

Biochem, 2009, 108(1): 117-124.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1213-1219.

[9] 束云, 李贻奎, 李连达. 复方丹参制剂药理作用的比较研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 132-134.

[10] 李玉珍, 陈日来, 陈晓凯, 等. 高效液相色谱法测定复方丹参片和滴丸中丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(6): 523-525.

[11] 邢俊波, 方白玉. 复方丹参制剂中活性成分的 HPLC 同时定量分析[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(1): 36-38.

[12] 赵欣, 强光辉, 郭毅, 等. 复方丹参滴丸人含药血浆中

三七相关代谢物的研究[J]. 质谱学报, 2007, 28(1): 23-26, 30.

[13] Pei W J, Zhao X F, Zhu Z M, *et al.* Study of the determination and pharmacokinetics of Compound Danshen Dripping Pills in human serum by column switching liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004, 809(2): 237-242.

[14] 裴涓静, 赵新锋, 胡震, 等. 采用柱切换色谱离子阱质谱联用法研究复方丹参滴丸中丹参素及其代谢产物[J]. 分析化学, 2005, 33(4): 505-508.

HPLC 法同时测定陈香露白露片中 4 种成分

胡昭君, 陈斌, 余岳林, 张少敏
(上海市静安区食品药品检验所, 上海 200435)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定陈香露白露片(甘草、陈皮、川木香等)中 4 种成分的含有量。**方法** 该药物 50% 甲醇提取液的分析采用 Agilent Eclipse C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 230 nm。**结果** 甘草酸铵、橙皮苷、木香炔内酯、去氢木香内酯分别在 9.908~118.9、4.510~72.16、2.582~41.31、2.685~42.95 μg/mL 范围内线性关系良好($r\geq 0.999\ 9$), 平均加样回收率分别为 98.97%、99.33%、99.77%、100.80%, RSD 分别为 0.77%、1.51%、1.35%、1.06%。**结论** 该方法准确可靠、重复性好, 可用于陈香露白露片的质量控制。

关键词: 陈香露白露片; 甘草酸铵; 橙皮苷; 木香炔内酯; 去氢木香内酯; HPLC

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)02-0274-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.02.007

Simultaneous determination of four constituents in Chenxianglu Bailu Tablets by HPLC

HU Zhao-jun, CHEN Bin, YU Yue-lin, ZHANG Shao-min
(Shanghai Jing'an District Institute for Food and Drug Control, Shanghai 200435, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of four constituents in Chenxianglu Bailu Tablets (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Citri reticulatae Pericarpium*, *Vladimiriae Radix*, *etc.*). **METHODS** The analysis of 50% methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Agilent Eclipse C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner and the detection wavelength was set at 230 nm. **RESULTS** Ammonium glycyrrhizinate, hesperidin, costunolide and dehydrocostus lactone showed good linear relationships within the ranges of 9.908–118.9, 4.510–72.16, 2.582–41.31, 2.685–42.95 μg/mL ($r\geq 0.999\ 9$), whose average recoveries were 98.97%, 99.33%, 99.77%, 100.80% with the RSDs of 0.77%, 1.51%, 1.35%, 1.06%, respectively. **CONCLUSION** This accurate, reliable and reproducible method can be

收稿日期: 2018-04-21

作者简介: 胡昭君(1981—), 女, 硕士生, 主管药师, 从事中西药质量标准研究。Tel: (021) 66972895-8316, E-mail: kitty-hu-2008@163.com

used for the quality control of Chenxianglu Bailu Tablets.

KEY WORDS: Chenxianglu Bailu Tablets; ammonium glycyrrhizinate; hesperidin; costunolide; dehydrocostus lactone; HPLC

陈香露白露片由甘草、次硝酸铋、陈皮、碳酸镁、川木香、氧化镁、大黄、碳酸氢钠、石菖蒲组成，功效健胃和中、理气止痛，主要用于胃酸过多、慢性胃炎引起的胃脘痛等症状。目前，陈香露白露片质量标准^[1]中的含有量测定仅针对化药次硝酸铋，尚未涉及甘草、陈皮等中药成分；前期报道有测定次硝酸铋中铋含有量的^[2]，测定陈皮中橙皮苷含有量的^[3-6]，测定甘草中甘草酸铵、甘草次酸含有量的^[7-8]，分别测定陈皮中橙皮苷、甘草中甘草酸铵含有量的^[9]，但对其他中药成分含有量测定均无报道。陈香露白露片中甘草有补中益气、缓急止痛、清热解毒的作用^[10]，主要成分为甘草酸铵；陈皮有理气健脾、燥湿化痰的作用^[11]，主要成分为橙皮苷；川木香在治疗胃肠道疾病方面有比较好的疗效，其主要活性成分为木香烃内酯和去氢木香内酯^[12]。本实验通过 HPLC 法同时测定陈香露白露片中甘草酸铵、橙皮苷、木香烃内酯、去氢木香内酯的含有量，方法快速简便，稳定可靠，可更有效地控制该制剂内在质量，并为其临床用药安全提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters E2695 高效液相色谱仪，配置真空脱气机、四元泵、自动进样系统、柱温箱、二极阵列管检测器、色谱工作站（美国 Waters 公司）；Branson B55000S-MT 超声波清洗器（上海必能信超声有限公司）；ME-235S/CP124S 电子天平（德国赛多利斯公司）。

1.2 试药 橙皮苷（110721-201617，含有量 96.1%）、甘草酸铵（110731-201619，含有量 93.0%）、木香烃内酯（111524-201710，含有量 99.5%）、去氢木香内酯（111525-201711，含有量 99.8%）对照品均购自中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯（德国 Merck 公司）；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。5 批陈香露白露片均购自药店，来自 5 家生产企业（批号 170105、20170502、161201、160411、A161260）。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取对照品橙皮苷 9.83 mg、甘草酸铵 19.34 mg、木香烃内酯 9.50 mg、

去氢木香内酯 9.37 mg，置于 4 个 50 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为贮备液。分别精密量取 4 种贮备液 5、2、1、1 mL 置于同一 20 mL 量瓶中，50% 甲醇稀释定容至刻度，摇匀，即得。

2.1.2 供试品溶液 取质量差异项下片剂研匀，精密称取约 0.5 g，置于 50 mL 量瓶中，加适量 50% 甲醇超声提取 30 min，取出，放冷，50% 甲醇稀释定容至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方比例及工艺，分别制备缺陈皮、甘草、川木香的阴性样品，按“2.1.2”项下方法制备相应溶液，即得。

2.2 色谱条件与系统适用性试验 Agilent Eclipse C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-0.1% 磷酸（B），梯度洗脱（0~20 min，70%~60% B；20~30 min，60%~40% B；30~50 min，40%~30% B；50~51 min，30%~10% B；51~56 min，10% B；56~57 min，10%~70% B；57~67 min，70% B）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 230 nm；进样量 20 μL。理论塔板数按橙皮苷计均大于 8 000，各成分色谱峰与相邻峰的分离度均大于 3.0。

2.3 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，供试品在对照品相同保留时间处有色谱峰，阴性无干扰，待测成分与其他成分分离度良好。

2.4 线性关系考察 精密称取橙皮苷对照品 20.62 mg，置于 100 mL 量瓶中，甲醇稀释定容至刻度，作为橙皮苷对照品贮备液；精密称取甘草酸铵对照品 19.80 mg、木香烃内酯对照品 11.38 mg、去氢木香内酯对照品 10.76 mg，置于同一 20 mL 量瓶中，甲醇稀释定容至刻度，作为混合对照品贮备液。分别精密量取前一种对照品贮备液 2.5、5、10、15、30 mL，后一种对照品贮备液 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mL，置于 50 mL 量瓶中，50% 甲醇稀释定容至刻度，摇匀，作为相应对照品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样 20 μL 测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积积分值为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

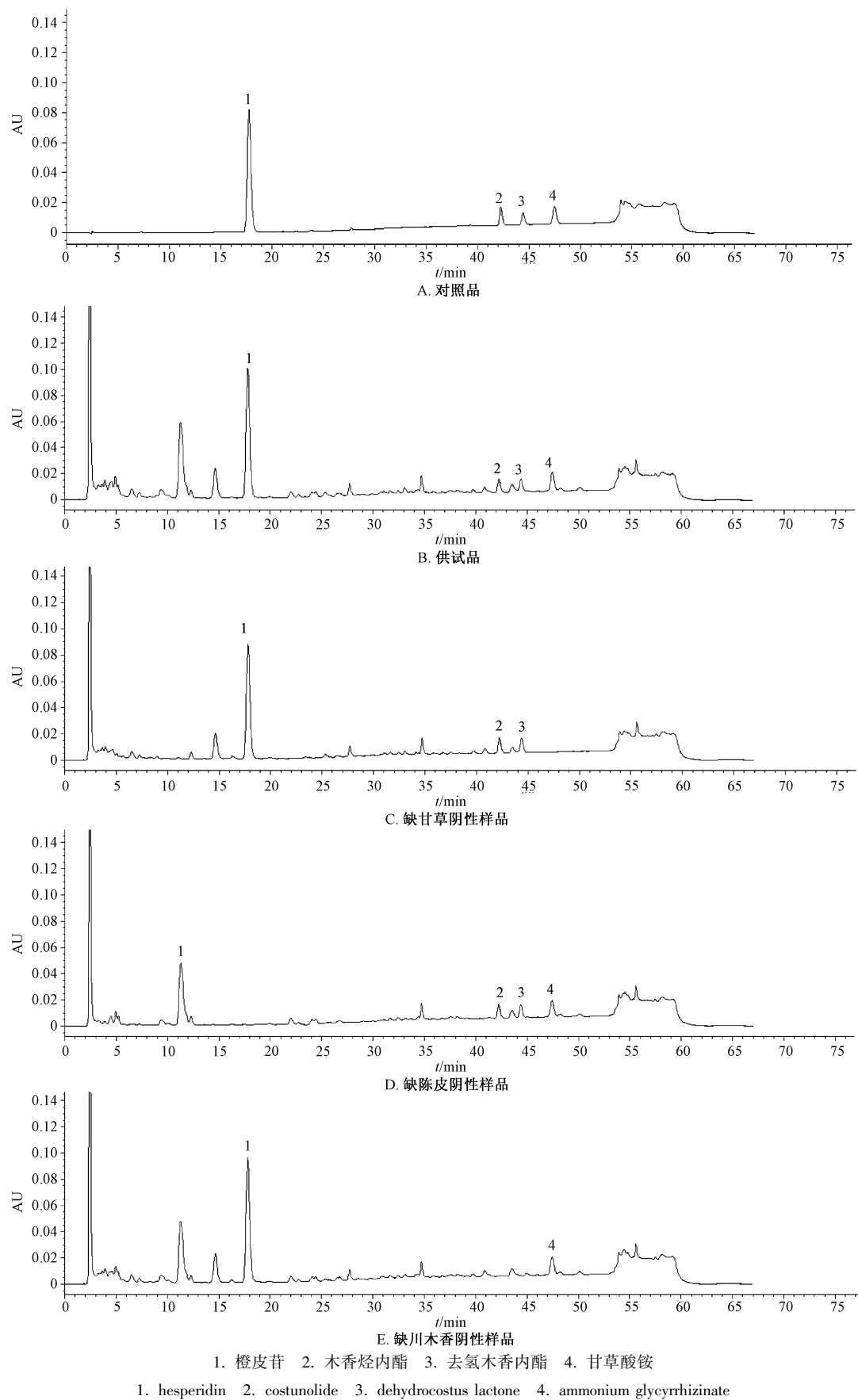


图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

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/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r	
橙皮苷	$Y=42\ 861X-17\ 958$	9. 908~118. 9	1. 000 0	
甘草酸铵	$Y=8\ 745X-8\ 023. 9$	4. 510~72. 16	0. 999 9	
木香炔内酯	$Y=25\ 186X-7\ 118. 5$	2. 582~41. 31	1. 000 0	
去氢木香内酯	$Y=16\ 518X-4\ 516. 4$	2. 685~42. 95	1. 000 0	

2.5 精密度试验 取供试品溶液（批号 170105）1 份，在“2.2”项色谱条件下进样测定 6 次，测得橙皮苷、甘草酸铵、木香炔内酯、去氢木香内酯峰面积 RSD 分别为 0.31%、0.38%、0.32%、1.07%，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号（170105）片剂，按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得橙皮苷、甘草酸铵、木香炔内酯、去氢木香内酯含有量 RSD 分别为 1.07%、0.84%、1.23%、0.61%，表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液（批号 170105）1 份，于 0、4、8、12、16、20、24、28、32、36 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得橙皮苷、甘草酸铵、木香炔内酯、去氢木香内酯峰面积 RSD 分别为 0.60%、0.53%、0.79%、0.36%，表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取橙皮苷、甘草酸铵、木香炔内酯、去氢木香内酯对照品适量，50% 甲醇稀释，制成每 1 mL 分别含上述对照品 0.188 9、0.047 56、0.041 16、0.041 60 mg/mL 的对照品溶液。精密称取“2.6”项下含有量已知的片剂（批号 170105）0.25 g，共 9 份，置于 50 mL 量瓶中，精密加入对照品溶液 4、5、6 mL，再加入适量 50% 甲醇，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 2。

2.9 样品含有量测定 取 5 批片剂，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，外标法计算含有量，结果见表 3。

3 讨论

3.1 流动相选择 参照 2015 年版《中国药典》中陈皮、甘草、川木香含有量测定条件，本实验考察了乙腈-0.1% 磷酸、甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 磷酸，发现各成分色谱峰峰形在甲醇-0.1% 磷酸中较好，而且与相邻杂质峰的分离度均能达到要求，故选择其作为流动相。

表 2 各成分加样回收率试验结果（ $n=9$ ）

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents ($n=9$)						
成分	取样量/	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回收
	g	mg	mg	mg	%	率/% (RSD/%)
橙皮苷	0.250 2	1.045 6	0.755 7	1.783 35	97.63	99.33 (1.51)
	0.251 5	1.051 0	0.755 7	1.796 2	98.61	
	0.250 2	1.045 6	0.755 7	1.794 15	99.06	
	0.252 1	1.053 5	0.944 7	1.979 2	97.99	
	0.250 7	1.047 7	0.944 7	1.971 45	97.78	
	0.249 5	1.042 7	0.944 7	1.993 65	100.67	
	0.251 0	1.048 9	1.133 6	2.194 35	101.04	
	0.251 8	1.052 3	1.133 6	2.180 25	99.50	
	0.250 8	1.048 1	1.133 6	2.201 2	101.72	
甘草酸铵	0.250 2	0.301 5	0.190 2	0.491 5	99.90	98.97 (0.77)
	0.251 5	0.303 1	0.190 2	0.490 9	98.76	
	0.250 2	0.301 5	0.190 2	0.488 7	98.43	
	0.252 1	0.303 8	0.237 8	0.539 3	99.04	
	0.250 7	0.302 1	0.237 8	0.533 5	97.31	
	0.249 5	0.300 6	0.237 8	0.536 8	99.31	
	0.251 0	0.302 5	0.285 4	0.586 8	99.63	
	0.251 8	0.303 4	0.285 4	0.586 35	99.13	
	0.250 8	0.302 2	0.285 4	0.585 4	99.22	
木香炔内酯	0.250 2	0.182 9	0.166 4	0.345 2	97.54	99.77 (1.35)
	0.251 5	0.183 8	0.166 4	0.351 6	100.81	
	0.250 2	0.182 9	0.166 4	0.349 9	100.33	
	0.252 1	0.184 3	0.208 0	0.395 6	101.59	
	0.250 7	0.183 3	0.208 0	0.391 0	99.85	
	0.249 5	0.182 4	0.208 0	0.391 8	100.66	
	0.251 0	0.183 5	0.249 6	0.432 8	99.87	
	0.251 8	0.184 1	0.249 6	0.432 4	99.49	
	0.250 8	0.183 3	0.249 6	0.427 5	97.80	
去氢木香内酯	0.250 2	0.174 6	0.164 6	0.341 9	101.63	100.80 (1.06)
	0.251 5	0.175 5	0.164 6	0.338 9	99.26	
	0.250 2	0.174 6	0.164 6	0.338 6	99.63	
	0.252 1	0.175 9	0.205 8	0.385 9	102.05	
	0.250 7	0.174 9	0.205 8	0.381 1	100.19	
	0.249 5	0.174 1	0.205 8	0.384 2	102.08	
	0.251 0	0.175 1	0.247 0	0.424 2	100.84	
	0.251 8	0.175 7	0.247 0	0.422 6	99.95	
	0.250 8	0.175 0	0.247 0	0.425 6	101.44	

表 3 各成分含有量测定结果（mg/g）

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/g)				
批号	橙皮苷	甘草酸铵	木香炔内酯	去氢木香内酯
170105	4. 179	1. 205	0. 731	0. 698
20170502	9. 287	1. 676	0. 313	0. 031 9
161201	12. 246	2. 913	0. 094 5	0. 177
160411	8. 665	2. 474	0. 264	0. 230
A161260	9. 836	3. 676	0. 537	0. 387

3.2 检测波长选择 本实验采用二极管阵列检测器，在 190~380 nm 波长范围内进行扫描，发现橙皮苷在 194、284、328 nm 附近有最大吸收，而且

在 230 nm 处有 1 个肩峰，其吸收值高于 284、328 nm；甘草酸铵在 194、251 nm 附近有最大吸收，而且在 250 nm 处呈肩峰；木香炔内酯和去氢木香内酯在 194 nm 附近有最大吸收，而且其吸收值随着波长增加呈下降趋势，300 nm 以上基本无吸收，考虑到 194 nm 为末端吸收，溶剂及杂质干扰会比较大，而在 230、251 nm 附近 4 种成分都会有一定吸收，故选择 230、251 nm 作为检测波长。然后，考察各成分响应值及杂质对测定的干扰，发现在 230 nm 波长处各成分响应值均较高，与杂质峰分离良好；在 251 nm 处木香炔内酯、去氢木香内酯响应值太低。最终，选择 230 nm 作为检测波长。

3.3 提取条件选择 本实验考察以甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、稀乙醇为溶剂超声 30 min 的提取效果，发现溶于 50% 甲醇时不仅各成分峰形良好，而且杂质对目标成分测定基本无干扰，故选择 50% 甲醇作为溶剂。再考察超声 30 min、加热回流 30 min、室温浸渍过夜的提取效果，发现室温浸渍过夜时提取率最低，而加热回流提取率略高于超声，但杂质明显更多，甚至有 1 个已经干扰到目标成分测定，故选择超声作为提取方法。然后，考察超声 15、30、45、60 min 时的提取率，发现提取 45、60 min 时的提取率接近 30 min，高于 15 min，故选择 30 min 作为提取时间。

3.4 含有量分析 表 3 显示，5 批陈香露白露片中 4 种成分含有量存在显著差异，以木香成分木香炔内酯、去氢木香内酯最明显，RSD 分别高达 64.1%、83.3%，而陈皮成分橙皮苷 RSD 也高达 33.2%。由于陈香露白露片中各药材均以原粉入

药，故推测上述现象可能是投料用饮片质量参差不齐所致，为了保证该制剂临床用药安全有效，需要对其中所含成分的含有量进行监控。

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（中药成方制剂第八册）[S]. 1993：87.

[2] 安 瑜，王旭鹏，党维霞. 火焰原子吸收法测定陈香露白露片中铍的含量[J]. 宁夏医科大学学报，2013，35（5）：597-598.

[3] 徐 旭，倪友洪. 陈香露白露片质量标准研究[J]. 药物分析杂志，2008，28（5）：790-792.

[4] 王玉杰，常 森，刘方明. RP-HPLC 法测定陈香露白露片中橙皮苷的含量[J]. 药物分析杂志，2006，26（10）：1491-1493.

[5] 刘 韶，雷 鹏，李新中. RP-HPLC 法测定陈香露白露片中橙皮苷的含量[J]. 湖南中医药大学学报，2006，26（5）：33-34.

[6] 周 俊，李家琳，付宜和，等. 陈香露白露片中药成份质量控制 [J]. 中国医院药学杂志，2006，26（10）：1314-1316.

[7] 彭朝霞，张运杰，熊然英. HPLC 法测定陈香露白露片中甘草次酸的含量[J]. 中国现代中药，2007，9（9）：18-20.

[8] 李应芬，李照宏，朱正华. HPLC 法测定陈香露白露片中甘草酸的含量[J]. 药物分析杂志，2008，28（2）：304-305.

[9] 童 珂，马 杰，孙 辉，等. 陈香露白露片质量标准修订研究[J]. 中南药学，2012，10（9）：644-648.

[10] 高学敏. 中药学 [M]. 北京：中国中医药出版社，2002：432.

[11] 吴惠君，欧金龙，池晓玲，等. 陈皮药理作用研究概述 [J]. 实用中医内科杂志，2013，27（9s）：91-92.

[12] 毛景欣，王国伟，易 漫，等. 川木香化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药，2017，48（22）：4797-4803.