

## 一测多评法同时测定蒙药古日古木-13 丸中 6 种成分

邬国栋<sup>1</sup>, 郭叶<sup>1</sup>, 李刚<sup>2</sup>, 张耀升<sup>1</sup>, 杨雪苗<sup>1</sup>, 马瑞寅<sup>1</sup>, 张雨生<sup>1</sup>, 张志勇<sup>1</sup>, 安明<sup>1\*</sup>

1. 包头医学院, 内蒙古 包头 014060

2. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010100

**摘要:** 目的 建立古日古木-13 丸中 6 种成分没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的一测多评方法, 验证该方法在古日古木-13 丸质量分析中应用的科学性与可行性。方法 采用 HPLC 法, 以栀子苷为内参物, 建立没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的相对校正因子 ( $f_{s/i}$ ), 并利用  $f_{s/i}$  计算古日古木-13 样品中该 5 种成分的含量, 同时采用外标法计算各成分的含量, 并比较 2 种方法差异。结果 没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的  $f_{s/i}$  分别为 0.481 0、0.906 4、0.170 9、0.971 2、1.261 5。一测多评法与外标法得到的 6 批古日古木-13 丸样品含量测定结果  $RSD < 2.0\%$ , 没有显著差异。结论 以栀子苷为内参物建立  $f_{s/i}$  准确, 易行, 一测多评法可以用于古日古木-13 丸中多指标成分的质量评价。

**关键词:** 古日古木-13 丸; 一测多评法; 没食子酸; 羟基红花黄色素 A; 栀子苷; 鞣花酸; 木香烃内酯; 去氢木香内酯

**中图分类号:** R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)06-1542-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.06.022

## Simultaneous determination of six components in Mongolia medicine Gurigumu-13 Pills by QAMS

WU Guo-dong<sup>1</sup>, GUO Ye<sup>1</sup>, LI Gang<sup>2</sup>, ZHANG Yao-sheng<sup>1</sup>, YANG Xue-miao<sup>1</sup>, MA Rui-yin<sup>1</sup>, ZHANG Yu-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-yong<sup>1</sup>, AN Ming<sup>1</sup>

1. Baotou Medical College, Baotou 014060, China

2. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010100, China

**Abstract: Objective** To establish a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method for the simultaneous determination of six components of gallic acid, hydroxysafflor yellow A, geniposide, ellagic acid, costunolide and dehydrocostus lactone in Gurigumu-13 Pill, which is proved to be a scientific and feasible method in the quality analysis in Gurigumu-13 Pill. **Methods** The relative factor ( $f_{s/i}$ ) of gallic acid, ellagic acid, hydroxysafflor yellow A, costunolide and dehydrocostus lactone were established by HPLC method with geniposide as internal standard, which were used to calculate the content of five constituents in the samples of Gurigumu-13 Pill. Meanwhile, external standard method (ESM) was used to calculate the content of six constituents. The difference between QAMS and ESM was analyzed to evaluate the accuracy of QAMS. **Results** The  $f_{s/i}$  of gallic acid, hydroxysafflor yellow A, ellagic acid, costunolide and dehydrocostus lactone were 0.481 0, 0.906 4, 0.170 9, 0.971 2 and 1.261 5, respectively. The content determination results of six batches of Gurigumu-13 Pill were calculated by the method of QAMS and ESM, with no significant difference in  $RSD < 2.0\%$ . **Conclusion** The  $f_{s/i}$  established in the QAMS method with geniposide as the internal reference substance is accurate and simple. The QAMS method can be used for the multi-index quality evaluation of Gurigumu-13 Pill.

**Key words:** Gurigumu-13 Pill; quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); gallic acid; hydroxysafflor yellow A; geniposide; ellagic acid; costunolide; dehydrocostus lactone

收稿日期: 2019-10-15

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (8156068); 国家自然科学基金资助项目 (21967017); 内蒙古自治区科技重大专项: 新型治疗高磷酸血症稀土创新药物纳米氢氧化镧临床前药理学研究与开发; 内蒙古教育厅大学生创新创业训练计划项目 (201910127008); 内蒙古教育厅大学生创新创业训练计划项目 (201910127011)

**作者简介:** 邬国栋 (1975—), 男, 硕士生导师, 副教授, 主要从事天然药物活性成分研究。Tel: 13474977691 E-mail: wgdzd@126.com

**\*通信作者** 安明 (1972—), 男, 硕士生导师, 教授, 主要从事药物分析研究。Tel: 13847201181 E-mail: 610283014@qq.com

古日古木-13 丸(又名红花清肝十三味丸)在蒙药使用历史中较为广泛,方由红花、麦冬、丁香、莲子、木香、诃子、川楝子、栀子、紫檀香、水牛角浓缩粉、人工牛黄、麝香、银朱 13 味药组成。收载于《中国医学百科全书·蒙医学》《蒙古学百科全书·医学卷》与《中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册)》等重要医药文献中<sup>[1]</sup>。临床上用于治疗眼科类疾病、肝脏类疾病、高脂血症、高血压、“亚玛”病、心绞痛、脑梗死、皮肤病、肾热症等<sup>[2]</sup>。方中红花为主药,具有活血通经、散瘀止痛的作用,主要含有羟基红花黄色素 A、山柰素等成分,其中羟基红花黄色素 A 有较强的抗肿瘤作用;木香为菊科植物木香的干燥根,具有行气止痛、健脾消食的作用,主要含挥发油类成分,单萜及倍半萜内酯为挥发油类主要成分,其中木香内酯、去氢木香内酯、木香烯内酯为倍半萜内酯主要成分;诃子具有涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽的作用,主要含酚酸类、鞣质类、三萜类等成分,具有抗肿瘤、抗病原微生物等药理作用;栀子具有泻火除烦、清热利湿、凉血散瘀的作用,含环烯醚萜苷类成分,主要为栀子苷、去羟栀子苷等成分,栀子含有的栀子苷、番红花苷、番红花酸均能使大鼠和兔的胆汁分泌量增加;关于古日古木-13 丸质量标准文献报道较少,只有测定古日古木-13 丸中单味药成分含量的报道<sup>[3-5]</sup>。

蒙药复方制剂所含成分复杂,在临床治疗方面往往是多成分协同作用,多指标成分控制已经成为中蒙药制剂质量评价的发展趋势。一测多评法是通过测定 1 种廉价、易得且有效的成分,从而实现多种成分同时测定的方法<sup>[6-8]</sup>。本实验通过该方法,以栀子苷为内参物,建立了栀子苷与没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯之间的相对校正因子( $f_{s/i}$ ),利用相对校正因子计算古日古木-13 丸中没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的含量,并与外标法所得结果进行对比,验证所建一测多评法的可行性与准确性。实验结果表明,本实验所建立的方法检测操作简便,重复性好,方法专属性强,为古日古木-13 丸质量的全面评价提供了科学依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Thermo Ultimate3000 高效液相色谱仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;BSA224S-CW 万分之一电子天平、SQP 型十万分之一电子天平,北京赛多利

斯科学仪器有限公司;GenPure UV-TOC/UF 超纯水机,美国赛默飞世尔科技有限公司;AS10200 超声波清洗机,40/60 Hz,北京华瑞博远科技发展有限公司;TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司。

### 1.2 试药

对照品没食子酸(批号 110831-201605,质量分数 90.8%)、鞣花酸(批号 111959-201602,质量分数 89.3%)、木香烯内酯(批号 111524-201710,质量分数 99.5%)、去氢木香内酯(批号 111525-201711,质量分数 99.8%)来源于中国食品药品检定研究院;对照品羟基红花黄色素 A(批号 180323-017,质量分数 98%)来源于内蒙古伏安瓦科技有限公司;对照品栀子苷(批号 MUST-13121310,质量分数 98%)来源于成都曼斯特生物科技有限公司;古日古木-13 丸,包头市蒙医中医医院院内制剂,规格:每 10 丸重 2 g,批号 806221、901112、901113、901114、901115、901117;甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Thermo Synchronis C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以甲醇-乙腈(50:50)为流动相 A,以 0.05%磷酸水溶液为流动相 B,梯度洗脱:0~8 min, 10% A;8~15 min, 10%~40% A;15~20 min, 40% A;20~25 min, 40%~75% A;25~40 min, 75% A;进样量 10 μL;检测波长 271 nm(没食子酸)、403 nm(羟基红花黄色素 A)、238 nm(栀子苷)、254 nm(鞣花酸)、225 nm(木香烯内酯、去氢木香内酯);柱温 30 ℃。色谱图见图 1。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密取没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯对照品储备液适量,混合均匀,加甲醇进行稀释,制成含有不同质量浓度的没食子酸(8、16、24、32、40 μg/mL)、羟基红花黄色素 A(19.658 8、39.317 6、58.976 4、78.635 2、98.294 μg/mL)、栀子苷(18.55、37.10、55.65、74.20、92.75 μg/mL)、鞣花酸(20.21、40.42、60.63、80.84、101.05 μg/mL)、木香烯内酯(8.592、17.184、25.776、34.368、42.960 μg/mL)、去氢木香内酯(8.464、16.928、25.392、33.856、42.320 μg/mL)的混合对照品溶液。

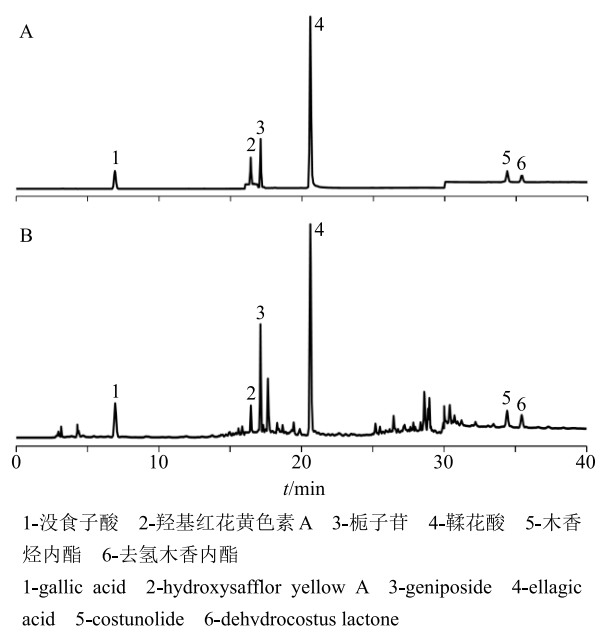


图 1 混合对照品 (A)、古日古木-13 样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed references (A) and gurigumu-13 sample (B)

## 2.3 供试品溶液的制备

取 2.8 g 样品粉末,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密量取甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 40 min,放冷至室温,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,取适量溶液在转速为 5 000 r/min 下离心 10 min,收集上清液,用 0.22  $\mu$ m 微孔滤过膜滤过,收集续滤液,即得供试品溶液。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 线性关系考察** 将“2.2”项下不同质量浓度的混合对照品溶液按照“2.1”项下色谱条件依次进样,以溶液质量浓度作为横坐标 ( $X$ ),峰面积作为纵坐标 ( $Y$ ) 绘制标准曲线,得到没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的回归方程及线性范围分别为没食子酸  $Y=59.200\ 8\ X-0.124\ 1$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围 72.6~363.0 ng; 羟基红花黄色素 A  $Y=31.295\ 8\ X-0.057\ 1$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围 96.4~482.0 ng; 栀子苷  $Y=28.422\ 0\ X-0.123\ 6$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围 181.8~909.0 ng; 鞣花酸  $Y=169.011\ 0\ X-1.664\ 8$ ,  $r=0.999\ 7$ , 线性范围 198.0~990.0 ng; 木香烯内酯  $Y=29.979\ 6\ X-0.228\ 9$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围 85.4~427.0 ng; 去氢木香内酯  $Y=22.624\ 8\ X-0.062\ 5$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围 84.4~422.0 ng。

**2.4.2 精密度试验** 精密吸取“2.2”项下混合对照

品溶液 10  $\mu$ L,以“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次,记录 6 个组分峰面积,结果没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积的 RSD 值分别为 0.39%、0.33%、0.41%、0.50%、0.42%、0.42%,表明在该条件下仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取古日古木-13 丸粉末 2.8 g,精密称定,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,室温放置,分别于 0、3、6、9、12、24 h 按照“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积,没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积 RSD 值分别为 0.88%、0.88%、0.87%、1.63%、1.08%、1.84%,表明该供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

**2.4.4 重复性试验** 取同一批次古日古木-13 丸粉末 (批号 806221),按照“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样,计算没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯含量及 RSD,结果测得 6 个成分平均质量分数分别为 0.843 6、0.575 4、2.282 7、1.287 7、0.744 1、0.816 5 mg/g, RSD 分别为 0.82%、1.41%、0.86%、0.87%、0.67%、0.92%,表明方法重复性良好。

**2.4.5 加样回收试验** 取同一批次古日古木-13 丸粉末 (批号 806221) 共 6 份,每份 1.4 g,精密称定,置 250 mL 具塞锥形瓶中,依次精密量取质量浓度为 1.503 2 mg/mL 没食子酸、0.982 9 mg/mL 羟基红花黄色素 A、1.840 0 mg/mL 鞣花酸、1.063 2 mg/mL 木香烯内酯、1.212 3 mg/mL 去氢木香内酯各 1 mL,1.855 0 mg/mL 栀子苷 2 mL,再按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积,计算加样回收率,结果没食子酸、羟基红花黄色素 A、栀子苷、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的平均加样回收率分别为 98.89%、100.55%、100.08%、101.13%、97.53%、100.45%, RSD 分别为 0.49%、0.43%、0.49%、1.05%、0.56%、0.45%,表明该方法准确度良好。

## 2.5 $f_{s/i}$ 的确定及耐用性考察

**2.5.1  $f_{s/i}$  的测定** 将“2.2”项下混合对照品溶液进样分析,记录各成分峰面积,以栀子苷为内参物,按照下式分别计算没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的  $f_{s/i}$ ,结果见表 1。按照外标法测定内参物峰面积 ( $A_s$ ),用各成分

的  $f_{s/i}$  和内参物的实测值即可计算待测组分的含量。

$$f_{s/i} = f_s f_i = A_s C_i / A_i C_s$$

$A_s$  为栀子苷对照品的峰面积,  $C_s$  为栀子苷对照品的质量浓度,  $A_i$  为待测成分的峰面积,  $C_i$  为待测成分的质量浓度

**2.5.2 不同仪器对  $f_{s/i}$  的影响** 考察了 2 台仪器对  $f_{s/i}$  的影响, 结果见表 2。表明不同仪器对所测组分的  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.5.3 不同色谱柱对  $f_{s/i}$  的影响** 考察了 Thermo synchronis- $C_{18}$  (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Agilent Eclipse XDB- $C_{18}$  (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Shimadzu Shim-pack GIST- $C_{18}$  (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m) 对 5 个组分  $f_{s/i}$  的影响, 结果见表 3。表明 3 根色谱柱对各成分的  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.5.4 不同柱温对  $f_{s/i}$  的影响** 考察了不同柱温(25、

表 1 各组分的  $f_{s/i}$

Table 1  $f_{s/i}$  values of each component

| 进样体积/ $\mu$ L | $f_{\text{栀子苷/没食子酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $f_{\text{栀子苷/鞣花酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/木香烃内酯}}$ | $f_{\text{栀子苷/去氢木香内酯}}$ |
|---------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| 2             | 0.481 4               | 0.906 0                    | 0.175 7              | 0.978 8                | 1.267 4                 |
| 4             | 0.481 5               | 0.906 6                    | 0.167 9              | 0.981 0                | 1.262 8                 |
| 6             | 0.480 6               | 0.904 8                    | 0.171 6              | 0.970 4                | 1.259 6                 |
| 8             | 0.480 9               | 0.906 8                    | 0.170 2              | 0.964 7                | 1.259 8                 |
| 10            | 0.480 7               | 0.907 9                    | 0.169 1              | 0.961 3                | 1.257 7                 |
| 平均值           | 0.481 0               | 0.906 4                    | 0.170 9              | 0.971 2                | 1.261 5                 |
| RSD/%         | 0.08                  | 0.13                       | 1.76                 | 0.88                   | 0.30                    |

表 2 不同仪器对  $f_{s/i}$  的影响

Table 2 Effects of different instruments on  $f_{s/i}$

| 仪器                   | $f_{\text{栀子苷/没食子酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $f_{\text{栀子苷/鞣花酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/木香烃内酯}}$ | $f_{\text{栀子苷/去氢木香内酯}}$ |
|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| Thermo Ultimate 3000 | 0.522 7               | 0.948 1                    | 0.197 4              | 0.936 9                | 1.255 0                 |
| LC-20A               | 0.533 5               | 0.945 0                    | 0.199 6              | 0.945 0                | 1.210 9                 |
| 平均值                  | 0.528 1               | 0.946 5                    | 0.198 5              | 0.940 9                | 1.232 9                 |
| RSD/%                | 1.45                  | 0.23                       | 0.78                 | 0.61                   | 2.53                    |

表 3 不同色谱柱对  $f_{s/i}$  的影响

Table 3 Effects of different columns on  $f_{s/i}$

| 色谱柱                               | $f_{\text{栀子苷/没食子酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $f_{\text{栀子苷/鞣花酸}}$ | $f_{\text{栀子苷/木香烃内酯}}$ | $f_{\text{栀子苷/去氢木香内酯}}$ |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| Thermo synchronis- $C_{18}$       | 0.522 7               | 0.948 1                    | 0.197 4              | 0.936 9                | 1.255 0                 |
| Agilent EcLipse XDB- $C_{18}$     | 0.525 1               | 0.929 2                    | 0.196 9              | 0.963 0                | 1.259 8                 |
| Shimadzu Shim-pack GIST- $C_{18}$ | 0.521 9               | 0.942 6                    | 0.192 7              | 0.939 2                | 1.259 4                 |
| 平均值                               | 0.523 2               | 0.940 0                    | 0.195 7              | 0.946 4                | 1.258 1                 |
| RSD/%                             | 0.32                  | 1.03                       | 1.32                 | 1.53                   | 0.21                    |

28、30、32、35  $^{\circ}$ C) 对  $f_{s/i}$  的影响, 结果见表 4。表明柱温的波动对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.5.5 不同体积流量对  $f_{s/i}$  的影响** 考察了不同体积流量(0.6、0.8、1.0、1.2 mL/min) 对  $f_{s/i}$  的影响, 结果见表 5。表明体积流量的变化对各成分的  $f_{s/i}$  无显著影响。

综上几种因素, 说明该方法对  $f_{s/i}$  耐用性良好。

## 2.6 待测组分色谱峰定位

取混合对照品溶液, 选取 3 支不同品牌色谱柱,

按“2.1”项下色谱条件测定, 以栀子苷为参照峰, 计算其他 5 种成分的相对保留时间( $t_{s/i}$ )。结果见表 6。 $t_{s/i}$  为内参物(s)与待测组分(i)保留时间的比值, 计算公式为  $t_{s/i} = t_s / t_i$ 。

**2.7 一测多评法(QAMS)与外标法(ESM)结果对比**

取 2.8 g 样品粉末, 精密称定 6 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项下色谱条件进样检测, 记录峰面积, 采用 QAMS 法建立内参物

梔子苷与没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的  $f_{s/i}$ , 对 6 批次古日古木-13 样品中各成分含量进行计算, 同时采用 ESM 法对没食子酸、羟基红花黄色素 A、鞣花酸、木香烯内酯、去氢木香内酯成分进行含量测定, 结果见

表 7。

比较 QAMS 法与 ESM 法计算的含量相对平均偏差 (RSD), 结果表明 QAMS 法与 ESM 法所测成分含量结果无明显差异, 表明本实验所建立方法准确性良好。

表 4 不同柱温对  $f_{s/i}$  的影响

Table 4 Effects of different column temperatures on  $f_{s/i}$

| 柱温/°C | $f_{\text{梔子苷/没食子酸}}$ | $f_{\text{梔子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $f_{\text{梔子苷/鞣花酸}}$ | $f_{\text{梔子苷/木香烯内酯}}$ | $f_{\text{梔子苷/去氢木香内酯}}$ |
|-------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| 25    | 0.525 1               | 1.047 0                    | 0.385 8              | 0.970 0                | 1.274 7                 |
| 28    | 0.522 0               | 1.075 2                    | 0.372 9              | 0.970 3                | 1.258 1                 |
| 30    | 0.521 6               | 1.067 0                    | 0.378 4              | 0.980 7                | 1.215 7                 |
| 32    | 0.524 1               | 1.074 2                    | 0.384 7              | 0.964 9                | 1.249 2                 |
| 35    | 0.523 1               | 1.073 3                    | 0.375 4              | 0.941 3                | 1.269 3                 |
| 平均值   | 0.523 2               | 1.067 3                    | 0.379 4              | 0.965 4                | 1.253 4                 |
| RSD/% | 0.28                  | 1.11                       | 1.49                 | 1.52                   | 1.86                    |

表 5 体积流量对  $f_{s/i}$  的影响

Table 5 Effects of volume flow rate on  $f_{s/i}$

| 体积流量/(mL·min <sup>-1</sup> ) | $f_{\text{梔子苷/没食子酸}}$ | $f_{\text{梔子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $f_{\text{梔子苷/鞣花酸}}$ | $f_{\text{梔子苷/木香烯内酯}}$ | $f_{\text{梔子苷/去氢木香内酯}}$ |
|------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| 0.6                          | 0.524 4               | 1.043 4                    | 0.360 2              | 0.969 3                | 1.251 0                 |
| 0.8                          | 0.522 9               | 1.069 6                    | 0.371 4              | 0.958 5                | 1.256 2                 |
| 1.0                          | 0.521 6               | 1.067 0                    | 0.365 5              | 0.980 7                | 1.215 7                 |
| 1.2                          | 0.522 3               | 1.074 7                    | 0.362 6              | 0.978 2                | 1.251 1                 |
| 平均值                          | 0.522 8               | 1.063 7                    | 0.364 9              | 0.971 7                | 1.243 5                 |
| RSD/%                        | 0.23                  | 1.31                       | 1.32                 | 1.03                   | 1.50                    |

表 6 不同色谱柱测得的相对保留值

Table 6 Relative retention value of different columns

| 色谱柱                                     | $t_{\text{梔子苷/没食子酸}}$ | $t_{\text{梔子苷/羟基红花黄色素 A}}$ | $t_{\text{梔子苷/鞣花酸}}$ | $t_{\text{梔子苷/木香烯内酯}}$ | $t_{\text{梔子苷/去氢木香内酯}}$ |
|-----------------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| Thermo synchronis-C <sub>18</sub>       | 0.404 2               | 0.959 5                    | 1.200 3              | 2.013 4                | 2.072 9                 |
| Agilent EcLipse XDB-C <sub>18</sub>     | 0.396 5               | 0.960 6                    | 1.206 5              | 2.012 0                | 2.070 5                 |
| Shimadzu Shim-pack GIST-C <sub>18</sub> | 0.384 8               | 0.939 4                    | 1.172 1              | 1.994 5                | 2.014 1                 |
| RSD/%                                   | 2.47                  | 1.25                       | 1.54                 | 0.52                   | 1.62                    |

表 7 QAMS 法与 ESM 法测得 6 批古日古木-13 丸中 6 种成分的质量分数

Table 7 Content of six constituents in six batches of Gurigumu-13 Pill by QAMS and ESM

| 批号     | 栀子苷/<br>(mg·g <sup>-1</sup> ) | 没食子酸/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |       | 羟基红花黄色素 A/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |       | 鞣花酸/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |       | 木香烯内酯/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |       | 去氢木香内酯/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |       |
|--------|-------------------------------|----------------------------|---------|-------|---------------------------------|---------|-------|---------------------------|---------|-------|-----------------------------|---------|-------|------------------------------|---------|-------|
|        |                               | ESM                        | QAMS    | RSD/% | ESM                             | QAMS    | RSD/% | ESM                       | QAMS    | RSD/% | ESM                         | QAMS    | RSD/% | ESM                          | QAMS    | RSD/% |
| 806221 | 2.424 6                       | 0.900 1                    | 0.900 1 | 0.00  | 0.603 1                         | 0.599 3 | 0.45  | 1.395 3                   | 1.391 2 | 0.21  | 0.759 6                     | 0.755 1 | 0.42  | 0.859 3                      | 0.858 5 | 0.07  |
| 901112 | 2.402 3                       | 0.887 0                    | 0.886 8 | 0.02  | 0.601 2                         | 0.597 4 | 0.45  | 1.380 4                   | 1.375 9 | 0.23  | 0.753 4                     | 0.748 7 | 0.44  | 0.851 3                      | 0.850 5 | 0.07  |
| 901113 | 2.409 9                       | 0.889 3                    | 0.889 3 | 0.00  | 0.599 6                         | 0.595 7 | 0.46  | 1.379 0                   | 1.374 5 | 0.23  | 0.755 8                     | 0.751 3 | 0.42  | 0.849 9                      | 0.849 1 | 0.07  |
| 901114 | 2.413 2                       | 0.888 1                    | 0.887 8 | 0.03  | 0.602 1                         | 0.596 6 | 0.51  | 1.377 6                   | 1.373 3 | 0.22  | 0.754 5                     | 0.750 1 | 0.40  | 0.851 3                      | 0.850 2 | 0.09  |
| 901115 | 2.406 7                       | 0.890 2                    | 0.889 7 | 0.04  | 0.601 8                         | 0.597 6 | 0.48  | 1.381 8                   | 1.377 0 | 0.24  | 0.756 2                     | 0.751 8 | 0.42  | 0.852 1                      | 0.851 1 | 0.08  |
| 901117 | 2.412 5                       | 0.893 2                    | 0.889 2 | 0.04  | 0.602 4                         | 0.598 1 | 0.49  | 1.382 6                   | 1.377 3 | 0.27  | 0.755 2                     | 0.751 1 | 0.38  | 0.853 2                      | 0.852 2 | 0.08  |

### 3 讨论

本次实验考察了提取溶剂(甲醇、90%甲醇、70%甲醇、10%甲醇),超声时间(30、40、50 min),以所测 6 个组分没食子酸、羟基红花黄色素 A、槲子苷、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的提取效率为指标,最终确定古日古木-13 丸供试品溶液的制备方法为以甲醇为提取溶剂、超声提取时间为 40 min。

在甲醇超声提取后,使用高效液相色谱仪测定滤纸过滤处理后制成的供试品和将样品通过恒温高速离心后制成的供试品<sup>[9]</sup>,对比发现离心后的样品中各物质含量比滤纸过滤的高且杂质少。对比 2 种处理方法,高速离心处理样品方法简单,样品含量较多且杂质少,样品量损失较少,故本实验选择高速离心的方法来处理样品。

在流动相条件摸索中,考察了甲醇-水、甲醇-0.05%磷酸水溶液、甲醇-乙腈(50:50)与 0.05%磷酸水溶液流动相体系,以古日古木-13 丸中所测成分没食子酸、羟基红花黄色素 A、槲子苷、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯分离效果为指标,最终确定以甲醇-乙腈(50:50)为流动相 A、以 0.05%磷酸水溶液为流动相 B。

中成药复方制剂所含组分复杂,各成分的最大吸收波长不同,当采用某一固定波长时,难以确保所测各成分被检出或获得最大吸收,影响定量测定结果<sup>[7]</sup>。经查阅《中国药典》《内蒙古蒙药制剂规范注释》,没食子酸检测波长 271 nm、羟基红花黄色素 A 检测波长 403 nm、槲子苷检测波长 238 nm、木香烃内酯与去氢木香内酯检测波长 225 nm,对鞣花酸进行全波长扫描,发现鞣花酸有 3 个最大吸收波长,分别为 199、254、366 nm。选择最大吸收波长 254 nm 对鞣花酸进行检测。

波长切换技术能够满足不同最大吸收波长的物质同时检测,使得不能在同一波长下测定的物质在一次检测分析中同时出峰,提高了检测灵敏度,减少了干扰,缩短了分析时间。为了使各成分在同一

色谱图中均被采集,故使用切换波长法进行含量测定<sup>[10]</sup>。

本实验建立 QAMS 法同时测定古日古木-13 丸中 6 种成分,对 QAMS 法的可行性进行探讨,采用 QAMS 法与 ESM 法分别测定 6 批古日古木-13 丸中 6 种成分,结果表明 QAMS 法测得结果与 ESM 法测得结果没有显著差异,可以较为准确计算古日古木-13 丸中 6 种成分含量。蒙药复方制剂所含成分较多,单味药材就有成百上千种成分,多成分同时测定已成为蒙药复方制剂质量评价的发展趋势,但是仅仅测定复方制剂中几种成分还是远远不够的,不过随着对蒙药研究越来越深入,蒙药材及其制剂的质量控制也会越来越严谨和科学。

### 参考文献

- [1] 阿拉坦图雅,巴日格其.蒙药古日古木-13 考[J].中国民族医药杂志,2010,16(5):36-37.
- [2] 焦素英.古日古木-13 的研究进展[J].赤峰学院学报:自然科学版,2014,30(23):64-65.
- [3] 刘颖,胡琴,史文凤.红花清肝十三味丸质量标准研究[J].中成药,2013,35(6):1230-1236.
- [4] 王静,岳秀峰,王晋,等.蒙药红花清肝十三味丸中丁香酚含量的测定方法研究[J].内蒙古医学院学报,2012,34(1):65-68.
- [5] 王焕芸,冯欣,董立森,等.反相高效液相色谱法测定红花清肝十三味丸中羟基红花黄色素 A 的含量[J].中国新药杂志,2008,17(11):952-953.
- [6] 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.
- [7] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9):1443-1457.
- [8] 王欣,覃瑶,王德江,等.一测多评法在中药质量控制中的应用进展[J].中成药,2016,38(2):395-402.
- [9] 中国药典[S].一部,2015.
- [10] 沈静琳,丁莹.HPLC 波长切换法同时测定麝香心脑乐片中 7 种成分[J].药物分析杂志,2018,38(3):520-526.