

枫蓼肠胃康片质量标准的研究

徐晓桐¹，程松¹，张小莉¹，张满生²，潘英妮¹，刘晓秋^{1*}
(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 海南慧谷药业有限公司, 海南 海口 570311)

摘要: **目的** 建立枫蓼肠胃康片(牛耳枫和辣蓼)的质量标准。**方法** TLC法鉴定牛耳枫和辣蓼, HPLC法同时测定芦丁和原儿茶酸的含量。**结果** TLC斑点清晰, 阴性无干扰。芦丁和原儿茶酸分别在4~128 μg/mL ($r=0.9997$)和2~64 μg/mL ($r=0.9995$)范围内线性关系良好, 平均回收率分别为101.6% (RSD=2.1%)和98.7% (RSD=2.0%)。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 适用于枫蓼肠胃康片的质量控制。
关键词: 枫蓼肠胃康片; 牛耳枫; 辣蓼; 芦丁; 原儿茶酸
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)06-1289-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.018

Quality standard for Fengliao Changweikang Tablets

XU Xiao-tong¹, CHENG Song¹, ZHANG Xiao-li¹, ZHANG Man-sheng², PAN Ying-ni¹, LIU Xiao-qiu^{1*}
(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Hainan Huigu Pharmaceutical Co., Ltd., Haikou 570311, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish the quality standard for Fengliao Changweikang Tablets (*Daphniphyllum calycinum* Benth. and *Polygonum hydropiper* Linn.). **METHODS** TLC was used for identifying *D. calycinum* and *P. hydropiper*. HPLC was applied to simultaneously determining the contents of rutin and protocatechuic acid. **RESULTS** TLC showed clear spots, free from interference from the negative reference. Rutin and protocatechuic acid displayed good linear relationships within the ranges of 4 – 128 μg/mL ($r=0.9997$) and 2 – 64 μg/mL ($r=0.9995$). The average recoveries were 101.6% (RSD=2.1%) and 98.7% (RSD=2.0%), respectively. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method qualifies for the quality control of Fengliao Changweikang Tablets.
KEY WORDS: Fengliao Changweikang Tablets; *Daphniphyllum calycinum* Benth.; *Polygonum hydropiper* Linn.; rutin; protocatechuic acid

枫蓼肠胃康片是由牛耳枫和辣蓼2味药材加水煎煮, 浓缩得浸膏, 再加入蔗糖、糊精等辅料制成, 用于治疗急慢性肠胃炎^[1]。方中牛耳枫为交让木属植物牛耳枫 *Daphniphyllum calycinum* Benth. 的全草, 具有清热解毒、活血舒筋的功效, 用于感冒发热, 无名肿毒等; 辣蓼为蓼属植物水蓼 *Polygonum hydropiper* Linn. 的全草, 有导滞化湿、祛风止痒、化瘀解毒之功效, 前者主要含黄酮、生物碱和酚酸类成分^[2-5], 而后者主要含黄酮类成分^[6]。

现有部颁标准中的鉴定方法规定了黄酮类成分的盐酸-镁粉反应和生物碱类成分的沉淀反应, 罗杰等^[7]以市售辣蓼为对照进行鉴别, 芦丁为指标进行含量测定, 对枫蓼肠胃康片进行了质量控制, 另有文献报道采用 HPLC 法检测了其中没食子酸^[8]或芦丁^[9-11]含量。经与对照品比对发现, 牛耳枫中的黄酮类成分主要是芦丁, 而酚酸类成分主要是原儿茶酸; 辣蓼中的黄酮类成分(如芦丁)主要分布于叶中, 在茎中的含量极少^[12-13], 而目前

收稿日期: 2015-11-26
作者简介: 徐晓桐(1992—), 男, 硕士生, 从事中药炮制研究。Tel: (024) 23986469, E-mail: 18809896263@163.com
* 通信作者: 刘晓秋(1964—), 女, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础及质量控制研究。Tel: (024) 23986469, E-mail: liuxiao-qiu3388@126.com

应用辣蓼以茎为主要部分，叶部分很少，故芦丁在辣蓼中几乎检测不到。由于缺少对枫蓼肠胃康片全面控制的质量研究，故本实验在对其化学成分进行分析的基础上，以牛耳枫为对照鉴别其中生物碱类成分，以没食子酸为对照鉴别辣蓼，HPLC 法同时测定芦丁和原儿茶酸的含有量，可为有效控制该药物的质量提供依据。

1 材料

1.1 仪器 LC-10AB 高效液相色谱仪，包括 SPD-10PDA 检测器（日本岛津公司）；DZKW 电子恒温水浴锅（北京永光明医疗仪器厂）；AB135-S 十万分之一电子天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；SG3200H 超声清洗仪（150 W、40 kHz，上海冠特超声仪器有限公司）。

1.2 试药与样品 硅胶 GF₂₅₄（青岛海洋化工有限公司）；甲醇、甲酸为分析纯（天津市大茂化学试剂厂）；娃哈哈纯净水（杭州娃哈哈集团有限公司）；乙腈为色谱纯（天津市康科德科技有限公司）。芦丁（批号 080-9303）、原儿茶酸（批号 9WLS-KM8J）、没食子酸（批号 SXE9-TD03）、牛耳枫（批号 G2UG-VANF）对照品或药材（中国食品药品检定研究院）。市售枫蓼肠胃康制剂，共 9 批（由 3 家企业生产，批号分别为 130806、130902、140104、130302、130601、131001、130803、131004、131101，规格分别为 0.2、0.2、0.2、0.5、0.5、0.5、0.24、0.24、0.5 g/片）；3 批自制品（批号分别为 140911、140915、140920，规格分别为 0.3、0.5 [批号 140911 有两个规格]、0.3、0.3 g/片）。牛耳枫和辣蓼药材（海南慧谷药业有限公司）。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

2.1.1 牛耳枫

2.1.1.1 供试品溶液的制备 取本品（批号 130806、130302、130803）研细，各称取约 0.5 g，置于具塞锥形瓶中，加 1% 盐酸-甲醇溶液 20 mL，超声处理 20 min，滤过，滤液置水浴上蒸干，残渣加水 5 mL，浓氨调节 pH 值至 11 ~ 12，乙酸乙酯振摇提取 3 次，每次 5 mL，合并萃取液，挥干，残渣加甲醇 1 mL 溶解，即得。

2.1.1.2 对照药材溶液的制备 称取牛耳枫 1 g，按“2.1.1.1”项下方法制备，即得。

2.1.1.3 阴性对照溶液的制备 按处方称取辣蓼 0.5 g，按制剂工艺制得牛耳枫阴性对照制剂，按 1290

“2.1.1.1”项下方法制备，即得。

2.1.1.4 方法和结果 吸取对照药材、供试品和阴性对照溶液各 5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液（20：5：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以稀碘化铋钾溶液，结果见图 1A。由图可知，供试品在与对照药材色谱相应的位置上，显示相同颜色斑点，阴性样品无干扰。

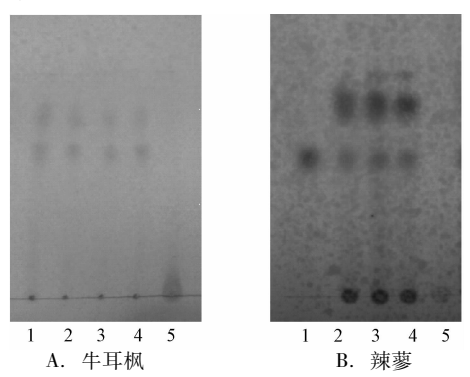
2.1.2 辣蓼

2.1.2.1 供试品溶液的制备 取本品（批号同“2.1.1.1”项）研细，各称取约 0.5 g，加甲醇 10 mL，回流 1 h，滤过，滤液蒸干，残渣加稀盐酸溶液 2 mL 溶解，盐酸饱和的乙醚振摇提取 2 次，每次 10 mL，合并乙醚液，挥干，残渣加甲醇 1 mL 溶解，即得。

2.1.2.2 对照品溶液的制备 称取没食子酸适量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 对照品的溶液，即得。

2.1.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方称取牛耳枫 1 g，按制剂工艺制得辣蓼阴性对照制剂，按“2.1.2.1”项下方法制备，即得。

2.1.2.4 方法和结果 分别吸取对照品、供试品和阴性对照溶液各 5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以二氯甲烷-甲酸乙酯-甲酸（5：4：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液，结果见图 1B。由图可知，供试品在与对照品色谱相应的位置上，显示相同颜色斑点，阴性样品无干扰。



1. 牛耳枫 2~4. 供试品 5. 阴性对照
1. *Daphniphyllum calycinum* Benth. 1. gallic acid 2~4. samples 5. negative control

图 1 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatograms

2.2 含有量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱（150 mm ×

4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.2% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 25 min, 85 % ~ 80% B; 25 ~ 35 min, 80 % ~ 60 % B); 体积流量 0.8 mL/min; 检测波长 254 nm; 柱温室温。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取 120 ℃ 下干燥至恒重的对照品芦丁 3.2 mg 和原儿茶酸 1.6 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取适量, 流动相分别制成含芦丁、原儿茶酸 4、2, 8、4, 16、8, 32、16, 64、32, 128、64 μg/mL 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品研细, 精密称取 1.0 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 回流提取 1 h, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 牛耳枫阴性对照溶液的制备 按处方取辣蓼, 按制备工艺制备阴性样品, 按“2.2.3”项下方法制备, 即得。

2.2.5 阴性干扰实验 吸取混合对照品、供试品和阴性对照溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 2。由图可知, 阴性样品不干扰测定。

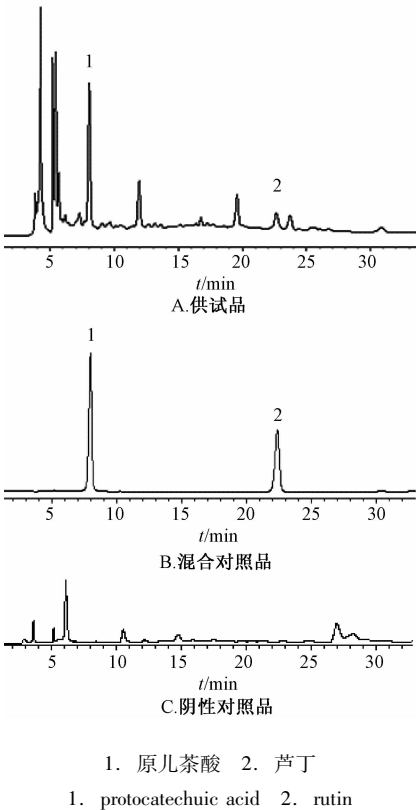


图2 HPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC chromatograms

2.2.6 线性关系考察 在“2.2.1”项色谱条件下, 精密吸取上述混合对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪测定。以质量浓度为横坐标 (C)、峰面积为纵坐标 (A) 绘制标准曲线, 得芦丁回归方程 $A = 2.869 \times 10^4 C + 1.670 \times 10^5$, $r = 0.9997$, 在 4 ~ 128 μg/mL 范围内呈良好的线性关系; 原儿茶酸回归方程 $A = 4.192 \times 10^4 C + 1.407 \times 10^5$, $r = 0.9995$, 在 2 ~ 64 μg/mL 范围内呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 取混合对照品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下, 精密吸取 20 μL, 连续进样 6 次, 测得芦丁和原儿茶酸峰面积 RSD 分别为 1.5% 和 1.4%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取供试品溶液 (批号 140911), 于 0、2、4、6、8 和 24 h 精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 测得芦丁和原儿茶酸峰面积 RSD 分别为 1.2% 和 1.5%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 取本品 (批号 140911) 研细, 精密称取 6 份, 置于具塞锥形瓶中, 按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法制备混合对照品和供试品溶液。各吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 测得芦丁和原儿茶酸含量 RSD 分别为 2.2% 和 1.8%, 表明该方法重复性良好。

2.2.10 回收率试验 取本品 (批号 140911), 研细, 精密称取 6 份, 每份 0.5 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 再分别精密加入 0.802 mg/mL 芦丁对照品溶液 1 mL 和 1.601 mg/mL 原儿茶酸对照品溶液 1 mL, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液。在“2.2.1”项色谱条件下, 吸取 20 μL, 注入液相色谱仪中测定, 结果见表 1。

表1 回收率试验结果 (n=6)

Tab. 1 Results of recovery tests (n=6)						
成分	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回收率/	RSD/
	mg	mg	mg	%	%	%
芦丁	0.773	0.802	1.562	98.4	101.6	2.1
	0.781	0.802	1.587	100.5		
	0.784	0.802	1.610	103.1		
	0.783	0.802	1.611	103.2		
	0.790	0.802	1.597	100.6		
	0.788	0.802	1.621	103.8		
	1.503	1.601	3.045	96.3	98.7	2.0
原儿茶酸	1.606	1.601	3.163	97.2		
	1.601	1.601	3.177	98.4		
	1.609	1.601	3.235	101.6		
	1.629	1.601	3.202	98.2		
	1.600	1.601	3.205	100.0		

2.2.11 含有量测定 对 9 批市售和 3 批自制制剂进行测定,结果见表 2。由表可知,芦丁含有量为 0.372 ~ 1.410 mg/片,而原儿茶酸为 0.057 ~ 1.503 mg/片。同时,自制品中芦丁含有量比市售低,但原儿茶酸比市售高。

表 2 含有量测定结果
Tab. 2 Results of content determination

批号	芦丁含有量/ (mg·片 ⁻¹)	芦丁相对含有量/ %	原儿茶酸含有量/ (mg·片 ⁻¹)	原儿茶酸相对含有量/ %
130806	0.386	0.193	0.128	0.064
130902	0.846	0.423	0.129	0.065
140104	0.770	0.385	0.130	0.065
130302	0.958	0.192	0.061	0.012
130601	0.897	0.179	0.073	0.015
131001	0.431	0.086	0.064	0.013
130803	0.874	0.364	0.113	0.047
131004	0.372	0.155	0.057	0.024
131101	1.410	0.282	0.110	0.022
140911(60℃干燥)	0.773	0.155	1.503	0.301
140911(80℃干燥)	0.466	0.155	0.542	0.181
140915(80℃干燥)	0.447	0.149	0.564	0.188
140920(80℃干燥)	0.429	0.143	0.575	0.192
平均值	0.697	0.220	0.311	0.091

3 讨论

牛耳枫主要含生物碱类、黄酮类和酚酸类成分^[5,14],其中生物碱是牛耳枫中的代表性成分,故本实验建立了以牛耳枫为对照的鉴别生物碱类成分的 TLC 法,专属性强;辣蓼主要含鞣质类、黄酮类和挥发油类成分,由于本方提取工艺是水煎,故未设计挥发性物质的鉴别。没食子酸是辣蓼中的主要成分,具有抗炎、抗突变、抗氧化、抗自由基等多种生物活性^[15],与本品功效一致,而且牛耳枫中不含此成分,具有专属性,故本实验以没食子酸为对照品,采用 TLC 法鉴别处方中的辣蓼。

本品主要功效是治疗急性肠胃炎,方中牛耳枫是君药,主要成分为黄酮类、酚酸类和生物碱类,而且黄酮类和酚酸类的抗炎、抗菌作用与本品功效一致。由于芦丁是牛耳枫中主要的黄酮类成分,而原儿茶酸是牛耳枫中主要的酚酸类成分,故选择两者作为含有量测定指标^[16-17]。

文献[18-19]报道,辣蓼中含有芦丁。由于药材在采集晾干后,叶子很容易与茎分离,而且易碎,故使用茎较多。另外,所测定的芦丁来自牛耳枫,而在辣蓼中很难检测到,故鉴别芦丁时无干扰。

枫蓼肠胃康片市售品与自制品比较,芦丁含有量远高于自制品,但原儿茶酸含有量远低于后者,可能是药材来源不同所致。另外,尽管芦丁是牛耳枫的主要成分,但仅以其为指标成分进行测定时专

属性不强,易导致掺假行为。个别市售制剂中原儿茶酸含有量偏低,推测可能市售与自制制剂中被测成分的转移率不同,或按照现有提取工艺,在提取液浓缩成浸膏时采用 80℃减压浓缩。实验表明,若浸膏置于 80℃减压干燥箱中 3 h,原儿茶酸含有量从 3.3 mg/g 下降到 1.5 mg/g,而且原儿茶酸在高温下会分解,释放出 CO₂,导致含有量降低。因此,制剂中间体浸膏的干燥温度对主药有效成分影响很大,应注意制药工程关键环节的质量控制。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂):第17册[S]. 1998:147.

[2] Gamez E J, Luyengi L, Lee S K, et al. Antioxidant flavonoid glycosides from *Daphniphyllum calycinum*[J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(5): 706-708.

[3] Li Z Y, Peng S Y, Fang L, et al. Two new *Daphniphyllum* alkaloids from the stems and leaves of *Daphniphyllum calycinum*[J]. *Chem Biodivers*, 2009, 6(1): 105-110.

[4] 饶桂维. 中药牛耳枫生物碱类化学成分及活性研究[D]. 杭州:浙江工业大学,2009.

[5] Morita H, Kobayashi J. Calyciphyllines A and B, two novel hexacyclic alkaloids from *Daphniphyllum calycinum*[J]. *Org Lett*, 2003, 5(16): 2895-2898.

[6] 张国英,曾 韬. 辣蓼主要化学成分的研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(3): 21-24.

[7] 罗 杰,王德勤,陈松光,等. 枫蓼肠胃康片的质量标准研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(11): 886.

[8] 黄朋纳,刁习霞. HPLC 法测定枫蓼肠胃康片中没食子酸

[9]

郭润勤. HPLC法测定枫蓼肠胃康片中芦丁的含量[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(5): 269-270.

[10]

杨芳, 戴德雄, 朱莹, 等. 枫蓼肠胃康分散片制备工艺及其质量控制研究[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2424-2427.

[11]

王玉鹏, 赵丽华, 黄顺旺. 枫蓼肠胃康分散片的质量研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 109-111.

[12]

汤建, 陈妹好, 刘瑞江, 等. 辣蓼草总黄酮的超声提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(6): 1387-1388.

[13]

何立美, 陈玉婷, 刘洪梅, 等. 高效液相色谱法同时测定水辣蓼提取物中6种黄酮成分的含量[J]. 广东农业科学, 2014, 41(13): 94-98.

[14]

杨卫丽, 曾祥周, 任守忠, 等. 牛耳枫与辣蓼提取物药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2229-2231.

[15]

张雅丽, 李建科, 刘柳, 等. 五倍子没食子酸研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(10): 386-390.

[16]

李海龙, 刘明生, 张俊清, 等. 牛耳枫药材中总黄酮含量测定[J]. 海南医学, 2012, 23(15): 106-108.

[17]

孙水涛, 沈丹. 高效液相色谱法测定牛耳枫中芦丁的含量[J]. 黑龙江科技信息, 2009(33): 246.

[18]

刘洪升, 范云, 王秀兰. 海南辣蓼中黄酮体的提取与鉴别[J]. 热带农业科学, 2000(4): 42-43.

[19]

常瑛, 王四旺, 张超, 等. 辣蓼中芦丁的薄层及紫外光谱鉴别[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(10): 46-47.

复方茜草片质量标准的研究

方乐敏¹, 杨骏^{1,2}, 刘云¹, 浦益琼^{1*}, 张彤^{1*}
(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海市香山中医医院, 上海 200020)

摘要: **目的** 建立复方茜草片(茜草和新疆紫草)的质量标准。**方法** TLC法对茜草和新疆紫草进行鉴别, HPLC法测定大叶茜草素含量。分析采用C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-乙腈-0.2%磷酸(25:50:25); 体积流量1.0 mL/min; 柱温25℃; 检测波长250 nm。**结果** TLC斑点清晰, 分离度好。大叶茜草素在0.828 125~106 μg/mL范围内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均加样回收率为96.66% (RSD=2.04%)。**结论** 该方法可用于复方茜草片的质量控制。

关键词: 复方茜草片; 茜草; 新疆紫草; 大叶茜草素

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2016)06-1293-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.019

Quality standard for Compound Rubia Tablets

FANG Yue-min¹, YANG Jun^{1,2}, LIU Yun¹, PU Yi-qiong^{1*}, ZHANG Tong^{1*}
(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Municipal Xiangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200020, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish the quality standard for Compound Rubia Tablets (*Rubia cordifolia* L. and *Arnebia euchroma* [Royle] Johnst.). **METHODS** *R. cordifolia* and *A. Euchroma* were identified by TLC, and the content of mollugin was determined by HPLC. The analysis was performed on a 25℃ thermostatic C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-acetonitrile-0.2% phosphoric acid (25:50:25) at a flow rate of 1.0 mL/min, and detection wavelength was set at 250 nm. **RESULTS** The TLC spots were clear and well-separated. Mollugin showed a good linear relationship within the range of 0.828 125–106 μg/mL ($r=0.999\ 8$). The average recovery was 96.66% (RSD=2.04%). **CONCLUSION** This meth-

收稿日期: 2015-09-06
基金项目: 上海市科学技术委员会中药现代化专项(11DZ1971500); 上海市卫生和计划生育委员会青年项目(20124Y002)
作者简介: 方乐敏(1990—), 女, 硕士生, 从事药物新剂型和新技术研究。Tel: (021) 51322685, E-mail: diy430@163.com
*通信作者: 浦益琼(1980—), 女, 讲师, 从事中药新剂型研究。Tel: (021) 51323068, E-mail: puyiq@163.com
张彤(1972—), 男, 教授, 从事中药新药研究。Tel: (021) 51322318, E-mail: zhangtdmj@hotmail.com