一测多评法同时测定金银花标准汤剂中 7 种成分的含量

宁二娟[1,2]，李自红[1,2]，陈玲[1]，李晓[1*]，张丽先[1,2]，魏悦[1,2]，马艳妮[1]（1.河南省生物技术开发中心，郑州 450002；2.河南科高中标检测技术有限公司，郑州 450002）

摘要：目的 采用一测多评法同时测定金银花标准汤剂中 7 种成分(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 及异绿原酸 C)的含量。**方法** 采用 Agilent Eclipse XDB-C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)进行 HPLC 测定，以乙腈-0.1%乙酸水溶液为流动相进行梯度洗脱，流速为 1.0 mL·min^{-1}，柱温 35 ℃，检测波长为 327 nm。以绿原酸为内标物，建立与其余 6 种成分的相对校正因子，实现一测多评，考察校正因子的重现性。**结果** 一测多评法测得的金银花标准汤剂中 7 种成分含量，与外标法测定结果相比较，2 组数据无显著性差异。**结论** 所建立的一测多评法方便、准确、重现性好，可用于金银花标准汤剂的质量评价。

关键词：金银花；标准汤剂；一测多评法；相对校正因子

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**B　　**文章编号：**1007-7693(2019)17-2154-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.17.008

引用本文：宁二娟, 李自红, 陈玲, 等. 一测多评法同时测定金银花标准汤剂中 7 种成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(17): 2154-2159.

Determination of Seven Components in *Lonicerae Japonicae* Flos Standard Decoction by QAMS

NING Erjuan[1,2], LI Zihong[1,2], CHEN Ling[1], LI Xiao[1*], ZHANG Lixian[1,2], WEI Yue[1,2], MA Yanni[1]（*1.Biological Technology Development Center of Henan Province, Zhengzhou 450002, China; 2.Henan Cogo Testing and International Standardizing Technology Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China*）

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine 7 components(neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, luteoloside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C) in *Lonicerae japonicae* flos standard decoction simultaneously by quantitative analysis of multi-components by single-marker(QAMS). **METHODS** HPLC analysis was performed on an Agilent Eclipse XDB-C_{18} column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with a mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% acetic acid solution in gradient elution manner at a flow rate of 1.0 mL·min^{-1}. The column temperature was maintained at 35 ℃, the detection wavelength was set at 327 nm. Chlorogenic acid was used as the internal reference substance, the relative calibration factors(RCFs) of other 6 components were calculated respectively. The validity of the QAMS method was evaluated to realize QAMS. At the same time, the durability of each RCF was investigated. **RESULTS** No significant differences were found among the quantitative results of 7 components in *Lonicerae japonicae* flos standard decoction determined by QAMS and external standard method. **CONCLUSION** The QAMS method is simple, accurate and reproducible, and can be used to evaluate the quality of *Lonicerae japonicae* flos standard decoction.

KEYWORDS: *Lonicerae japonicae* flos; standard decoction; QAMS; relative calibration factor

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.的干燥花蕾或带初开的花，具有清热解毒、凉散风热等功效[1-3]，用于瘸肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血病、风热感冒、温病发热[4-5]。主产于河南、山东、河北等地[6-7]，其主要成分有以绿原酸为代表的有机酸类、环烯醚萜苷类、黄酮类、三萜皂苷类等[8]。2015 年版中国药典规定金银花药材的指标控制成分为绿原酸和木犀草苷，金银花相关制剂仅单独测定绿原酸的含量[9]。本研究根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》制备金银花的标准汤剂，并建立 7 种成分(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 及异绿原酸 C)同时测定的定量方法。

一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker，QAMS)已广泛应用

基金项目：河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(182102310695)；河南省科学院基本科研项目(18JK16014)

作者简介：宁二娟，女，硕士，研究实习员　Tel: (0371)55935573　E-mail: 421023748@qq.com　***通信作者：**李晓，女，硕士，助理研究员　Tel: (0371)55935573　E-mail: 67430218@qq.com

于中药材及成方制剂的质量控制[10-11]，为中药材的整体质量研究提供了良好的发展方向[12]。2015年版中国药典已经利用 QAMS 控制黄连中异喹啉类生物碱成分、丹参中菲醌类成分及其衍生物。本实验以绿原酸为内标物，建立与其余 6 种成分的相对校正因子，实现一测多评，并与外标法(external standard method，ESM)测定结果相比较，以期为金银花标准汤剂的质量评价提供参考。

1 仪器与试药

Agilent 1260 Infinity Ⅱ高效液相色谱仪(二极管阵列检测器/紫外检测器，美国 Agilent 公司)；Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪(紫外检测器)、AUW 220D 十万分之一电子分析天平均来自日本岛津公司；ME204 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒公司)；JJ5000A 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂)；HH-6 数显恒温水浴锅(常州智博瑞仪器制造有限公司)；KQ-500E 超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)；HGJR-01 红外加热仪(河南中良科学仪器有限公司)；LGJ-12 低温冷冻干燥仪(北京松源华兴科技)；SB-1100 旋转蒸发仪、东京理化 A-1000S 真空泵均来自东京理化器械株式会社。

乙腈(色谱纯，赛默飞世尔科技)，其余试剂均为分析纯，水为纯净水；绿原酸(批号：110753-201415；纯度：96.2%)、木犀草苷(批号：111720-201609；纯度：94.9%)对照品购自中国食品药品检定研究院；新绿原酸(批号：wkq16050805；纯度 98%)、隐绿原酸(批号：wkq16081903；纯度 98%)、异绿原酸 B(批号：wkq16040902；纯度 98%)、异绿原酸 A(批号：wkq16070203；纯度 98%)、异绿原酸 C(批号：wkq16081905；纯度 98%)对照品均购自四川维克奇生物科技有限公司。

道地产区的金银花药材，来自河南封丘 3 批，山东平邑 3 批，河北巨鹿 3 批，河南禹州 3 批，河南密县 3 批。15 批金银花药材经河南大学药学院张保国教授鉴定，均为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.的干燥花蕾或带初开的花，产地来源见表 1。按照 2015 年版中国药典金银花项下检测项目检测均符合要求。

表 1 15 批金银花药材来源

Tab. 1 Origins of 15 batches of *Lonicerae japonicae* flos

编号	产地来源	采收时间	编号	产地来源	采收时间
S1	河南密县	2017.06	S9	河南禹州	2017.06
S2	河南密县	2017.06	S10	河北巨鹿堤村乡	2017.07
S3	河南密县	2017.06	S11	河北巨鹿小吕寨	2017.07
S4	山东平邑	2017.05	S12	河北巨鹿	2017.07
S5	山东平邑	2017.05	S13	河南封丘黄德镇	2016.06
S6	山东平邑	2017.05	S14	河南封丘城关乡	2016.06
S7	河南禹州文殊镇	2017.06	S15	河南封丘应举镇	2016.06
S8	河南禹州	2017.06	/	/	/

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：Agilent Eclipse XDB-C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：乙腈(A)-0.1%乙酸水溶液(B)；梯度洗脱：0~40 min，5%→29%A，40~41 min，29%→80%A，41~48 min，80%A；检测波长：327 nm；流速：1.0 mL·min^{-1}；柱温：35 ℃；进样量：10 μL。典型色谱图见图 1。

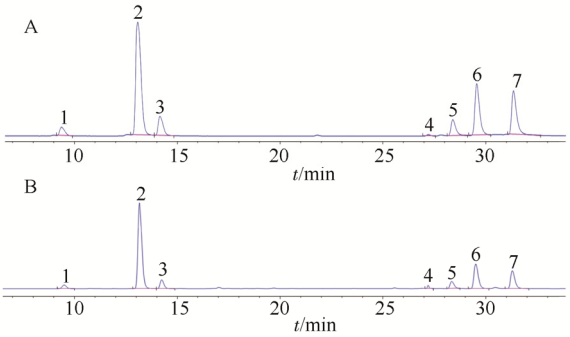


图 1 高效液相色谱图

A–对照品溶液；B–供试品溶液；1–新绿原酸；2–绿原酸；3–隐绿原酸；4–木犀草苷；5–异绿原酸 B；6–异绿原酸 A；7–异绿原酸 C。

Fig. 1 HPLC chromatogram

A–reference substances solution; B–sample solution; 1–neochlorogenic acid; 2–chlorogenic acid; 3–cryptochlorogenic acid; 4–luteoloside; 5–isochlorogenic acid B; 6–isochlorogenic acid A; 7–isochlorogenic acid C.

2.2 对照品溶液的配制

分别精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 对照品适量，各置于 10 mL 量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，作为对照品储备液；分别精密量取对照品储备液适量，置于同一 10 mL 量瓶中，加甲醇定容至刻度，得质量浓度分别为新绿原酸 47.8 μg·mL^{-1}、绿原酸 531 μg·mL^{-1}、隐绿原酸 94 μg·mL^{-1}、木犀草苷 13.5 μg·mL^{-1}、异绿原

酸 B 90 μg·mL^{-1}、异绿原酸 A 212 μg·mL^{-1}、异绿原酸 C 213 μg·mL^{-1} 的混合对照品溶液。

2.3 标准汤剂和供试品溶液的制备

2.3.1 标准汤剂制备 金银花是花类、清热解毒类药材，其标准汤剂的提取方法如下，药材取 100 g，煎煮 2 次，第 1 次加入饮片量 12 倍水，浸泡 30 min，煮沸后煎煮 20 min，第 2 次加入饮片量 10 倍水，煮沸后再煎煮 20 min；固液分离，趁热用 200 目滤布过滤，滤液迅速降温；2 次煎液合并减压浓缩，浓缩温度<50 ℃，浓缩至 80 mL 左右，用低温冷冻干燥机干燥成粉末。

2.3.2 供试品溶液制备 精密称取金银花标准汤剂样品 0.2 g，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%乙醇 100 mL，称定质量，超声提取 30 min，放冷，再称定质量，用 50%乙醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密量取“2.2”项下混合对照品溶液各 1 mL，分别置 50，25，10，5，2 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，依次作为线性溶液⑥、⑤、④、③和②，再取“2.2”项下混合对照品溶液作为线性溶液①。

精密量取各线性溶液，按“2.1”项下色谱条件测定，以各对照品的质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线，得到 7 种成分的线性回归方程。表明各对照品在各自浓度范围内线性关系良好。结果见表 2。

表 2 金银花标准汤剂中 7 种成分的线性回归方程

Tab. 2 Linear equation of 7 components in *Lonicerae japonicae* flos standard decoction

成分	标准曲线	线性范围/μg·mL^{-1}	r
新绿原酸	Y=19.603X+2.056 5	0.956~47.800	1
绿原酸	Y=27.306X–23.885 0	10.620~531.000	1
隐绿原酸	Y=20.708X+3.143 1	1.880~94.000	0.999 9
木犀草苷	Y=11.572X–1.098 5	0.270~13.500	0.999 9
异绿原酸 B	Y=19.830X+5.087 9	1.800~90.000	0.999 9
异绿原酸 A	Y=26.380X–3.763 7	4.240~212.000	1
异绿原酸 C	Y=28.081X–15.963 0	4.260~213.000	1

2.4.2 仪器精密度试验 精密量取“2.4.1”项下线性溶液④10 μL，连续进样 6 次，记录峰面积。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积 RSD 分别为 0.80%，0.24%，0.51%，1.72%，0.59%，0.35%，0.43%。表明该仪器精密度良好，方法满足检测需要。

2.4.3 重复性试验 取金银花标准汤剂样品(S7) 6 份，每份约 0.2 g，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，分别按“2.1”项下色谱条件测定。结果表明，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积 RSD 分别为 0.61%，0.20%，0.46%，1.85%，0.54%，0.39%，0.42%。表明该方法重复性良好。

2.4.4 加样回收率试验 精密称定已知含量的金银花标准汤剂样品(S7) 6 份，每份约 0.1 g，置具塞锥形瓶中，分别精密加入相应含量的各对照品溶液(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C)，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，分别按“2.1”项下色谱条件测定，记录峰面积，计算平均回收率，结果表明，方法准确度良好。结果见表 3。

2.4.5 溶液稳定性试验 取同一供试品(S7)溶液，分别于 0，1，2，4，8，12，24 h(20 ℃)时，按“2.1”项下色谱条件测定。试验结果表明，6 份供试品中各成分含量基本无变化，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积 RSD 分别为 0.91%，0.33%，0.79%，1.48%，0.47%，0.52%，0.65%。表明样品溶液于 20 ℃放置 24 h 稳定性良好。

2.4.6 相对校正因子的计算 根据“2.4.1”项下线性系列溶液中各对照品的质量浓度，以及测定的各成分峰面积，根据相对校正因子计算公式，以绿原酸为内标物，分别计算新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的相对校正因子。结果见表 4。

2.4.7 相对校正因子的重现性考察

2.4.7.1 仪器对相对校正因子的影响 根据相对校正因子的测定条件和方法，分别考察 3 种 HPLC 系统(Agilent 1260-DAD、Agilent 1260-UV、Shimadzu LC-20AD)对相对校正因子的影响。结果表明，新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 与内标物绿原酸的相对校正因子 RSD 分别为 2.84%，1.36%，4.60%，2.71%，1.07%，1.65%，校正因子重现性良好。

表 3 金银花标准汤剂中 7 种成分加样回收率结果(n=6)

Tab. 3 Recovery results of 7 components in *Lonicerae japonicae* flos standard decoction(n=6)

成分	样品含量/μg	对照品加入量/μg	测得总量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
新绿原酸	294.1	294.0	575.4	95.68	97.85	1.53
	296.2	294.0	581.1	96.90		
	293.4	294.0	584.9	99.15		
	292.1	294.0	580.7	98.16		
	294.3	294.0	587.6	99.76		
	295.6	294.0	582.0	97.41		
绿原酸	4 435.2	4 430.4	8 870.0	100.10	99.86	0.22
	4 429.4	4 430.4	8 867.7	100.18		
	4 430.8	4 430.4	8 849.3	99.73		
	4 431.7	4 430.4	8 850.5	99.74		
	4 432.6	4 430.4	8 846.8	99.63		
	4 431.3	4 430.4	8 852.4	99.79		
隐绿原酸	584.1	586.3	1 170.5	100.02	99.41	1.01
	588.5	586.3	1 169.8	99.15		
	586.2	586.3	1 168.4	99.30		
	590.0	586.3	1 181.9	100.96		
	582.4	586.3	1 163.2	99.06		
	590.7	586.3	1 165.0	97.95		
木犀草苷	73.1	73.7	146.1	99.05	96.92	1.82
	72.5	73.7	142.5	94.98		
	72.8	73.7	143.6	96.07		
	74.5	73.7	144.9	95.52		
	73.6	73.7	146.6	99.05		
	73.4	73.7	144.8	96.88		
异绿原酸 B	508.2	508.9	1 011.5	98.90	98.93	1.10
	506.9	508.9	1 004.0	97.68		
	505.8	508.9	1 009.3	98.94		
	513.1	508.9	1 010.7	97.78		
	510.4	508.9	1 021.6	100.45		
	509.3	508.9	1 017.2	99.80		
异绿原酸 A	1 437.1	1 442.5	2 869.1	99.27	99.19	0.48
	1 438.4	1 442.5	2 873.4	99.48		
	1 446.8	1 442.5	2 871.5	98.77		
	1 442.3	1 442.5	2 884.0	99.94		
	1 445.5	1 442.5	2 873.9	99.02		
	1 447.2	1 442.5	2 870.4	98.66		
异绿原酸 C	1 001.7	1 004.5	2 007.5	100.13	99.57	0.44
	1 000.5	1 004.5	2 000.3	99.53		
	1 004.8	1 004.5	2 001.8	99.25		
	1 009.1	1 004.5	2 004.7	99.11		
	1 008.0	1 004.5	2 005.6	99.31		
	1 002.6	1 004.5	2 008.0	100.09		

2.4.7.2 色谱柱对相对校正因子的影响 采用 Agilent 1260-DAD 高效液相色谱仪，分别考察 3 种不同品牌(Agilent Eclipse XDB-C_{18}、BeKMAN C_{18}、Phenomenex Luna C_{18})的色谱柱对相对校正因子的影响。结果表明，新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 与内标物绿原酸的相对校正因子 RSD 分别为 2.80%，2.06%，4.71%，1.10%，2.20%，1.51%，校正因子重现性良好。

2.4.7.3 不同流速对相对校正因子的影响 采用 Agilent 1260-DAD 高效液相色谱仪和 Eclipse XDB-C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱，分别考察 3 种不同流速(0.9，1.0，1.1 mL·min^{-1})对相对校正因子的影响。结果表明，新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 与内标物绿原酸的相对校正因子 RSD 分别为 2.87%，2.76%，4.40%，1.76%，1.57%，1.33%，校正因子重现性良好。

2.4.7.4 不同柱温对相对校正因子的影响 采用 Agilent 1260-DAD 高效液相色谱仪和 Eclipse XDB-C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱，分别考察 3 种不同柱温(30，35，40 ℃)对相对校正因子的影响。结果表明，新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 与内标物绿原酸的相对校正因子 RSD 分别为 1.26%，1.89%，3.22%，1.71%，1.10%，1.16%，校正因子重现性良好。

2.5 ESM 和 QAMS 测定结果的比较

按“2.3.2”项下方法操作制备供试品溶液，分别按“2.1”项下色谱条件测定，用 ESM 和 QAMS 分别计算各供试品中 7 种成分的含量，RSD<2%，同时经 t 检验，P>0.05，说明 2 种方法计算结果并无显著性差异。结果见表 5。

表 4 6 种成分相对校正因子

Tab. 4 Relative correction factors of 6 components

编号	$f_{绿原酸}/f_{新绿原酸}$	$f_{绿原酸}/f_{隐绿原酸}$	$f_{绿原酸}/f_{木犀草苷}$	$f_{绿原酸}/f_{异绿原酸B}$	$f_{绿原酸}/f_{异绿原酸A}$	$f_{绿原酸}/f_{异绿原酸C}$
1	1.373 7	1.264 2	2.510 0	1.290 8	1.011 2	0.999 1
2	1.290 4	1.295 3	2.626 7	1.313 4	1.033 1	0.994 8
3	1.302 8	1.303 7	2.655 0	1.316 4	1.028 6	0.988 1
4	1.363 1	1.254 1	2.415 1	1.297 2	1.018 9	0.982 8
5	1.375 8	1.303 4	2.397 0	1.367 1	1.033 2	0.971 7
6	1.389 6	1.317 3	2.368 9	1.372 0	1.034 4	0.973 8
均值	1.349 3	1.289 7	2.495 5	1.326 1	1.026 6	0.985 0
RSD/%	3.10	1.93	4.91	2.64	0.92	1.12

表 5 ESM 和 QAMS 测得的金银花标准汤剂中 7 种成分的含量(n=3)

Tab. 5 Content of 7 components in *Lonicerae japonicae* flos standard decoction by ESM and QAMS(n=3)

编号	新绿原酸/%		绿原酸/%	隐绿原酸/%		木犀草苷/%		异绿原酸 B/%		异绿原酸 A/%		异绿原酸 C/%	
	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	0.324	0.327	3.983	0.538	0.541	0.054	0.052	0.558	0.561	1.299	1.305	1.036	1.039
S2	0.255	0.257	3.792	0.448	0.452	0.053	0.051	0.510	0.513	1.315	1.321	0.872	0.864
S3	0.288	0.290	4.596	0.574	0.576	0.070	0.067	0.483	0.485	1.510	1.515	0.951	0.954
S4	0.148	0.150	4.085	0.300	0.303	0.049	0.047	0.211	0.212	1.138	1.144	0.589	0.592
S5	0.179	0.180	4.480	0.389	0.392	0.067	0.065	0.259	0.261	1.291	1.295	0.688	0.693
S6	0.212	0.214	4.629	0.399	0.402	0.059	0.057	0.322	0.324	1.152	1.157	0.820	0.823
S7	0.294	0.296	4.430	0.586	0.588	0.074	0.071	0.509	0.512	1.442	1.446	1.005	1.008
S8	0.294	0.296	4.035	0.575	0.578	0.090	0.086	0.502	0.506	1.283	1.289	0.899	0.892
S9	0.299	0.301	4.680	0.648	0.652	0.083	0.078	0.404	0.409	1.255	1.261	0.845	0.847
S10	0.345	0.349	4.355	0.683	0.686	0.058	0.055	0.509	0.512	1.203	1.207	0.860	0.866
S11	0.338	0.342	4.410	0.639	0.642	0.073	0.070	0.647	0.651	1.506	1.514	1.105	1.109
S12	0.325	0.327	4.652	0.635	0.638	0.050	0.047	0.622	0.627	1.592	1.601	1.068	1.071
S13	0.300	0.302	4.577	0.531	0.535	0.069	0.067	0.525	0.528	1.779	1.790	1.028	1.035
S14	0.292	0.294	4.358	0.486	0.488	0.071	0.068	0.503	0.505	1.655	1.662	1.017	1.021
S15	0.285	0.286	4.269	0.494	0.496	0.073	0.070	0.496	0.498	1.579	1.587	1.002	1.006

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

2015 年版中国药典规定了金银花药材中绿原酸、木犀草苷的含量测定方法[9]，本实验考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.01%乙酸水、乙腈-0.05%乙酸水、乙腈-0.1%乙酸水几种流动相系统，结果以乙腈-0.1%乙酸水系统的分离效果较好，在该条件下，各色谱峰分离度良好，保留时间适中。样品检测时采用 DAD 检测器对供试品溶液进行紫外 190~400 nm 扫描，发现在 327 nm 下色谱峰数较多且各峰之间分离度较好，所以选择 327 nm 作为吸收波长。阴性试验中，未见各色谱峰干扰现象。色谱柱考察了 Agilent Eclipse XDB-C_{18}、日本 BeKMAN C_{18}、Phenomenex Luna C_{18}，选择 Agilent Eclipse XDB-C_{18} 色谱柱，各峰分离度、峰型较好。金银花样品均为水提，超声就能保证有效成分的溶出完全，所以供试品制备方法选择超声提取，所用溶剂分别考察了 30%，50%，70%，100%甲醇，30%，50%，70%，95%乙醇，结果用 50%乙醇作为提取溶剂时，各峰分离良好，且绿原酸提取率最高。

3.2 内标的选择

从金银花标准汤剂色谱图上看出其主要成分是新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C，并且这 7 种成分具有较强的生物活性[13]，所以选择这 7 种成分作为金银花标准汤剂的指标成分。与其他 6 种成分相比，绿原酸含量最高，且绿原酸对照品价廉易得，化学性质稳定，因此选择绿原酸为内标。

3.3 QAMS 的可行性

QAMS 应用于金银花药材的多成分含量测定中，已有文献报道[14-15]。中药成分复杂多样，单指标成分难以表达药材和制剂质量，《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》指出，配方颗粒和标准汤剂应尽可能建立多成分含量测定方法。但是中药化学对照品制备困难且价格昂贵，造成了多成分含量测定推广困难，所以本研究建立 QAMS 同时测定金银花标准汤剂中多成分的含量。通过以绿原酸为内标物，建立其与其他 6 种成分之间的相对校正因子，同时考察不同高效液相色谱系统、色谱柱、流速和柱温对待测成分相对校正因子的影响，结果显示待测成分相对校正因子的 RSD 均<5.0%，具有良好的重现性。采用 ESM 计算金银花标准汤剂中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的含量，将 2 种检测结果进行 t 检验分析，P>0.05，说明 QAMS 与 ESM 计算结果并无显著性差异。

该方法的建立为金银花标准汤剂和配方颗粒整体质量控制提供一定的研究基础，同时为

QAMS 推广应用于金银花配方颗粒和其他制剂中奠定了理论基础。

REFERENCES

[1] WANG Y Q, CHEN W, ZHONG S S, et al. Effect of heat-clearing and detoxifying health function of *Lonicera japonica* in rats based on metabonomics [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2016, 39(5): 1129-1133.

[2] WANG Q, SU C P, ZHANG H M, et al. Anti-in ammatory mechanism of heat-clearing and detoxifying Chinese herbs [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(18): 3787-3794.

[3] CHENG J X, XIAO S Y, LIU T H. Regularity of drug use of patents in force of traditional Chinese herbal compounds in preventing and treating respiratory diseases [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(9): 1073-1078.

[4] LIU Z H, XU S Y, ZHAO L L, et al. Quantitative determination of sweroside and swertiamarin in *Lonicerae* flos [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2016, 18(3): 321-325.

[5] DONG T, ZHOU J L, ZHAO W L, et al. Quality evaluation of yinqiao jiedu granules by HPLC fingerprint [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(9): 1337-1341.

[6] QU F, SUN Z J, CHEN A X, et al. Protection for the intellectual property of geographical indications of honeysuckle in China [J]. Shandong Agric Sci(山东农业科学), 2012, 44(2): 67-71, 76.

[7] LI J F, LI J, CHEN L M, et al. Analysis of integration strategy of *Lonicerae japonicae* flos industry chain in Pingyi from perspective of industrial value chain in internet + mode [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(14): 195-201.

[8] NI F Y, WEN J H, LI M, et al. Chemical constituents from flower buds of *Lonicera japonica* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2017, 48(18): 3689-3692.

[9] 中国药典. 四部[S]. 2015: 221, 735.

[10] XU R. Simultaneous determination of 4 constituents in fule granula by quantitative analysis of multi-components by single marker(QAMS) [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(3): 403-406.

[11] WAN Q, TU C Y, XIONG H, et al. Determination of four flavones in *Chrysosplenium nudicaule* Bunge by QAMS method [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2016, 36(6): 1053-1058.

[12] GAO H M, SONG Z H, WANG Z M, et al. Overview on quantitative analysis of multi-components by single-marker [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(4): 405-416.

[13] SONG Y L, NI F Y, ZHAO W W, et al. Research progress on chemical constituents from *Lonicerae* flos [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2014, 45(24): 3656-3664.

[14] XU Y P, JIANG X H, WANG X. Determination of caffeoylquinic acids contents in *Lonicera japonica* Thunb. by multi-components with single marker [J]. Jiangsu Agri Sci(江苏农业科学), 2018, 46(1): 118-121.

[15] SUN L, FAN X L, GUO Q, et al. Simultaneous determination of 5 saponins in *Lonicerae* flos by QAMS method [J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28(18): 2546-2549.

收稿日期：2018-09-27

(本文责编：沈倩)

http://www.chinjmap.com