[7] 王小兵. 口服孟鲁司特钠咀嚼片致幼儿行为异常 1 例[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(10): 858.
[8] 田京晓, 李锦霞, 杨俊营, 等. 孟鲁司特钠咀嚼片致精神系统紊乱 1 例[J]. 航空航天医学杂志, 2015, 26(7): 916-917.
[9] 吴涛, 林均贤. 孟鲁司特钠咀嚼片致肺炎患儿夜梦异常 1 例[J]. 临床合理用药, 2017, 10(8A): 3-5.
[10] CETKOVSKA P, PIZINGER K. Childhood pemphigus associated with montelukast administration [J]. Clin Exp Dermatol, 2003, 28(3): 328-329.
[11] CARNOVALE C, GENTILI M, ANTONIAZZI S, et al. Montelukast-induced metamorphopsia in a pediatric patient: A case report and a pharmacovigilance database analysis [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2016, 116(4): 370-371.
[12] LEBENSZTEJN D M, BOBRUSCHOCIEJ A, KLUSEK M, et al. Hepatotoxicity caused by montelukast in a paediatric patient [J]. Prz Gastroenterol, 2014, 9(2): 121-123.
[13] INCECIK F, ONLEN Y, SANGUN O, et al. Probable montelukast-induced hepatotoxicity in a pediatric patient: Case report [J]. Ann Saudi Med, 2007, 27(6): 462-463.
[14] 陈金月, 茹爱珍. 患儿遗尿与孟鲁司特钠咀嚼片有关[J]. 药品不良反应杂志, 2007, 9(3): 157.
[15] 高锦娟, 纪莎, 黄巧平. 孟鲁司特钠咀嚼片与膝关节痛有关[J]. 药品不良反应杂志, 2008, 10(1): 62.
[16] 柳青, 雷招宝. 孟鲁司特钠咀嚼片致耳痛 2 例[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(10): 1147.
[17] GREEN R J, ZAR H J, JEENA P M, et al. South African guideline for the diagnosis, management and prevention of acute viral bronchiolitis in children [J]. S Afr Med J, 2010, 100(5): 322-325.
[18] MANALAI P, WOO J M, POSTOLACHE T T. Suicidality and montelukast [J]. Expert Opin Drug Saf, 2009, 8(3): 273-282.
[19] PERONA A A, GARCÍA-SÁIZ M, ÁLVAREZ E S. Psychiatric disorders and montelukast in children: A disproportionality analysis of the vigiBase ? [J]. Drug Safety, 2016, 39(1): 69-78.
[20] PHILIP G, HUSTAD C M, MALICE M P, et al. Analysis of behavior-related adverse experiences in clinical trials of montelukast [J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(4): 699-706.
[21] BYGDELL M, BRUNLÖF G, WALLERSTEDT S M, et al. Psychiatric adverse drug reactions reported during a 10-year period in the Swedish pediatric population [J]. Pharmacoepidemiol & Drug Saf, 2012, 21(1): 79-86.
[22] WALLERSTEDT S M, BRUNLOF G, SUNDSTROM A, et al. Montelukast and psychiatric disorders in children [J]. Pharmacoepidemiol & Drug Saf, 2009, 18(9): 858-864.
[23] GELLER M. Marked peripheral edema associated with montelukast and prednisone [J]. Ann Intern Med, 2000, 132(11): 924.
[24] 熊玲霞, 刘泉波. 儿童药物性肝损害的诊治进展[J]. 儿科药学杂志, 2018, 24(9): 52-55.
[25] TEDESCHI A. Paradoxical exacerbation of chronic urticaria by H_1-antihistamines and montelukast [J]. Eur Ann Allergy Clin Immunol, 2009, 41(6): 187-189.
[26] 冯素英, 林麟, 靳培英. 药物诱发天疱疮[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(11): 712-715.

(编辑:曾敏莉)
(收稿日期:2018-06-24 修回日期:2018-09-21)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2019.05.016

· 论著 ·

一测多评法测定小儿咳喘灵颗粒中 6 种绿原酸类成分的含量

曾桢[1], 刘莉[1], 李峰[2], 文永盛[1], 周世玉[1], 薛丹[2](1. 成都市食品药品检验研究院, 四川成都 610045; 2. 四川大学华西药学院, 四川成都 610041)

[摘要]**目的**:建立小儿咳喘灵颗粒中 6 种主要活性成分的一测多评含量测定方法。**方法**:以绿原酸为内标物, 采用高效液相色谱方法, 建立其与新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸 5 种成分的相对校正因子, 并用该校正因子进行计算, 实现一测多评; 同时采用外标法对 6 种成分进行含量测定, 通过比较两种方法的结果, 验证该方法的准确性。**结果**:建立的校正因子重复性较好, 采用校正因子计算的含量值与外标法实测值偏差较好, 相对误差<5%。**结论**:采用一测多评法测定小儿咳喘灵颗粒中 6 种绿原酸类成分可行。

[关键词]一测多评法; 外标法; 高效液相色谱法; 校正因子; 小儿咳喘灵颗粒; 含量测定
[中图分类号]R284 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2019)05-0046-06

Content Determination of Six Chlorogenic Acids in Xiao'er Kechuanling Granules by Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Marker

Zeng Zhen[1], Liu Li[1], Li Feng[2], Wen Yongsheng[1], Zhou Shiyu[1], Xue Dan[2](1. *Chengdu Institute of Food and Drug Control, Sichuan Chengdu* 610045, *China*; 2. *West China School of Pharmacy Sichuan University, Sichuan Chengdu* 610041, *China*)

基金项目:全国中药资源普查实施四川省试点项目, 编号 2014SS029-1。
作者简介:曾桢(1981.12-), 女, 大学本科, 主管中药师, 主要从事中药质量标准研究, E-mail: zengzhen125@163.com。
通讯作者:薛丹(1987.05-), 女, 博士, 讲师, 主要从事生药学研究, E-mail: danscu@qq.com。

[**Abstract**] **Objective**: To establish the quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) for content determination of six chlorogenic acids in Xiao'er Kechuanling granules. **Methods**: Emodin was used as the internal substance, HPLC method was adopted, the relative correction factors of emodin and neocyanogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, 4, 5-O-dicaffeyl quinine were established, and the correction factor was used to calculate the results, the QAMS was conducted. Meanwhile, the content of 6 components was determined by external standard method. The accuracy was verified by comparing the results of the two methods. **Results**: The established correction factor had good repeatability. The content calculated by the correction factor had better deviation from the measured value of the external standard method, with relative error <5%. **Conclusion**: It is feasible to determine the 6 chlorogenic acids in Xiao'er Kechuanling granules by QAMS.

[**Keywords**] quantitative analysis of multi-components by single-marker; external standard method; HPLC; correction factor; Xiao'er Kechuanling granules; content determination

小儿咳喘灵颗粒是中医儿科的经典方剂,由石膏、金银花、板蓝根、苦杏仁等七味中药组成,具有宣肺、清热、止咳、祛痰、平喘的功效,主要用于上呼吸道感染、气管炎、肺炎、咳嗽等。现行的质量标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第四册[1],部颁标准鉴别项为麻黄和甘草的化学反应,专属性差,且无成分定量测定项,不能够保证产品质量,而部分企业执行的国家食品药品监督管理局试行标准在检测项目上各不相同,检测方法差距也较大,难以全面保证药品质量。金银花为该方中的臣药,现有文献表明,其主要成分是 6 种绿原酸类成分[2-4],均有抗菌、抗病毒的作用[5]。传统外标法测定多指标成分需要对照品的种类多、数量大、价格昂贵,为了更加全面地控制药品质量,有文献提出一测多评的多指标质控模式[6],以常见的标准品为内标,其他成分与标准品的相对校正因子($f_{s/k}$)来计算其他成分的含量。本实验以绿原酸为参照物,建立其与其他成分之间的$f_{s/k}$,计算各成分的含量,并与采用外标法的结果进行对比来验证一测多评法的准确性和可靠性。在现有文献[7-9]的基础上,本实验采用一测多评法,以绿原酸为内标物,采用高效液相色谱法(HPLC)测定小儿咳喘灵颗粒中该成分的含量,建立该成分与新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸的相对校正因子,由此计算与新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸的含量,并对一测多评法的计算值与外标法实测值进行比较,以期为小儿咳喘灵颗粒的整体质量评价提供参考。

1 仪器和试药

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱仪,配置有自动进样器,光电二极管阵列检测器、四元泵、在线真空脱气机,LC1260 色谱工作站(Agilent,USA);AE-240 型十万分之一电子天平(Mettler Toledo, Switzerland), AUX-220 型万分之一电子天平(Shimadzu,Janpan),SK250H 型超声仪(上海科导超声仪器有限公司,250 W,53 Hz),超纯水制备系统(Millipore,USA)。

1.2 试药

绿原酸对照品(批号 110753-201415,纯度 96.2%)、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸对照品(批号 111894-201102,纯度 94.1%)均购于中国食品药品检定研究院;新绿原酸对照品(批号 151217,纯度 99.85%)、隐绿原酸对照品(批号 15121702,纯度 98.73%)、异绿原酸 A 对照品(批号 151028,纯度 98.70%)、异绿原酸 B 对照品(批号 16060708,纯度 98.82%)均购于成都普菲德生物技术有限公司。26 批小儿咳喘灵颗粒样品批号及来源见表 1,编号 S1 ~ S26。乙腈、甲醇均为色谱纯(北京百灵威科技有限公司);水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

表 1 小儿咳喘灵颗粒样品批号及来源

编号	生产企业	批号	编号	生产企业	批号	编号	生产企业	批号
S1	四川恩威制药有限公司	161203	S10	四川恩威制药有限公司	161201	S19	健民集团叶开泰国药(随州)有限公司	160875
S2	四川恩威制药有限公司	161002	S11	四川恩威制药有限公司	161206	S20	四川省通园制药有限公司	170102
S3	四川恩威制药有限公司	161205	S12	四川恩威制药有限公司	161204	S21	通化万通药业股份有限公司	4161203
S4	四川恩威制药有限公司	160902	S13	葵花药业集团(襄阳)隆中有限公司	161103	S22	华润三九(黄石)药业有限公司	1609002Z
S5	四川恩威制药有限公司	161001	S14	湖南富兴飞鸽药业有限公司	160513	S23	四川旭阳药业有限责任公司	160301
S6	四川恩威制药有限公司	161208	S15	太极集团四川南充制药有限公司	2016001	S24	武汉金联药业有限公司	20160503
S7	四川恩威制药有限公司	161202	S16	广州诺金制药有限公司	6321B03	S25	云南望子隆药业有限公司	20160102
S8	四川恩威制药有限公司	161005	S17	广州诺金制药有限公司	6321B07	S26	李时珍医药集团有限公司	201701002
S9	四川恩威制药有限公司	161205	S18	山东昊福药业集团制药有限公司	20170218			

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters SunFire C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。以乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)作为流动相进行梯度洗脱,洗脱程序为:0 ~ 5 min,10% ~ 12% A;5 ~ 10 min, 12% ~ 18% A;10 ~ 15 min,18% ~ 30% A;15 ~ 25 min,30% ~ 40% A。流速 1.0 mL/min;柱温 25 ℃;检测波长 327 nm;进样量 10 μL;柱平衡时间为 15 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取新绿原酸对照品 12.05 mg、绿原酸对照品 21.70 mg、隐绿原酸对照品

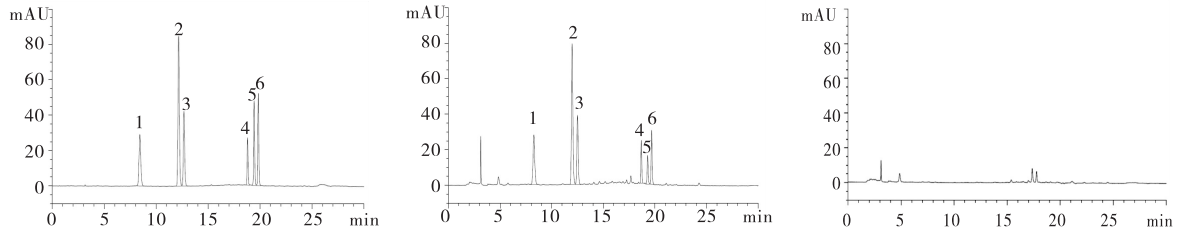
10.75 mg、异绿原酸 B 对照品 4.15 mg、异绿原酸 A 对照品 6.45 mg 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸对照品 7.55 mg,置于 250 mL 棕色容量瓶中,用 50% 乙醇溶液溶解并稀释至刻度,配制成为含有新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸分别为 48.13、83.50、42.45、16.40、25.46 和 28.42 μg/mL 的混合溶液,作为混合对照品储备溶液。

2.2.2　供试品溶液　取小儿咳喘灵颗粒 10 袋内容物,混匀,取适量研细,精密称定 0.2 g,置于 150 mL 锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇溶液 25 mL,称定重量,超声处理 45 min,放冷,用 50% 乙醇补足减失的重量,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.2.3　阴性对照溶液　根据小儿咳喘灵颗粒的处方比例及制备工艺,制备不含金银花的阴性对照样品,按 2.2.2 项下方法制备阴性对照溶液。

2.3　系统适应性实验

精密量取 2.2 项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液适量,按 2.1 项下色谱条件测定,记录色谱图,见图 1。由图 1 可见,在该色谱条件下,绿原酸与隐绿原酸分离度为 2.21,异绿原酸 A 与异绿原酸 B 分离度为 3.61,异绿原酸 A 与 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸分离度为 2.20,各待测成分均能达到基线分离,其分离度均>1.5;理论板数均大于 10 000。阴性对照不干扰 6 种成分的含量测定。



1. 新绿原酸;2. 绿原酸;3. 隐绿原酸;4. 异绿原酸 B;5. 异绿原酸 A;6. 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸

图 1　小儿咳喘灵颗粒色谱图

2.4　线性关系考察

精密量取上述混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,加 50% 乙醇溶液稀释至刻度。精密吸取系列对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪测定,分别以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归。结果表明 6 种成分在各自的质量浓度范围内呈现良好的线性关系。见表 2。

表 2　6 种成分的线性关系

待测成分	线性方程	相关系数	线性范围/(μg/mL)
新绿原酸	Y=1 407X+5.979 3	0.999 6	24.06~481.28
绿原酸	Y=1 894.2X+1.677 1	0.999 9	41.75~835.02
隐绿原酸	Y=1 769.8X+0.556 8	0.999 9	21.23~424.54
异绿原酸 B	Y=2 059X+0.321 0	0.999 9	8.20~164.04
异绿原酸 A	Y=2 578X+0.053 0	0.999 9	12.73~254.65
4,5-O-二咖啡酰奎宁酸	Y=2 533.6X+0.193 8	0.999 9	14.21~284.18

2.5　精密度实验

精密吸取上述混合对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,记录峰面积。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸色谱峰面积 *RSD* 分别为 0.19%、0.35%、0.12%、0.31%、0.27%、0.24%,表明仪器精密度良好。

2.6　稳定性实验

精密吸取同一供试品溶液(S1),在 0、4、8、12、16、20、24 h 分别进样 10 μL,记录峰面积,结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸色谱峰面积的 *RSD* 分别为 0.79%、1.98%、1.71%、1.44%、1.91%、1.54%。表明供试品溶液中的 6 个待测成分在室温放置 24 h 内基本稳定。

2.7　重复性实验

取同一批供试品(S1),按 2.2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸质量分数 *RSD* 分别为 1.81%、1.52%、1.33%、1.98%、1.50%、0.89%。表明该分析方法精密度良好。

2.8　加样回收率实验

精密称取已知含量的同一批样品(S1)6 份,每份约 0.1 g,分成 6 组,精密加入稀释 2 倍的混合对照品储备液,含新绿原酸 24.10 μg/mL、绿原酸 43.40 μg/mL、隐绿原酸 21.50 μg/mL、异绿原酸 B 8.30 μg/mL、异绿原酸 A 12.20 μg/mL 和 4,5-O-二咖啡酰奎宁酸 15.10 μg/mL 的混合对照品溶液 10 mL,按 2.2.2 项下供试品溶液的制备方法处理并按上述色谱条件进行测定,分别计算各成分的回收率及 *RSD*,见表 3。试验表明本方法准确可靠。

2.9　不同仪器和色谱柱对相对校正因子的影响

取 2.2.1 项下的混合对照品溶液,进样 10 μL,以绿原酸为内标物,按公式计算绿原酸对新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸的相对校正因子,见表 4。相对校正因子:$f_{s/k}=f_s/f_k=(W_s\times A_k)/(W_k\times A_s)$。$f_k$ 是待测组分 k 的校正因子,f_s 是内标物的校正因子;W_s 为内标物的质量浓度;W_k 为待测组分 k 的质量浓度;A_k 为待测组分 k 的峰面积;A_s 为内标物的峰面积。

表 3 6 种成分的回收率试验结果(n=6)

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	*RSD*/%
新绿原酸	0.114 3	0.308 6	0.241 0	0.551 0	100.58	101.40	0.48
	0.118 9	0.321 0	0.241 0	0.565 0	101.24		
	0.108 9	0.294 0	0.241 0	0.538 0	101.24		
	0.102 3	0.276 2	0.241 0	0.522 0	101.99		
	0.108 0	0.291 6	0.241 0	0.537 0	101.66		
	0.102 2	0.275 9	0.241 0	0.523 0	101.66		
绿原酸	0.114 3	0.537 2	0.434 0	1.004 0	102.95	102.70	0.26
	0.118 9	0.558 8	0.434 0	1.003 0	102.35		
	0.108 9	0.511 8	0.434 0	0.958 0	102.76		
	0.102 3	0.480 8	0.434 0	0.925 0	102.30		
	0.108 0	0.507 6	0.434 0	0.954 0	102.86		
	0.102 2	0.480 3	0.434 0	0.926 0	102.76		
隐绿原酸	0.114 3	0.262 9	0.215 0	0.475 0	98.60	98.49	0.20
	0.118 9	0.273 5	0.215 0	0.485 0	98.37		
	0.108 9	0.250 5	0.215 0	0.461 0	98.14		
	0.102 3	0.235 3	0.215 0	0.447 0	98.60		
	0.108 0	0.248 4	0.215 0	0.460 0	98.60		
	0.102 2	0.235 1	0.215 0	0.447 0	98.60		
异绿原酸 B	0.114 3	0.171 4	0.129 0	0.293 0	94.26	94.52	0.13
	0.118 9	0.178 4	0.129 0	0.307 0	94.57		
	0.108 9	0.163 4	0.129 0	0.285 0	94.57		
	0.102 3	0.153 4	0.129 0	0.275 0	94.57		
	0.108 0	0.162 0	0.129 0	0.284 0	94.57		
	0.102 2	0.153 3	0.129 0	0.276 0	94.57		
4,5-O-二咖啡酰奎宁酸	0.114 3	0.125 7	0.1510	0.264 0	91.59	91.42	0.47
	0.118 9	0.130 8	0.1510	0.269 0	92.05		
	0.108 9	0.119 8	0.1510	0.252 0	91.39		
	0.102 3	0.112 5	0.1510	0.250 0	90.73		
	0.108 0	0.118 8	0.1510	0.257 0	91.39		
	0.102 2	0.112 4	0.1510	0.250 0	91.39		

表 4 不同仪器和色谱柱对 6 种成分相对校正因子的影响

仪器	色谱柱	a	b	c	d	e
Water	Sepax GP-C_{18}	1.258	1.048	0.902	0.720	0.750
	Waters Sunfire C_{18}	1.248	1.037	0.906	0.737	0.780
	Shiseido capecell pak C_{18}	1.265	1.038	0.910	0.736	0.774
	Agilent Eclipse Plus C_{18}	1.270	1.045	0.897	0.715	0.765
Agilent	Sepax GP-C_{18}	1.247	1.054	0.902	0.728	0.766
	Waters Sunfire C_{18}	1.266	1.044	0.898	0.723	0.781
	Shiseido capecell pak C_{18}	1.259	1.047	0.891	0.714	0.777
	Agilent Eclipse Plus C_{18}	1.250	1.047	0.917	0.730	0.762
平均值		1.258	1.045	0.903	0.725	0.769
RSD/%		0.70	0.53	0.88	1.18	1.38

注:a、b、c、d、e 分别为新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸的相对校正因子

3 待测组分色谱峰的定位

采用不同仪器和色谱柱,分别测定并计算新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸色谱峰相对于绿原酸色谱峰的保留时间,结果见表 5。

表 5 不同仪器和色谱柱对 6 种成分相对保留时间的影响

仪器	色谱柱	RA/S	RB/S	RC/S	RD/S	RE/S
Water	Sepax GP-C_{18}	0.682	1.044	1.580	1.634	1.670
	Waters Sunfire C_{18}	0.685	1.044	1.606	1.650	1.692
	Shiseido capecell pak C_{18}	0.677	1.053	1.617	1.674	1.709
	Agilent Eclipse Plus C_{18}	0.669	1.060	1.593	1.646	1.696
Agilent	Sepax GP-C_{18}	0.679	1.046	1.585	1.641	1.676
	Waters Sunfire C_{18}	0.693	1.044	1.546	1.598	1.631
	Shiseido capecell pak C_{18}	0.684	1.052	1.601	1.660	1.692
	Agilent Eclipse Plus C_{18}	0.696	1.048	1.567	1.620	1.655
平均值		0.683	1.049	1.587	1.640	1.678
RSD/%		1.27	0.55	1.43	1.44	1.51

注:RA/S、RB/S、RC/S、RD/S、RE/S 分别为新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸相对于绿原酸的保留时间

3.1 一测多评法与外标法测定结果的比较

取 12 批小儿咳喘灵颗粒各适量,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,分别

采用一测多评法和外标法计算样品中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、4,5-O-二咖啡酰奎宁酸的含量，相对误差<5%，两种方法所得结果无明显差异。见表 6。

3.2　一测多评法的再验证

另取小儿咳喘灵颗粒样品 14 批，首先按照建立的一测多评法结合待测化合物的色谱条件对样品中待测的 6 种成分色谱峰进行定位，并对其含量进行实际测算，得到含量的计算值；然后再以多成分同步测定方法（外标法）对其含量进行反证，进一步验证一测多评法的可靠性。结果表明，两种检测方法的含量结果无显著性差异，相对误差<5%，提示一测多评法结果准确可靠。见表 7。

表 6　两种方法含量测定结果比较　　mg/g

样品编号	新绿原酸			绿原酸	隐绿原酸			异绿原酸 B			异绿原酸 A			4,5-O-二咖啡酰奎宁酸		
	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%
S1	2.553	2.459	−3.68	5.273	2.221	2.163	−2.61	0.841	0.820	−2.50	0.540	0.529	−2.04	1.071	1.092	1.96
S2	2.909	2.803	−3.64	5.063	2.424	2.362	−2.56	1.511	1.473	−2.51	0.792	0.776	−2.02	1.339	1.366	2.02
S3	3.026	2.915	−3.67	5.494	2.610	2.542	−2.61	1.054	1.027	−2.56	0.645	0.632	−2.02	1.231	1.255	1.95
S4	3.019	2.909	−3.64	5.391	2.550	2.484	−2.59	1.178	1.148	−2.55	0.669	0.656	−1.94	1.283	1.309	2.03
S5	2.806	2.703	−3.67	4.953	2.360	2.299	−2.58	1.161	1.132	−2.50	0.593	0.58	−2.19	1.182	1.205	1.95
S6	2.824	2.721	−3.65	5.684	2.431	2.368	−2.59	1.288	1.256	−2.48	0.762	0.746	−2.10	1.362	1.389	1.98
S7	2.782	2.681	−3.63	5.206	2.415	2.353	−2.57	0.924	0.911	−1.41	0.571	0.56	−1.93	1.068	1.089	1.97
S8	2.877	2.772	−3.65	4.815	2.408	2.346	−2.57	1.191	1.161	−2.52	0.651	0.638	−2.00	1.246	1.271	2.01
S9	2.842	2.738	−3.66	5.330	2.453	2.390	−2.57	0.927	0.904	−2.48	0.553	0.542	−1.99	1.147	1.170	2.01
S10	2.606	2.510	−3.68	5.320	2.286	2.226	−2.62	0.848	0.827	−2.48	0.523	0.512	−2.10	1.065	1.086	1.97
S11	2.957	2.849	−3.65	5.523	2.519	2.454	−2.58	0.984	0.959	−2.54	0.560	0.548	−2.14	1.121	1.143	1.96
S12	2.561	2.468	−3.63	5.247	2.263	2.204	−2.61	0.853	0.832	−2.46	0.507	0.496	−2.17	1.084	1.106	2.03

表 7　一测多评法测定小儿咳喘灵颗粒中 6 中成分含量的再验证　　mg/g

样品编号	新绿原酸			绿原酸	隐绿原酸			异绿原酸 B			异绿原酸 A			4,5-O-二咖啡酰奎宁酸		
	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%	外标法	一测多评法	相对误差/%
S13	0.531	0.511	−3.77	0.799	0.489	0.476	−2.66	0.195	0.190	−2.56	0.105	0.102	−2.86	0.190	0.194	2.11
S14	0.378	0.364	−3.70	0.597	0.309	0.301	−2.59	0.243	0.237	−2.47	0.140	0.137	−2.14	0.300	0.306	2.00
S15	0.109	0.105	−3.67	0.210	0.093	0.09	−3.23	0.060	0.059	−1.67	0.035	0.034	−2.86	0.085	0.086	1.18
S16	0.189	0.182	−3.70	0.155	0.138	0.134	−2.90	0.048	0.047	−2.08	0.025	0.024	−4.00	0.043	0.044	2.33
S17	0.206	0.198	−3.88	0.172	0.160	0.155	−3.13	0.059	0.057	−3.39	0.026	0.026	0.00	0.055	0.056	1.82
S18	0.291	0.280	−3.78	0.519	0.264	0.257	−2.65	0.111	0.109	−1.80	0.054	0.053	−1.85	0.146	0.149	2.05
S19	0.126	0.121	−3.97	0.297	0.111	0.108	−2.70	0.042	0.041	−2.38	0.029	0.028	−3.45	0.060	0.061	1.67
S20	0.638	0.615	−3.61	0.978	0.647	0.630	−2.63	0.219	0.213	−2.74	0.099	0.097	−2.02	0.263	0.268	1.90
S21	0.497	0.478	−3.82	0.738	0.448	0.436	−2.68	0.178	0.174	−2.25	0.088	0.086	−2.27	0.196	0.200	2.04
S22	0.092	0.088	−4.35	0.182	0.059	0.057	−3.39	0.025	0.024	−4.00	0.022	0.021	−4.55	0.034	0.035	2.94
S23	0.229	0.220	−3.93	0.259	0.216	0.210	−2.78	0.103	0.100	−2.91	0.039	0.039	0.00	0.095	0.097	2.11
S24	0.279	0.268	−3.94	0.735	0.172	0.167	−2.91	0.115	0.112	−2.61	0.154	0.151	−1.95	0.270	0.275	1.85
S25	0.313	0.302	−3.51	1.811	0.195	0.190	−2.56	0.066	0.065	−1.52	0.572	0.560	−2.10	0.466	0.476	2.15
S26	0.196	0.189	−3.57	0.599	0.179	0.174	−2.79	0.064	0.063	−1.56	0.047	0.046	−2.13	0.103	0.105	1.94

4　讨论

采用二极管阵列检测器，在 190～450 nm 波长下对供试品溶液中的待测成分和混合对照品溶液进行了全波长扫描，结果 6 个绿原酸类成分在 320～330 nm 波长处均有最大吸收峰。因此，选择 327 nm 作为检测波长，此检测波长下，各待测成分色谱峰分离度良好。本研究考察了不同仪器和色谱柱对于相对校正因子的影响，结果显示以绿原酸校正因子（1.00）为对照，其他 5 个成分相对校正因子平均值分别为 1.258、1.045、0.903、0.725、0.769，表明相对校正因子不受上述色谱条件影响。各成分相对校正因子的 *RSD* 满足要求，采用一测多评法可以对 6 个成分同时进行测定。

绿原酸是金银花中的主要特征成分，在药材中含量较高，对照品来源有保证且廉价易得，以绿原酸为内标、已有研究[10-13]采用一测多评方法对金银花提取物中 6 种绿原酸类成分进行含量测定，故本研究选择绿原酸作为内参物，能更好地体现一测多评法简便、易操作、低成本的特点。但绿原酸不稳定，遇光易分解，因此在实验过程中应使用棕色瓶，尽量避光操作。

小儿咳喘灵颗粒有多个现行的质量标准，大部分企业执行的是部颁质量标准，未对金银花成分进行测定，

较为简单,基本不能控制药品质量。国家食品药品监督管理局试行质量标准参差不齐,检验项目和限度各不相同,亦无法有效控制小儿咳喘灵颗粒的质量。根据试验测定结果,S1 ~ S12 批次与 S13 ~ S26 批次中检出的药物成分含量不一致,部分企业仅绿原酸成分含量较高,其中 S1 ~ S12 执行国家总局试行质量标准,其标准中需测定金银花中绿原酸的含量,而其余批次药品厂家则执行部颁标准。本实验中测定结果说明企业投料药材之间差异较大或部分企业未按规定处方量投料。因此,仅控制其中绿原酸的含量显然不能真实地评价药物的内在质量,而采用一测多评法,在一定线性范围内,成分的含量与检测器响应成正比,通过使用一种常见对照品同时测定其他 5 种组分的含量,能较为全面而真实地评价小儿咳喘灵颗粒中金银花的内在质量。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂(第四册)[S]. 1991: 19.

[2] 王力川. 金银花的化学成分及功效研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(5): 2036-2037.

[3] 马双成, 毕培曦, 黄荣春, 等. 金银花药材中抗呼吸道病毒感染的咖啡酰奎宁酸类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志, 2005, 25 (7): 751.

[4] 黄喜茹, 刘伟娜, 曹冬. 金银花的化学成分药理作用研究评析[J]. 中医药学刊, 2005, 23(3): 418-419.

[5] 邢钢, 刘皈阳, 马建丽, 等. 解放军某医院儿童中药处方中金银花使用情况调查[J]. 儿科药学杂志, 2013, 19(2): 30-32.

[6] 何兵, 刘艳, 杨世艳, 等. HPLC 一测多评法同时测定双青咽喉片中 10 种成分[J]. 中草药, 2013, 44(8): 974-981.

[7] 何兵, 杨世艳, 张燕. 金银花提取物多指标成分含量及指纹同时检测研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(16): 1280.

[8] 邢丽红, 李文龙, 瞿海斌. 金银花提取物中 5 种有机酸含量测定的紫外光谱法[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 547.

[9] 张宇平, 黄可隆. 高效液相色谱法同时测定金银花中 5 种有机酸[J]. 分析实验室, 2007, 26(7): 67.

[10] 阳利龙, 何周康, 吴浩. 金银花药材的指纹图谱研究[J]. 儿科药学杂志, 2004, 10(5): 15-18.

[11] 郑荣, 郑征伟, 王柯, 等. 金银花提取物中 6 种有机酸类成分测定[J]. 中成药, 2013, 35(3): 560.

[12] 朱粉霞, 张亚丽, 汪晶, 等. 一测多评法测定金银花复方制剂中新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸[J]. 中成药, 2013, 35(12): 2667.

[13] 林永强, 徐丽华, 王淑华, 等. 一测多评法同步测定银黄片中 6 种咖啡酰奎宁酸[J]. 中草药, 2012, 43(4): 974.

(编辑:王乐乐)

(收稿日期:2018-01-29 修回日期:2018-03-28)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2019.05.017

· 综述 ·

儿童肥胖型哮喘中代谢异常和系统性炎症的影响机制及他汀类药物的应用研究进展

欧江燕 综述,黄英 审校(重庆医科大学附属儿童医院,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地,儿科学重庆市重点实验室,重庆 400014)

[中图分类号]R725.6 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2019)05-0051-05

Mechanism of Metabolic Disorder and Systemic Inflammation in Children with Obesity Asthma and Application of Statins

Ou Jiangyan, Huang Ying (*Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing* 400014, *China*)

随着人们生活水平的提高,儿童肥胖超重率及儿童哮喘发病率均逐年上升[1]。肥胖与哮喘在全球范围内呈逐年增加趋势,在发展中国家的儿童及青少年中尤其明显[2]。一项为期 15 年的流行病学研究指出,肥胖与哮喘密切相关[3]。随着人们对肥胖及哮喘的高度关注,目前已有研究指出,肥胖是哮喘的独立危险因素[4],支持将肥胖儿童哮喘作为儿童哮喘的独立表型。亦有研究显示,肥胖儿童罹患重症哮喘比例、急诊就诊率及住院率较正常体质量儿童更高,对药物的治疗反应欠佳[5]。而肥胖对哮喘的相关影响机制中,除脂肪机械负荷的影响外,目前认为代谢失调的作用和系统性炎症反应损伤是导致儿童肥胖型哮喘的重要因素[6-8]。有证据显示,肥胖儿童哮喘的下气道阻塞更严重,第 1 秒用力呼气容积(FEV1)/用力肺活量(FVC)更低;儿童早期肥

作者简介:欧江燕(1990.06-),女,硕士,主要从事儿童呼吸系统疾病研究,E-mail: 709465998@qq.com。