

素、芹菜素、芒柄花素、黄芪甲苷的含有量,该方法样品处理简单、分析时间短、灵敏度高、专属性好、结果准确可靠,重复性理想,对贞芪扶正胶囊的质量控制及黄芪或女贞子的相关研究具有重要意义。

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 : 111.

[2] 刘德丽, 包华音, 刘 杨. 近 5 年黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 食品与药品, 2014, 16 (1): 68-70.

[3] 邱勇波, 刘 锦, 武 飞. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国疗养医学, 2011, 20 (5): 435-436.

[4] Sun H, Wang W, Han P, *et al.* Astragaloside IV ameliorates renal injury in *db/db* mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 32545.

[5] Sun J, Chen X L, Zheng J Y, *et al.* Astragaloside IV protects new born rats from anesthesia-induced apoptosis in the developing brain [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12 (3): 1829-1835.

[6] Wu H, Gao Y, Shi H L, *et al.* Astragaloside IV improves lipid metabolism in obese mice by alleviation of leptin resistance and

regulation of thermogenic network [J]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 30190.

[7] 程 敏, 胡正海. 女贞子的生物学和化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41 (7): 1219-1221.

[8] 刘亭亭, 王 萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 (14): 228-234.

[9] 胡芳弟, 封士兰, 赵健雄. RP-HPLC 测定贞芪扶正制剂中两种异黄酮类成分的含量 [J]. 中成药, 2004, 26 (9): 705-707.

[10] 程 伟, 石晓伟, 张嫡群, 等. 贞芪扶正胶囊中黄芪甲苷和红景天苷的含量测定 [J]. 中成药, 2006, 28 (5): 658-662.

[11] 崔 方, 李 文, 胡芳弟, 等. 高效液相色谱法测定贞芪扶正制剂中 8 种生物活性化合物的含量 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30 (7): 1185-1189.

[12] Tao W Q, Zhou Z G, Zhao B, *et al.* Simultaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC-MS-MS method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 131 : 140-145.

[13] 常星洁, 刘汉清, 邹建荣, 等. 响应面法优化女贞子有效成分的提取工艺 [J]. 中成药, 2013, 35 (2): 277-281.

HPLC 法同时测定金嗓利咽胶囊中 8 种成分

陈纪龙
(铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定金嗓利咽胶囊 (厚朴、茯苓、枳实等) 中和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸的含有量。 **方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4. 6 mm × 250 mm, 5. 0 μm); 以乙腈-0. 05% 磷酸为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 0. 9 mL/min; 检测波长 294、241、210 nm; 柱温 35 ℃。 **结果** 8 种成分在各自范围内线性关系良好 (*r* > 0. 999 0), 平均加样回收率均大于 96. 0% , RSD 均小于 2. 0% 。 **结论** 该方法快速简便, 重复性好, 可用于金嗓利咽胶囊的质量控制。

关键词: 金嗓利咽胶囊; 化学成分; HPLC

中图分类号: R927. 2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2017)07-1402-04
doi:10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2017. 07. 016

Simultaneous determination of eight constituents in Jinsang Liyan Capsules by HPLC

CHEN Ji-long
(Tongren Polytechnic College, Tongren 554300, China)

ABSTRACT: AIM To develop an HPLC method for the simultaneous content determination of honokiol, magnolol, dehydrotumulosic acid, tumulosic acid, polyporenic acid C, 3-epidehydrotumulosic acid, dehydropachymic

收稿日期: 2016-12-08
作者简介: 陈纪龙 (1978—), 男, 讲师, 从事药学相关研究教学工作。E-mail: romantichen@126. com

acid and pachymic acid in Jinsang Liyan Capsules (*Magnoliae officinalis Cortex*, *Poria*, *Aurantii Fructus Immaturus*, etc.). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was carried out on a 35 °C thermostatic Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile- 0.05% phosphoric acid flowing at 0.9 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 294, 241 and 210 nm. **RESULTS** Eight constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r > 0.999\ 0$), whose average recoveries were more than 96.0% with the RSDs of less than 2.0%. **CONCLUSION** This simple and reproducible method can be used for the quality control of Jinsang Liyan Capsules. **KEY WORDS:** Jinsang Liyan Capsules; chemical constituents; HPLC

金嗓利咽胶囊具有燥湿化痰,疏肝理气的功效,临床上主要用于咽部不适、咽部异物感、声带肥厚等症的治疗,尤其对痰湿内阻、肝郁气滞型者效果显著。其收载于卫生部颁药品标准中药成方制剂第 12 册^[1],由茯苓、枳实(炒)、胆南星、砂仁、槟榔、六神曲(炒)、生姜、木蝴蝶、法半夏、青皮(炒)、橘红、豆蔻、合欢皮、紫苏梗、蝉蜕、厚朴(制) 16 味药材加工而成,但该标准仅对其性状和鉴别进行了规定,尚无成分定量测定,难以对该制剂质量进行准确客观评价。因此,本实验采用 HPLC 法同时测定金嗓利咽胶囊中和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸的含有量,可为控制其质量提供较有力的依据。

1 材料与仪器

金嗓利咽胶囊(每粒装 0.4 g)购自西安碑林药业股份有限公司。和厚朴酚(110730-201313)、厚朴酚(110729-201513)对照品购自中国食品药品检定研究院;去氢土莫酸(6754-16-1)、土莫酸(508-24-7、465-18-9)、猪苓酸 C(465-18-9)、3-表去氢土莫酸(167775-54-4)、去氢茯苓酸(2798-20-1)、茯苓酸(29070-92-6)对照品购自南京森贝伽生物科技有限公司。乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯。Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);电子分析天平(十万分之一,瑞士 Mettler-Toledo 公司);KQ-400KDE 超声波清洗器(常州诺基仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm);流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸,梯度洗脱^[2-6](0~11 min, 65.0% A; 11~21 min, 65.0% → 75.0% A; 21~47 min, 75.0% → 90.0% A; 47~55 min, 90.0% → 65.0% A);0~21 min 时在 294 nm 波长下检测和厚朴酚、厚朴酚^[7-10], 21~42 min 时在 241 nm 波长下检测去氢

土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸和去氢茯苓酸^[11-13], 42~55 min 时在 210 nm 波长下检测茯苓酸^[11-13];体积流量 0.9 mL/min;柱温 35 °C;进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液制备 精密称取和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸对照品适量,甲醇分别制成每 1 mL 含 1.972、2.496、0.518、0.452、0.644、0.420、0.948、1.102 mg 各成分的对照品贮备液。分别量取适量,甲醇稀释定容,制成 0.098 6、0.124 8、0.025 9、0.011 3、0.016 1、0.008 4、0.023 7、0.055 1 mg/mL 对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 取样品内容物适量,研细,精密称取约 3.0 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,超声 30 min,放冷,甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得。

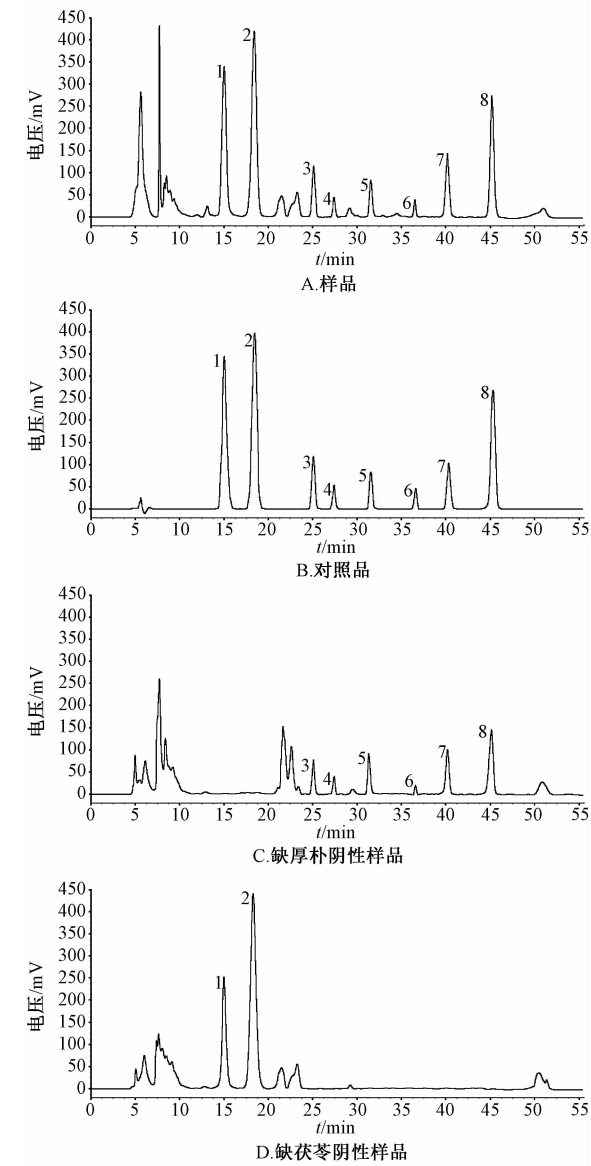
2.4 阴性溶液制备 按组方比例和生产工艺,分别制备缺厚朴、茯苓阴性样品,按“2.3”项下方法制备,即得。

2.5 专属性试验 精密吸取“2.2”~“2.4”项下溶液适量,在“2.1”项色谱条件下分析,发现阴性无干扰,各色谱峰之间的分离度均大于 1.5。色谱图见图 1。

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下对照品贮备液 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL,置于 20 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 6 个梯度对照品溶液,在“2.1”项色谱条件下测定。以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表 1,表明各成分在各自范围内线性关系良好。

2.6.2 精密度试验 取“2.2”项下对照品溶液,在“2.1”项色谱条件下测定,连续 6 次,测得和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸峰面积



1. 和厚朴酚 2. 厚朴酚 3. 去氢土莫酸 4. 土莫酸 5. 猪苓酸 C 6. 3-表去氢土莫酸 7. 去氢茯苓酸 8. 茯苓酸
1. honokiol 2. magnolol 3. dehydrotumulosic acid 4. tumulosic acid 5. polyporenic acid C 6. 3-epidehydrotumulosic acid 7. dehydropachymic acid 8. pachymic acid

图1 各成分HPLC色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

RSD 分别为 0.89%、0.82%、1.01%、1.19%、1.15%、1.27%、1.06%、0.93%，表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取样品（批号 201505010）6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，测得和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸含有量 RSD 分别为

表1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>r</i>
和厚朴酚	$Y=1.527\ 9\times10^6X-407.1$	9.86~197.20	0.999 9
厚朴酚	$Y=1.735\ 1\times10^6X+199.8$	12.48~249.60	0.999 9
去氢土莫酸	$Y=1.083\ 9\times10^6X+369.5$	2.59~51.80	0.999 2
土莫酸	$Y=7.531\ 6\times10^5X-268.4$	2.26~45.20	0.999 7
猪苓酸 C	$Y=1.102\ 2\times10^6X-479.0$	3.22~64.40	0.999 8
3-表去氢土莫酸	$Y=9.035\ 7\times10^5X-311.9$	2.10~42.00	0.999 9
去氢茯苓酸	$Y=1.294\ 5\times10^6X+280.6$	4.74~94.80	0.999 6
茯苓酸	$Y=1.601\ 2\times10^6X-295.6$	5.51~110.20	0.999 3

1.12%、1.04%、1.36%、0.59%、1.35%、0.79%、1.30%、1.06%，表明该方法重复性良好。

2.6.4 稳定性试验 取同一供试品溶液（批号 201505010），于 0、4、8、12、16、20、24 h 在“2.1”项色谱条件下测定，测得和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸峰面积 RSD 分别为 0.92%、0.80%、1.09%、1.11%、1.26%、1.39%、1.14%、1.07%，表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定性良好。

2.6.5 加样回收率试验 精密称取各对照品适量，甲醇溶解，制得含和厚朴酚 0.467 2 mg/mL、厚朴酚 0.681 1 mg/mL、去氢土莫酸 0.121 7 mg/mL、土莫酸 0.261 4 mg/mL、猪苓酸 C 0.479 7 mg/mL、3-表去氢土莫酸 0.178 1 mg/mL、去氢茯苓酸 0.367 5 mg/mL、茯苓酸 0.306 2 mg/mL 的对照品溶液。精密称取样品（批号 201505010）内容物 6 份，每份约 1.5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入上述对照品溶液 5、5、5、1、1、1、2、5 mL 及甲醇 25 mL，称定质量，超声 30 min，放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液，在“2.1”项色谱条件下测定，测得各成分平均加样回收率分别为 99.17%、98.25%、98.82%、97.67%、99.93%、96.89%、97.93%、98.73%，RSD 分别为 0.91%、1.33%、1.36%、1.66%、0.78%、0.89%、1.41%、1.78%。

2.7 样品含有量测定 取样品 3 批，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长选择 本实验取和厚朴酚、厚朴酚对照品溶液进行紫外扫描（190~400 nm），发现两者在 294 nm 波长处均有最大吸收，同时参考 2015 年版《中国药典》及文献 [7-10]，确定其检

表 2 各成分含有量测定结果 (n=3, mg/g)

Tab. 2 Results of content determination of various constituents (n=3, mg/g)

成分	批号		
	201505010	201509019	201511026
和厚朴酚	1.574	1.451	1.768
厚朴酚	2.285	2.119	2.536
去氢土莫酸	0.407	0.382	0.463
土莫酸	0.173	0.160	0.191
猪苓酸 C	0.322	0.305	0.376
3-表去氢土莫酸	0.119	0.135	0.121
去氢茯苓酸	0.493	0.523	0.557
茯苓酸	1.016	0.972	1.128

测波长为 294 nm；取去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸对照品溶液进行紫外扫描（190 ~ 400 nm），发现前五者在 241 nm 波长处均有最大吸收，而茯苓酸在 210 nm 波长处有最大吸收，同时参考文献 [11-13] 进一步得以确认。

3.2 流动相选择 本实验先用甲醇-水体系^[7-8]进行梯度洗脱，但分离效果及峰形均不理想，再将甲醇换为乙腈，可使分离效果明显提高。以其进行梯度洗脱时，去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸均能得到较好分离，但和厚朴酚、厚朴酚分离度达不到要求，故通过在流动相中加入酸来改善分离效果，发现磷酸可明显消除基线噪音和漂移现象，各色谱峰分离度也较好。然后，对不同体积分数磷酸（0.05%、0.1%、0.5%）进行比较，发现乙腈-0.05% 磷酸梯度洗脱时，各成分均能有效分离，峰形对称，能满足定量测定要求。

4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定金嗓子咽胶囊中和厚朴酚、厚朴酚、去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸的含有量，该方法分析时间短、操作简便、重复性好，对

其质量控制具有重要意义。

参考文献：

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部颁药品标准 (中药成方制剂): 第 12 册[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 95.

[2] 薛珍珍, 晏仁义, 曹阳阳, 等. HPLC-DAD 测定厚朴中 6 种活性成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 (22): 45-49.

[3] 马 鹏, 林 涛. 反相高效液相色谱法测定和比较厚朴及和厚朴中厚朴酚及和厚朴酚含量[J]. 华西药学杂志, 1993, 8(2): 87-89.

[4] 张靓琦, 贾 英, 罗 洁, 等. 超高效液相色谱法同时测定茯苓中去氢土莫酸等 6 种活性成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 47(13): 1080-1083.

[5] 金晓勇, 贾晓斌, 陈 彦, 等. HPLC 测定不同产地茯苓中猪苓酸 C 和去氢土莫酸[J]. 中草药, 2009, 40(7): 1150-1152.

[6] 沈玉萍, 杨 欢, 陈 斌, 等. 反相高效液相色谱法测定中药茯苓中 4 种三萜酸的含量[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(5): 388-390.

[7] 郭建华, 刘佳乐, 黄 亮, 等. 高效液相色谱法同时测定厚朴提取物中厚朴酚与和厚朴酚[J]. 广东化工, 2014, 41(17): 181-182.

[8] 黄晓燕, 张盈娇, 李隆云, 等. 高效液相色谱法测定厚朴叶不同采收期中厚朴酚, 和厚朴酚的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9): 717-718.

[9] 罗晨媛, 罗跃华, 陈伟康, 等. UHPLC 法同时测定六味香连胶囊中 5 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(3): 556-559.

[10] 邬伟魁, 严倩茹. 一测多评法测定厚朴饮片中厚朴酚与和厚朴酚含量[J]. 中国执业药师, 2016, 13(1): 23-25.

[11] 车 爽, 李 清, 霍艳双, 等. 波长转换 RP-HPLC 法同时测定茯苓不同部位中 5 种三萜酸含量[J]. 药学报, 2010, 45(4): 494-497.

[12] 刘校妃, 李健康, 唐 怡, 等. 茯苓中去氢土莫酸和茯苓酸含量的高效液相色谱波长切换法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 516-518.

[13] 王 坚, 徐 菁, 李 鹏, 等. HPLC 法同时测定补益资生丸中白术内酯Ⅲ、白术内酯 I、去氢土莫酸、猪苓酸 C 和茯苓酸[J]. 中成药, 2015, 37(8): 1718-1722.