酸),280 nm(30~60 min,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素);柱温:40℃;进样量:10 μL。分别精密吸取供试品溶液、混合对照品溶液各 10 μL,按拟订色谱条件进样,7 种成分间的分离度均大于 1.5,拖尾因子均小于

1.29,理论板数按绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰计均大于 8 600。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:分别取绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品适量,精密称定,用 50% 甲醇溶解,超声处理,制成质量浓度分别为 1.689 5,3.645 3,3.202 9,5.916 3,4.010 7,3.182 6,1.701 4 mg/mL 的混合对照品贮备液。

供试品溶液:取样品 20 片,除去糖衣,研细,取约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 棕色容量瓶中,加入 35 mL 50% 甲醇溶液,室温超声处理(功率为 400 W,频率为 40 kHz)40 min 后取出,放冷至室温,用 50% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。室温避光保存。

2.3 HPLC 方法学考察及指纹图谱建立

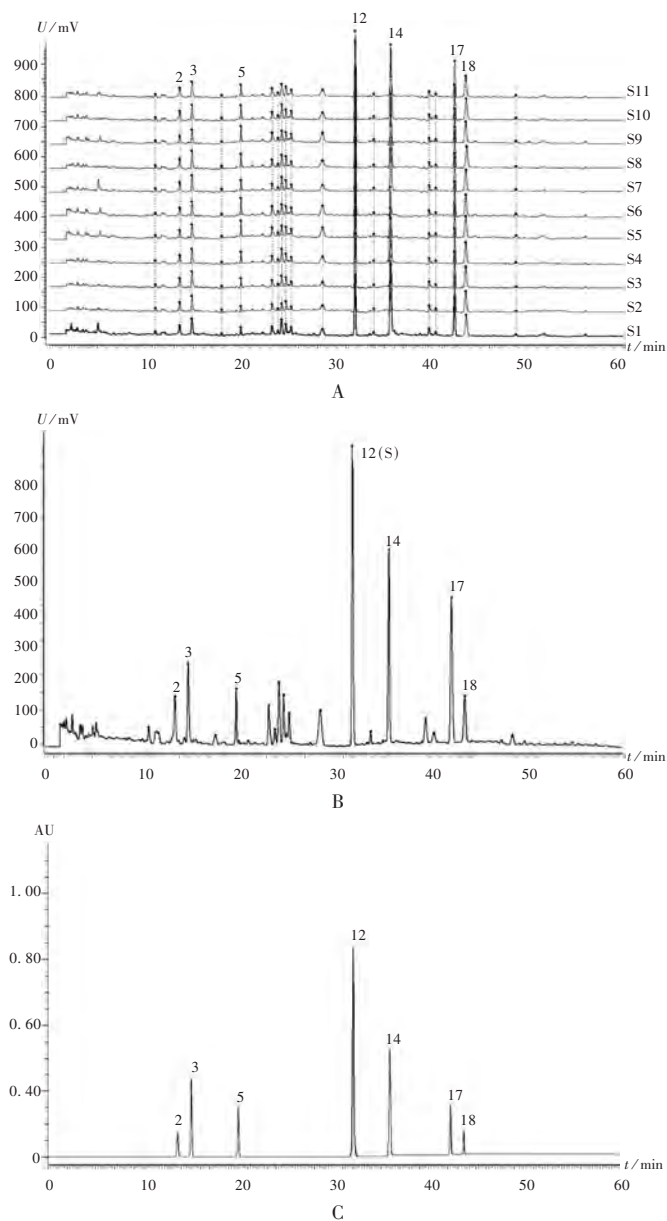
精密度试验:取样品[批号为 20181015(S8)],依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件连续进样 5 次,每次 10 μL,记录色谱图,以黄芩苷为参比峰。结果各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 0.77% 和 0.24% (n=5),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品[批号为 20181015(S8)],依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件分别于 0,5,10,15,20,24 h 时进样分析,记录色谱图,以黄芩苷为参比峰。结果各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 1.08% 和 0.43% (n=6),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重复性试验:取样品[批号为 20181015(S8)],依法平行制备供试品溶液 6 份,按拟订色谱条件进样分析,记录色谱图,以黄芩苷为参比峰。结果各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 1.05% 和 0.55% (n=6),表明方法重复性良好。

指纹图谱的建立及相似度分析:取样品(S1~S11),依法分别制备 11 批供试品溶液,按拟订色谱条件对 11 批样品进行检测分析,记录色谱数据,将 11 批样品的色谱数据的 AIA 文件导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版)软件进行分析,得 HPLC 指纹图谱,详见图 1。1~11 号样品与对照图谱的相似度分别为 0.997,0.965,0.996,0.949,0.975,0.961,0.929,0.998,0.939,0.957,0.981,均大于 0.92,质量稳定,符合指纹图谱相关要求。

共有峰指认:采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版)软件对 11 批样品的 HPLC 图谱进行比较和分析。结果 11 批样品共有 19 个共有峰,通过与混合对照品溶液图谱保留时间和紫外光谱图对照,指出 2 号峰为绿原酸,3 号峰为咖啡酸,5 号峰为菊苣酸,12 号峰为黄芩苷,14 号峰为汉黄芩苷,17 号峰为汉黄芩素,18 号为黄芩素。在共有峰中,以 12 号峰的面积最大



2. 绿原酸 3. 咖啡酸 5. 菊苣酸 12. 黄芩苷
14. 汉黄芩苷 17. 黄芩素 18. 汉黄芩素

A. 样品叠加指纹图谱 B. 样品指纹图谱 C. 混合对照品溶液色谱图

图 1 高效液相色谱指纹图谱及色谱图

且峰位居中,分离完全,稳定性较好,设为参照峰(S),计算其他共有峰对 11 号峰的相对保留时间和相对峰面积及其 *RSD*。详见表 1。

2.4 多指标成分含量测定

2.4.1 方法学考察

线性关系考察:精密量取 2.2 项下混合对照品贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 100 mL 容量瓶中,以 50% 甲醇稀释至刻度,制得系列对照品溶液,室温避光保存,按拟订色谱条件进样分析,记录色谱图。以对照品溶液质量浓度($X, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程及相关系数(r),详

表 1 11 批样品 HPLC 图谱共有峰的相对保留时间和相对峰面积

峰号	相对保留时间		相对峰面积	
	$\bar{X}$	<i>RSD</i> (%)	$\bar{X}$	<i>RSD</i> (%)
1	0.345 1	0.29	0.048 2	0.49
2	0.422 1	0.37	0.184 4	0.88
3	0.469 2	0.56	0.304 3	2.05
4	0.562 8	0.18	0.060 1	0.86
5	0.625 4	0.22	0.241 1	1.32
6	0.725 5	0.49	0.160 3	1.04
7	0.737 9	0.36	0.082 4	0.89
8	0.756 7	0.44	0.208 5	0.87
9	0.766 1	0.39	0.167 9	1.02
10	0.787 9	0.21	0.099 9	0.77
11	0.894 8	0.30	0.168 2	0.95
12(S)	1.000 0	0.00	1.000 0	0.00
13	1.058 5	0.48	0.067 9	1.72
14	1.124 4	0.55	0.759 9	1.41
15	1.238 6	0.62	0.088 0	0.76
16	1.257 0	0.31	0.064 1	2.08
17	1.319 5	0.42	0.499 9	1.95
18	1.360 2	0.28	0.355 9	2.01
19	1.525 9	0.27	0.039 9	2.12

表 2 7 种指标成分的线性关系考察结果及定量限和检测限($n=6$)

化合物	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	定量限(ng)	检测限(ng)
绿原酸	$Y=14.69X+3.856$	0.999 7	8.447~84.47	0.61	0.22
咖啡酸	$Y=50.25X+1.745$	0.999 6	18.22~182.2	0.98	0.37
菊苣酸	$Y=25.93X-5.297$	0.999 8	16.01~160.1	1.03	0.33
黄芩苷	$Y=67.31X-9.922$	0.999 9	29.58~295.8	1.82	0.64
汉黄芩苷	$Y=30.72X+2.025$	0.999 7	20.05~200.5	1.25	0.46
黄芩素	$Y=16.68X+8.633$	0.999 6	15.91~159.1	0.72	0.29
汉黄芩素	$Y=22.82X+7.104$	0.999 8	8.507~85.07	0.69	0.27

见表 2。结果表明,7 种成分质量浓度在各自范围内与峰面积线性关系良好。分别取峰面积信噪比(S/N)=10 和 $S/N=3$ 时的混合对照品溶液质量浓度考察定量限和检测限,结果见表 2。

精密度试验:精密吸取 2.2 项下混合对照品贮备液 10 μL ,按拟订色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 *RSD* 分别为 0.44%, 0.56%, 0.67%, 0.51%, 0.72%, 0.64%, 0.69% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为 20181015),依法制备供试品溶液,分别于 0, 4, 8, 12, 20, 24 h 时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的 *RSD* 分别为 0.61%, 0.74%, 0.81%, 0.52%, 0.90%, 0.65%, 0.73% ($n=6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为 20181015)样品,共 6 份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,并计算 7 种成分的含量及其 *RSD*。结果绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均含量分别为 0.936 1, 1.883 4, 1.669 5, 3.811 7, 2.200 6, 1.673 2, 0.860 2 mg/g, *RSD* 分别为 0.78%, 0.89%, 1.05%, 0.75%, 0.91%, 0.95%, 1.02% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为 20181015)样品 6 份,每份 0.5 g,精密称定,分别置 50 mL 棕色容量瓶中并精密加入 2.2 项下混合对照品贮备液 0.3 mL,依法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,计算各成分的加样回收率。结果见表 3。

2.4.2 样品含量测定

取 S1~S11 号样品,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法分别计算各成分的含量。结果见表 4。11 批样品中,绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量分别为 0.930 1~0.938 8 mg/g, 1.878 6~1.887 2 mg/g, 1.661 4~1.673 9 mg/g, 3.807 6~3.815 8 mg/g, 2.196 9~2.206 1 mg/g, 1.668 2~1.679 9 mg/g, 0.855 9~0.865 8 mg/g。

2.5 聚类分析

根据系统聚类分析(CA)分到同一类的样品具有很大的相似性,而不同类间的样品会有相异性^[13-14]。采用 SPSS 22.0 统计学软件,应用组间均联法,以欧氏距离平方为测度,采用系统聚类分析法进行模式识别分析。聚类分析树状图见图 2。可见,类间距离为 15~25 时,11 批样品被分成两大类:样品 S2, S7, S6, S10, S11, S4, S9, S5 为一类,与对照指纹图谱相似度在 0.929~0.981 之间;样品 S1, S8, S3 为一类,相似度与对照指纹图谱大于 0.995。聚类分析结果与相似度结果基本一致。这可能是由于药材原材料质量、产地及生产工艺等存在差异所致。

2.6 含量测定结果分析

将 11 批样品中 7 种成分的含量测定结果输入 SPSS 22.0 统计学软件的“描述性分析”,结果见表 5 及图 3。可见,7 种成分含量标准差值与平均值无明显差异,即 11 批样品中 7 种成分含量无异常值,表明样品抗炎退热片产品性质稳定。

3 讨论

为实现绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量的同时测定,本研究中采用 DAD 在 200~400 nm 波长范围内扫描,为使各成分均在其最大吸收波长处进行测定,采用在不同时段切换不同检测波长的方法,即 0~30 min 检测波长为 328 nm,检测绿

表 3 抗炎退热片 7 种成分加样回收试验结果($n=6$)

成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	<i>RSD</i> (%)
绿原酸	0.500 7	0.468 7	0.506 9	0.976 2	100.12	99.56	0.47
	0.501 2	0.469 2	0.506 9	0.975 5	99.88		
	0.511 6	0.478 9	0.506 9	0.981 9	99.23		
	0.512 2	0.479 5	0.506 9	0.981 7	99.07		
	0.551 7	0.516 4	0.506 9	1.018 9	99.13		
	0.550 9	0.515 7	0.506 9	1.022 4	99.96		
咖啡酸	0.500 7	0.943 1	1.093 6	2.021 5	98.61	99.08	0.78
	0.501 2	0.943 9	1.093 6	2.037 6	100.01		
	0.511 6	0.963 5	1.093 6	2.036 2	98.09		
	0.512 2	0.964 7	1.093 6	2.056 9	99.87		
	0.551 7	1.039 1	1.093 6	2.124 8	99.28		
	0.550 9	1.037 6	1.093 6	2.115 9	98.60		
菊苣酸	0.500 7	0.835 9	0.960 8	1.779 1	98.17	99.36	0.90
	0.501 2	0.836 8	0.960 8	1.798 2	100.06		
	0.511 6	0.854 1	0.960 8	1.805 4	99.01		
	0.512 2	0.855 1	0.960 8	1.805 9	98.96		
	0.551 7	0.921 1	0.960 8	1.888 5	100.69		
	0.550 9	0.919 7	0.960 8	1.873 5	99.27		
黄芩苷	0.500 7	1.908 5	1.774 9	3.709 8	101.49	100.67	0.87
	0.501 2	1.910 4	1.774 9	3.674 3	99.38		
	0.511 6	1.950 1	1.774 9	3.728 4	100.19		
	0.512 2	1.952 4	1.774 9	3.733 2	100.33		
	0.551 7	2.102 9	1.774 9	3.908 2	101.71		
	0.550 9	2.099 9	1.774 9	3.891 8	100.96		
汉黄芩苷	0.500 7	1.101 8	1.203 2	2.308 5	100.29	99.37	0.60
	0.501 2	1.102 9	1.203 2	2.288 2	98.51		
	0.511 6	1.125 8	1.203 2	2.318 4	99.12		
	0.512 2	1.127 1	1.203 2	2.325 8	99.63		
	0.551 7	1.214 1	1.203 2	2.411 9	99.55		
	0.550 9	1.212 3	1.203 2	2.405 1	99.14		
黄芩素	0.500 7	0.837 8	0.954 8	1.803 0	101.09	99.78	0.87
	0.501 2	0.838 6	0.954 8	1.798 6	100.54		
	0.511 6	0.856 0	0.954 8	1.803 3	99.21		
	0.512 2	0.857 0	0.954 8	1.802 5	99.03		
	0.551 7	0.923 1	0.954 8	1.868 4	99.01		
	0.550 9	0.921 8	0.954 8	1.874 9	99.82		
汉黄芩素	0.500 7	0.430 7	0.510 4	0.931 7	98.16	98.94	1.00
	0.501 2	0.431 1	0.510 4	0.932 7	98.28		
	0.511 6	0.440 1	0.510 4	0.942 6	98.45		
	0.512 2	0.440 6	0.510 4	0.951 6	100.12		
	0.551 7	0.474 6	0.510 4	0.986 6	100.31		
	0.550 9	0.473 9	0.510 4	0.975 7	98.32		

原酸、咖啡酸及菊苣酸;30~60 min 检测波长为 280 nm,检测黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素。考察流动相时,选用了乙腈-水系统、甲醇-水系统、乙腈-磷酸系统,发现在流动相中加入一定比例的酸有助于改善峰形;也比较了乙腈-磷酸(0.1%, 0.3%, 0.5%)溶液、甲

表4 7种成分含量测定结果(mg/g, n=3)

编号	绿原酸	咖啡酸	菊苣酸	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
S1	0.936 0	1.883 1	1.669 2	3.811 4	2.200 3	1.673 1	0.865 8
S2	0.935 2	1.881 8	1.666 3	3.810 2	2.199 1	1.671 0	0.858 6
S3	0.936 3	1.883 8	1.669 7	3.811 8	2.200 9	1.673 6	0.860 5
S4	0.938 5	1.885 6	1.671 1	3.815 8	2.203 4	1.675 9	0.864 1
S5	0.930 1	1.880 2	1.661 4	3.808 9	2.198 2	1.669 3	0.856 9
S6	0.937 6	1.886 6	1.672 7	3.814 9	2.204 2	1.677 8	0.864 3
S7	0.934 7	1.879 8	1.662 2	3.807 6	2.197 8	1.668 5	0.856 1
S8	0.936 1	1.883 4	1.669 5	3.811 7	2.200 6	1.673 2	0.860 2
S9	0.936 9	1.883 9	1.670 8	3.812 2	2.201 9	1.674 1	0.861 5
S10	0.938 8	1.887 2	1.673 9	3.815 5	2.206 1	1.679 9	0.862 4
S11	0.932 5	1.878 6	1.663 1	3.807 4	2.196 9	1.668 2	0.855 9

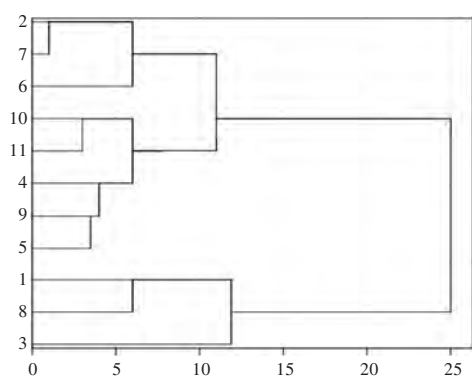


图2 11批抗炎退热片聚类分析树状图

表5 抗炎退热片中7种有效成分含量分析结果

统计值	绿原酸	咖啡酸	菊苣酸	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
平均值(mg/g)	0.912 2	1.754 3	1.555 4	5.963 5	2.150 9	1.593 0	0.833 6
标准差	0.081 3	0.446 0	0.390 6	7.454 5	0.172 8	0.277 4	0.093 4
标准误差	0.023 4	0.128 7	0.112 7	2.151 9	0.049 9	0.080 1	0.026 9
均值95%置信区间下限	0.860 5	1.470 9	1.307 2	1.227 1	2.041 0	1.416 7	0.774 2
均值95%置信区间上限	0.963 9	2.037 7	1.803 6	10.699 9	2.260 8	1.769 3	0.892 9

醇-磷酸(0.1%, 0.3%, 0.5%)溶液进行梯度洗脱。结果表明,以乙腈-0.5%磷酸盐水溶液为流动相可得到HPLC色谱图峰数量最多且分离度好。曾比较不同提取溶剂(甲醇、乙醇、80%甲醇、50%甲醇)、提取方式(浸渍过夜、加热回流、超声提取)、提取时间(40, 35, 30 min)的效果,结果以50%甲醇溶液超声提取40 min时,各待测成分提取率高。

本研究中建立的抗炎退热片指纹图谱,可对其质量进行全面综合评价和分析;建立的HPLC法可同时测定抗炎退热片中7种成分的含量,方法简单有效、结果准确、精密度好,可用于抗炎退热片中绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量的同时测定,为有效控制产品质量提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 947.

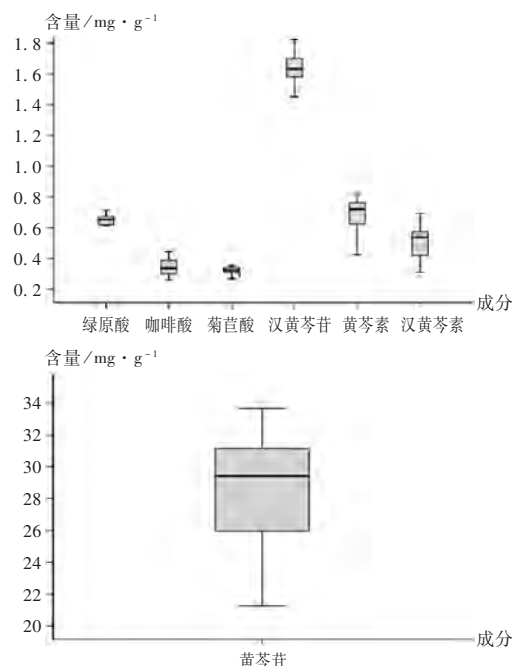


图3 抗炎退热片中7种成分的含量范围

- [2] 许先猛,董文宾,卢军,等. 蒲公英的化学成分和功能特性的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 1623-1627.
- [3] 王亚茹,李雅萌,杨娜,等. 蒲公英属植物的化学成分和药理作用研究进展[J]. 特产研究, 2017, 9(4): 67-75.
- [4] 熊富良,吴珊珊,李心愿,等. 蒲公英抗肿瘤活性的研究进展[J]. 中国药师, 2016, 19(7): 1363-1366.
- [5] 吉晓丽. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医临床研究, 2017, 9(9): 128-129.
- [6] 张前,杨浩,陈博,等. 黄芩苷防治中枢神经系统疾病的研究进展[J]. 中国药师, 2017, 20(2): 327-331.
- [7] 杨方良,张晶,孙国祥,等. 中药组方指纹图谱研究方法和思路[J]. 色谱, 2016, 34(7): 715-725.
- [8] 李强,杜思邈,张忠亮,等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3095-3096.
- [9] 刘燕,兰瑞容,兑靖冬,等. HPLC法同时测定蒲公英中单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2017, 20(9): 1677-1679.
- [10] 孙菲,孙欣,金荣. 反相高效液相色谱法同时测定香菊胶囊中绿原酸和咖啡酸含量[J]. 中国药业, 2016, 25(9): 65-67.
- [11] 张建民,张振巍,李月梅. HPLC法测定13个不同产地酒炙黄芩中4种化学成分[J]. 中国药师, 2018, 21(2): 253-256.
- [12] 杨世艳,何兵,张燕. HPLC同时测定银黄颗粒中7种有机酸及4种黄酮类成分[J]. 中草药, 2013, 44(3): 301-304.
- [13] 高微,陈明生,韦广辉,等. 尖尾凤药材的HPLC指纹图谱建立及聚类分析和主成分分析[J]. 中国药房, 2018, 29(16): 2215-2219.
- [14] 黄萌萌,唐颂豪,陈彦,等. 排石颗粒HPLC指纹图谱及化学模式识别分析[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2768-2772.

(收稿日期: 2019-12-09; 二次修回日期: 2020-06-14)