

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)13-0093-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.13.017



高效液相色谱法同时测定翘梳牙痛颗粒中5种成分含量

孙艳涛¹, 翟兆玲¹, 曹大明², 马帅¹, 安佰平^{1△}, 毕春艳¹

(1. 山东省淄博市食品药品检验研究院, 山东 淄博 255086; 2. 荣昌制药 < 淄博 > 有限公司, 山东 淄博 255086)

摘要:目的 建立同时测定翘梳牙痛颗粒中栀子苷、连翘酯苷 A、异阿魏酸、连翘苷、甘草酸含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters Symmetry Shield RP C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长分别为 240 nm(栀子苷)、328 nm(连翘酯苷 A)、322 nm(异阿魏酸)、202 nm(连翘苷)、252 nm(甘草酸), 柱温为 40 °C, 进样量为 10 μL。结果 栀子苷、连翘酯苷 A、异阿魏酸、连翘苷、甘草酸的质量浓度分别在 58.55~292.73 μg/mL、30.02~150.08 μg/mL、2.33~11.63 μg/mL、4.72~23.61 μg/mL、7.29~36.43 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r \geq 0.9997$, $n=6$); 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$); 平均加样回收率分别为 98.94%, 99.42%, 97.70%, 99.83%, 100.51%, RSD 分别为 0.67%, 1.33%, 1.59%, 1.30%, 2.07% ($n=6$)。3 批样品中上述 5 种成分的平均含量分别为 13.98, 7.27, 0.58, 1.12, 1.87 mg/g。结论 所建立的方法操作简便、结果准确、重复性好, 可用于同时测定翘梳牙痛颗粒中 5 种成分的含量。

关键词: 翘梳牙痛颗粒; 高效液相色谱法; 多成分含量测定

Simultaneous Determination of Five Components in Qiaozhi Yatong Granules by HPLC

Sun Yantao¹, Zhai Zhaoling¹, Cao Daming², Ma Shuai¹, An Baiping^{1△}, Bi Chunyan¹

(1. Zibo Institute for Food and Drug Control, Zibo, Shandong 255086, China; 2. Rongchang Pharmaceuticals < Zibo > Co. Ltd., Zibo, Shandong 255086, China)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of geniposide, forsythoside A, isoferulic acid, forsythin, and glycyrrhizic acid in Qiaozhi Yatong Granules. **Methods** The chromatographic column was Waters Symmetry Shield RP C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was set at 240 nm for geniposide, 328 nm for forsythoside A, 322 nm for isoferulic acid, 202 nm for forsythin, and 252 nm for glycyrrhizic acid, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of geniposide, forsythoside A, isoferulic acid, forsythin, and glycyrrhizic acid were 58.55-292.73 μg/mL, 30.02-150.08 μg/mL, 2.33-11.63 μg/mL, 4.72-23.61 μg/mL, and 7.29-36.43 μg/mL ($r \geq 0.9997$, $n=6$), respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0% ($n=6$). The average recovery rates of geniposide, forsythoside A, isoferulic acid, forsythin, and glycyrrhizic acid were 98.94%, 99.42%, 97.70%, 99.83%, and 100.51%, with RSDs of 0.67%, 1.33%, 1.59%, 1.30%, and 2.07% ($n=6$), respectively. The average contents of the above five components in the three batches of samples were 13.98, 7.27, 0.58, 1.12, and 1.87 mg/g, respectively. **Conclusion** The established method is simple, accurate, and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of five components in Qiaozhi Yatong Granules.

Key words: Qiaozhi Yatong Granules; HPLC; content determination of multi-components

翘梳牙痛颗粒由连翘、栀子、麻黄、桂枝、升麻、桔梗、甘草 7 味中药材组方, 有消肿止痛、清热泻火功效, 临床多用于治疗风火牙痛、胃火牙痛等, 症见牙齿疼痛、牙龈红肿。其现行质量标准为《国家食品药品监督

第一作者: 孙艳涛, 男, 大学本科, 副主任中药师, 研究方向为药品检验与质量控制, (电子信箱)15605339172@wo.cn。

△通信作者: 安佰平, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药品检验与药物分析, (电子信箱)baiping2011an@163.com。

蓝刺头质量标准提高研究[J]. 中南药学, 2025, 23(7): 2035-2040.

[11] 张春蕊, 张书毓, 马晓云, 等. HPLC 法同时测定双黄连合剂中绿原酸、连翘酯苷 A 和黄芩苷的含量[J]. 解放军药学报, 2025, 38(2): 198-201.

[12] 周跃华, 路金才, 周娟, 等. 关于中药新药复方制剂“整体鉴别”新模式的思考[J]. 中草药, 2021, 52(8): 2199-2204.

[13] 杨玉军, 孙爱萍, 刘琪, 等. 天麻钩藤合剂质量标准的研究[J]. 中南药学, 2018, 16(2): 228-232.

[14] 丁辉, 贾倩, 朱仁愿, 等. 医院制剂天麻熄风胶囊质量标准研究[J]. 中国医药科学, 2023, 13(21): 62-66.

[15] 林昶, 刘苏情, 张静, 等. 基于双标线性校正技术的白及多组分定性分析[J]. 药物分析杂志, 2025, 45(3): 392-399.

[16] 祁显彤, 孟硕, 彭勃, 等. 基于质量控制状况、临床应用及网络药理学得天麻质量标志物预测分析[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(13): 1329-1338.

[17] 凌成利, 雷昌, 刘洪兵, 等. 不同产地天麻标准汤剂的制备与质量评价研究[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(1): 43-47.

(收稿日期: 2025-08-12; 修回日期: 2025-12-15)

管理总局 国家药品标准:翘榭牙痛颗粒》[WS - 5725 (B - 0725) - 2014Z][¹],但含量测定项仅有榭子中的榭子苷,单一含量测定项目难以全面控制和评价本制剂的内在质量。连翘清心而散上焦之炎,其中连翘酯苷A、连翘苷为清热解毒、抗炎的活性成分[²⁻⁵]。榭子可泻火解毒、抗炎镇痛,榭子苷为其主要活性成分[⁶⁻⁹]。异阿魏酸具有解热、镇痛、消炎作用,为升麻中主要酚酸类成分[¹⁰⁻¹¹]。甘草可疏风散邪、清热解毒,甘草酸具有明确的抗炎、抗氧化、抗过敏等药理学活性[¹²⁻¹³]。关于翘榭牙痛颗粒的多组分含量测定研究尚未见报道,本研究中参考文献[14 - 22],建立了同时测定制剂中连翘酯苷A、连翘苷、榭子苷、异阿魏酸、甘草酸5种成分含量的高效液相色谱(HPLC)法。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

MS105DU型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);LC - 20A型HPLC仪(日本Shimadzu公司),配有SPD - M20A型二极管阵列检测器(PDA)和LC - solution色谱工作站;KS - 300E型超声波清洗器(宁波海曙科生超声设备有限公司,功率为300 W,频率为40 kHz)。

1.2 试药

翘榭牙痛颗粒(威海人生药业集团股份有限公司,批号分别为230501,230502,230504);榭子苷对照品(批号为110749 - 202320,含量为98.1%),连翘酯苷A对照品(批号为111810 - 202209,含量为96.4%),异阿魏酸对照品(批号为111698 - 201904,含量为99.3%),连翘苷对照品(批号为110821 - 202318,含量为95.8%),甘草酸铵对照品(批号为110731 - 202122,含量为94.4%),甘草酸质量 = 甘草酸铵质量 / 1.0207,均购自中国食品药品检定研究院;乙腈(批号为20240110),甲醇(批号为20240923),磷酸(批号为20240701),均为色谱纯,购自天津市科密欧化学试剂有限公司;水为自制纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry Shield RP C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A) - 0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 17 min时4%A → 18%A,17 ~ 25 min时18%A,25 ~ 35 min时18%A → 20%A,35 ~ 45 min时20%A → 22%A,45 ~ 70 min时22%A → 50%A,70 ~ 72 min时50%A → 100%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:240 nm(0 ~ 25 min,榭子苷),328 nm(25 ~ 30 min,连翘酯苷A),322 nm(30 ~ 40 min,异阿魏酸),202 nm(40 ~ 55 min,连翘苷),252 nm(55 ~ 80 min,甘草酸);柱温:40 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

分别取榭子苷、连翘酯苷A、异阿魏酸、连翘苷、甘草酸铵对照品各适量,精密称定,加50%甲醇溶液溶解并定容,制成榭子苷、连翘酯苷A、异阿魏酸、连翘苷、甘草酸质量浓度分别为292.73,150.08,11.63,23.61,36.43 μg/mL的混合对照品贮备液;精密量取贮备液5 mL,置10 mL容量瓶中,加50%甲醇溶液定容,即得混合对照品溶液。取翘榭牙痛颗粒,研细,取0.5 g,精密称定,再精密加入50%甲醇溶液50 mL,称定质量,超声处理(功率为300 W,频率为40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用50%甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,即得供试品溶液。根据处方比例和制备工艺,分别制备缺榭子、连翘、升麻和甘草的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备相应阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:精密量取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,目标峰与其他组分的分离效果良好,分离度均 ≥ 1.5,在与混合对照品溶液相同保留时间处均有相应色谱峰出现,且阴性对照无干扰。详见图1。

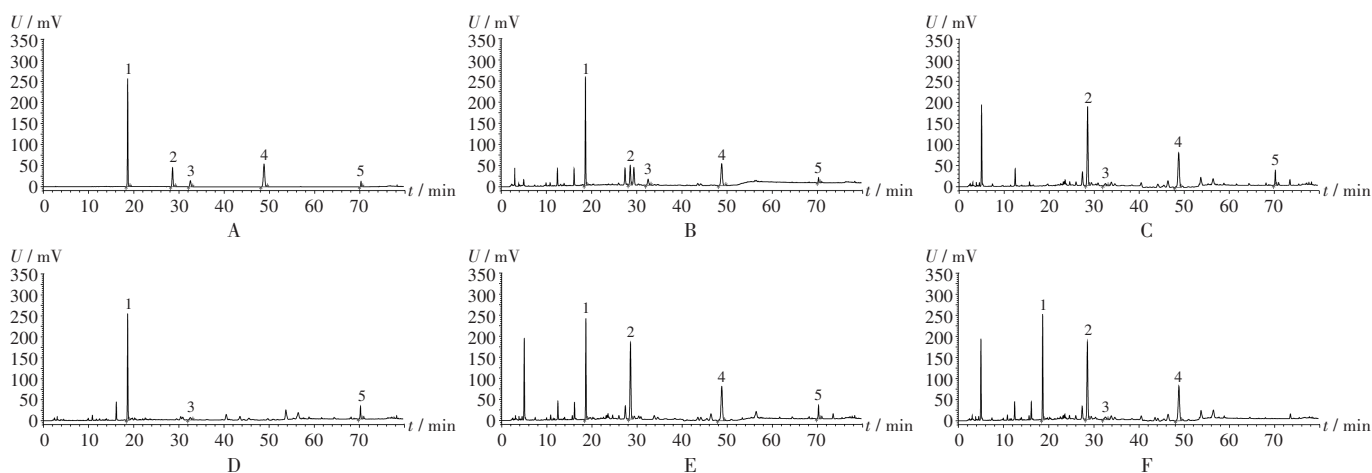
线性关系考察:分别量取2.2项下混合对照品贮备液4,7,10,13,16,20 mL,置不同20 mL容量瓶中,加50%甲醇溶液定容,即得系列质量浓度的混合对照品溶液。取上述溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,以质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1,表明榭子苷、连翘酯苷A、异阿魏酸、连翘苷、甘草酸在各质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2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,记录各色谱峰的峰面积。结果见表1,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温放置0,4,8,12,16,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰的峰面积。结果见表1,表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为230504)适量,精密称定,平行6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰的峰面积,并计算含量。结果见表1,表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为230504)0.25 g,精密称定,平行6份,分别精密加入2.2项下混合对照品溶液25 mL,再精密加入50%甲醇溶液25 mL,



1. 栀子苷 2. 连翘酯苷 A 3. 异阿魏酸 4. 连翘苷 5. 甘草酸

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C - F. 阴性对照品溶液(分别缺栀子、连翘、升麻、甘草)

图1 高效液相色谱图

1. Geniposide 2. Forsythoside A 3. Isoferulic Acid 4. Forsythin 5. Glycyrrhizic acid

A. Mixed reference solution B. Test solution C - F. Negative reference solution (lacking Gardeniae Fructus, Forsythiae Fructus, Cimicifugae Rhizoma, and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 方法学考察结果(n=6)

Tab. 1 Results of the methodological investigation (n=6)

| 成分 | 回归方程 | r | 线性范围 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | RSD(%) | | |
|-------|--------------------------|--------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | | | 精密度 试验 | 稳定性 试验 | 重复性 试验 |
| 栀子苷 | $Y = 14745.1X + 10656.7$ | 0.9999 | 58.55~292.73 | 0.26 | 0.42 | 0.76 |
| 连翘酯苷A | $Y = 8818.03X - 2494.20$ | 0.9999 | 30.02~150.08 | 0.65 | 0.98 | 0.92 |
| 异阿魏酸 | $Y = 48749.7X - 53.6051$ | 0.9997 | 2.33~11.63 | 1.08 | 0.53 | 1.58 |
| 连翘苷 | $Y = 102868X + 778.037$ | 0.9999 | 4.72~23.61 | 0.46 | 0.69 | 0.65 |
| 甘草酸 | $Y = 6855.57X - 247.791$ | 0.9999 | 7.29~36.43 | 0.92 | 1.86 | 1.96 |

按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰的峰面积,并计算加样回收率。结果见表2,表明方法准确度良好。

2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为230501,230502,230504)样品各适量,精密称定,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰的峰面积,按外标法计算各成分的含量。结果见表3。

3 讨论

3.1 其他检测成分考察

为更全面地评价翘榧牙痛颗粒的质量,还对麻黄中的麻黄碱、伪麻黄碱,桂枝中的桂皮醛、肉桂酸,甘草中的甘草苷进行了含量测定,结果以上成分无法检出或含量很低,无法满足检测要求。故本研究中暂未纳入分析。

3.2 色谱条件考察

色谱柱选择:曾考察Waters Symmetry Shield RP C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), Welch Ultimate LP - C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), Shimadzu ShimNex CS C_{18} 柱

(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), Diamonsil II C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 依利特 Hypersil BDS C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)对含量测定结果的影响。结果色谱柱选择 Waters Symmetry Shield RP C_{18} 柱时,色谱峰峰形良好,分离效果最佳。故色谱柱选择 Waters Symmetry Shield RP C_{18} 柱。

流动相选择:曾考察乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%醋酸溶液、甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸溶液对含量测定结果的影响。结果以甲醇为有机相的色谱体系在梯度洗脱过程中的基线漂移较大,以乙腈为有机相的色谱体系基线更平稳,对比乙腈-0.1%磷酸溶液和乙腈-0.1%醋酸溶液,前者的分离效果和色谱峰峰形均更优。故流动相选择乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱)。

检测波长选择:采用PDA于200~400 nm波长范围内进行光谱扫描,结果栀子苷在240 nm、连翘酯苷A在328 nm、异阿魏酸在322 nm、连翘苷在202 nm、甘草酸在252 nm波长处有最大吸收。故进行波长切换,选择2.1项下波长进行检测。

3.3 供试品溶液制备方法考察

曾考察不同提取溶剂(甲醇、乙醇、70%甲醇溶液、50%甲醇溶液)、不同提取方法(超声提取法、回流提取法)、不同提取时间(20,25,30,35 min)等因素对5种待测成分提取效率的影响,结果不同组合条件下各成分的提取效率存在一定差异。综合比较后确定采用50%甲醇溶液作为提取溶剂,超声提取30 min,不仅操作简便,且提取效率最高。

表2 加样回收试验结果 (n = 6)
Tab. 2 Results of the recovery test (n = 6)

| 成分 | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | \bar{X} (%) | RSD(%) |
|-------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 栀子苷 | 3.642 | 3.659 | 7.220 | 97.79 | 98.94 | 0.67 |
| | 3.659 | 3.659 | 7.266 | 98.58 | | |
| | 3.649 | 3.659 | 7.280 | 99.23 | | |
| | 3.646 | 3.659 | 7.268 | 98.99 | | |
| | 3.648 | 3.659 | 7.293 | 99.62 | | |
| 连翘酯苷A | 3.638 | 3.659 | 7.275 | 99.40 | 99.42 | 1.33 |
| | 1.930 | 1.876 | 3.764 | 97.76 | | |
| | 1.947 | 1.876 | 3.832 | 100.48 | | |
| | 1.941 | 1.876 | 3.796 | 98.88 | | |
| | 1.949 | 1.876 | 3.822 | 99.84 | | |
| 异阿魏酸 | 1.947 | 1.876 | 3.846 | 101.23 | 97.70 | 1.59 |
| | 1.931 | 1.876 | 3.776 | 98.35 | | |
| | 0.148 | 0.145 | 0.290 | 97.93 | | |
| | 0.149 | 0.145 | 0.290 | 97.24 | | |
| | 0.148 | 0.145 | 0.286 | 95.17 | | |
| 连翘苷 | 0.148 | 0.145 | 0.292 | 99.31 | 99.83 | 1.30 |
| | 0.148 | 0.145 | 0.289 | 97.24 | | |
| | 0.148 | 0.145 | 0.292 | 99.31 | | |
| | 0.148 | 0.145 | 0.292 | 99.31 | | |
| | 0.148 | 0.145 | 0.292 | 99.31 | | |
| 甘草酸 | 0.282 | 0.295 | 0.576 | 99.66 | 100.51 | 2.07 |
| | 0.283 | 0.295 | 0.580 | 100.68 | | |
| | 0.282 | 0.295 | 0.578 | 100.34 | | |
| | 0.282 | 0.295 | 0.581 | 101.36 | | |
| | 0.282 | 0.295 | 0.575 | 99.32 | | |
| 甘草酸 | 0.282 | 0.295 | 0.570 | 97.63 | 100.51 | 2.07 |
| | 0.467 | 0.455 | 0.932 | 102.20 | | |
| | 0.469 | 0.455 | 0.938 | 103.08 | | |
| | 0.468 | 0.455 | 0.930 | 101.54 | | |
| | 0.467 | 0.455 | 0.921 | 99.78 | | |
| 0.468 | 0.455 | 0.913 | 97.80 | 100.51 | 2.07 | |
| 0.466 | 0.455 | 0.915 | 98.68 | | | |

表3 样品中5种成分含量测定结果 (mg/g, n = 3)

Tab. 3 Results of the content determination of five components in samples (mg/g, n = 3)

| 批号 | 栀子苷 | 连翘酯苷A | 异阿魏酸 | 连翘苷 | 甘草酸 |
|-----------|-------|-------|------|------|------|
| 230501 | 13.36 | 7.15 | 0.62 | 1.20 | 1.78 |
| 230502 | 14.03 | 6.92 | 0.52 | 1.03 | 1.96 |
| 230504 | 14.55 | 7.74 | 0.59 | 1.13 | 1.87 |
| \bar{X} | 13.98 | 7.27 | 0.58 | 1.12 | 1.87 |

3.4 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于同时测定翘梳牙痛颗粒中5种成分的含量。

参考文献

[1] WS-5725(B-0725)-2014Z 国家食品药品监督管理总局 国家药品标准:翘梳牙痛颗粒[S].
[2] 邓寒霜,李筱玲,王欣,等. 基于 HPLC 指纹图谱和一测多评

多成分定量分析的连翘质量评价研究[J]. 中国药学杂志, 2024,59(15):1429-1437.

[3] 席亚莉,白雅雯,麻春杰,等. 连翘的免疫调节活性成分及作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2023,41(12):194-197.
[4] 王越欣,王梅,李宁,等. 连翘抗炎活性成分及作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2022,40(1):115-120.
[5] 马丽莎,高锦国,张立伟. 青翘清热解暑活性组分及成分筛选[J]. 化学研究与应用,2019,31(2):271-277.
[6] 张嘉豪,呼田,周雪薇,等. 栀子药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2024,26(5):93-98.
[7] 刘聘,刘凤英,黄颖,等. 栀子中栀子苷的研究进展[J]. 农产品加工,2021(23):72-75.
[8] 周新新,崔悦,朱鹤云,等. 栀子的化学成分、药理作用及提取工艺的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2021,42(5):374-376.
[9] 郑玲,张文生. 栀子现代药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2020,13(10):1813-1817.
[10] 梁煜,赵远红. 升麻的功效及药理作用研究进展[J]. 河南中医, 2021,41(3):474-477.
[11] 范孟雪,秦昆明,丁斐,等. Box-Behnken 响应面法结合多指标综合加权法优选升麻中酚酸类成分的提取工艺[J]. 中国药房,2016,27(13):1835-1838.
[12] 韩维维,钟晴,张蓉,等. 甘草有效成分及其作用机制研究进展[J]. 生命的化学,2023,43(12):1956-1962.
[13] 崔园园,刘佳昕,邢博宇,等. 甘草抗炎活性物质基础及其作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2024,42(6):99-103.
[14] 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,2020:75-423.
[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2020:480-483.
[16] 程茜菲. 高效液相色谱法同时测定连翘中连翘酯苷 A、连翘苷和表松脂素含量[J]. 陕西农业科学,2017,63(9):40-42.
[17] 张宇,梁军,夏永刚,等. HPLC 同时测定连翘药材中 5 种特征性成分[J]. 中医药学报,2015,43(1):47-49.
[18] 周坚,莫传丽,陈刚,等. 升麻药材及其颗粒的 HPLC 指纹图谱质量控制研究[J]. 中国现代应用药学,2018,35(2):252-255.
[19] 孙函静,吴样明,邵坚,等. HPLC 双波长法同时测定甘草药材中 5 种活性成分含量及主成分分析[J]. 江西中医药大学学报,2024,36(2):88-93.
[20] 马健锦,李少华,范世明. 高效液相色谱法同时测定栀子中四类活性成分含量的方法探讨[J]. 中国食品药品监管, 2022(11):68-73.
[21] 许文清,魏学涛,马青青,等. 小儿豉翘清热颗粒 HPLC-PAD 指纹图谱的建立及有效成分含量测定[J]. 河南师范大学学报(自然科学版),2018,46(4):60-66.
[22] 戴卉卿,陈承瑜,高进,等. 高效液相色谱法同时测定肝维康片中 8 个活性成分的含量[J]. 今日药学,2023,33(10):749-753.

(收稿日期:2025-02-25;修回日期:2026-01-09)