

提取时间（15、30、45 min）进行考察。最终确定，采用70%甲醇超声提取30 min作为供试品溶液制备方法。

4 结论

本实验以连翘苷为内标，建立一测多评法同时测定梅翁退热颗粒中木犀草苷、木犀草素、东北贯众素、连翘酯苷B、连翘酯苷A、连翘苷、牛蒡子苷元、坡模酸的含有量，可实现该制剂多指标成分定量测定的质量评价模式，而且该方法操作简便，重复性好，为其质量控制和评价提供科学依据。

参考文献：

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. WS3-B-3319-98. 卫生部颁药品标准（中药成方制剂第十七册）[S]. 1998.

[2] 李书渊, 施玉旋, 李巨华. 梅翁退热颗粒中连翘苷的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(7): 734-735.

[3] 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: 170-171, 221, 314-315, 330.

[4] 高增平, 王宝华, 陆蕴如, 等. HPLC和TLCS测定绵马贯众抗疟有效部位中东北贯众素含量[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(11): 878.

[5] 付云飞, 李清, 毕开顺. RP-HPLC法同时测定不同产地连翘中的7种成分[J]. 中草药, 2013, 44(8): 1043-1046.

[6] 黄锦茶, 陈丰连, 陈海明, 等. HPLC法测定不同产地岗梅药材中坡模酸的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6): 679-681.

[7] 姜琼, 邹盛勤. RP-HPLC-PDA同时测定石见穿不同部位中5个三萜酸[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4379-4382.

[8] 原江锋, 邱智军, 刘建利, 等. 河南和山西连翘叶中总木脂素、连翘酯苷A、连翘酯苷B和连翘苷的含量比较[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(5): 845-848, 864.

[9] 戴胜, 张明, 程文明, 等. HPLC测定野菊花药材中8种黄酮和有机酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1961-1965.

[10] 艾光丽, 王维, 曾桢, 等. HPLC法同时测定银黄颗粒中6种成分[J]. 中成药, 2017, 39(3): 528-532.

[11] 赵诗怡, 渠亚蓉, 徐天龙, 等. 2015版《中国药典》连翘项下连翘苷、连翘酯苷A测定方法的改进[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2324-2327.

[12] 崔俊凤, 赵卫, 刘晓鹏, 等. HPLC-DAD法同时测定梔苓清热合剂中4种成分[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1954-1957.

[13] 包刚, 左雅敏, 黄建军, 等. HPLC法同时测定消结安胶囊中4种成分[J]. 中成药, 2017, 39(3): 536-539.

HPLC法同时测定良姜胃疡胶囊中7种成分

肖耀华^{1,2}, 雷丹丹^{1,2}, 徐国波^{1,2}, 周孟², 何迅², 廖尚高^{1,2,*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵安新区 550025; 2. 国家苗药工程技术中心, 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004)

摘要：**目的** 建立HPLC法同时测定良姜胃疡胶囊（吴茱萸、高良姜、藿香等）中东莩萜苷、异嗪皮啶、东莩萜内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱、去氢吴茱萸碱的含有量。**方法** 该药物70%甲醇提取液的分析采用Diamonsil C₁₈色谱柱（150 mm×4.6 mm, 5 μm）；流动相甲醇-0.1%甲酸，梯度洗脱；体积流量1.0 mL/min；柱温30℃；检测波长267、334 nm。**结果** 7种成分在各自范围内线性关系良好（ $r \geq 0.9997$ ），平均加样回收率98.84%~102.63%，RSD 0.69%~2.00%。**结论** 该方法简便准确，重复性好，可用于良姜胃疡胶囊的质量控制。

关键词：良姜胃疡胶囊；化学成分；HPLC

中图分类号：R927.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2019)08-1786-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.08.007

收稿日期：2019-02-02

基金项目：贵州省科学技术支撑计划（黔科合支撑〔2017〕2888）

作者简介：肖耀华（1985—），女，硕士生，从事药物制剂质量控制研究。Tel: (0851) 88416164, E-mail: 411583324@qq.com

*通信作者：廖尚高（1972—），男，博士，教授，从事中药物质基础及质量控制研究。Tel: (0851) 88416164, E-mail: lshangg@163.com

Simultaneous determination of seven constituents in Liangjiang Weiyang Capsules by HPLC

XIAO Yao-hua^{1,2}, LEI Dan-dan^{1,2}, XU Guo-bo^{1,2}, ZHOU Meng², HE Xun², LIAO Shang-gao^{1,2*}
(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Gui'an New District 550025, China; 2. National Engineering Technology Center for Miao's Medicines, Ministry of Education Engineering Research Center for Development and Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550004, China)

ABSTRACT: AIM To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of scopolin, iso-fraxidin, scopoletin, evodiamine, rutecarpine, evocarpine, and dehydroevodiamine in Liangjiang Weiyang Capsules (*Evodia rutaecarpa*, *Alpinia officinarum*, *Agastache rugosa*, etc.). **METHODS** The analysis of 70% methanol extract of this drug was performed on a 30 °C thermostatic Diamonsil C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.1% formic acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 267, 334 nm. **RESULTS** Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r\geq0.9997$), whose average recoveries were 98.84%–102.63% with the RSDs of 0.69%–2.00%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Liangjiang Weiyang Capsules.

KEY WORDS: Liangjiang Weiyang Capsules; chemical constituents; HPLC

良姜胃疡胶囊是临床用于治疗寒凝气滞所致胃脘疼痛、反酸嘈杂、胃十二指肠溃疡症状的中药复方制剂，收载于国家药品监督管理局《国家中成药标准汇编》（中成药地方标准上升国家标准部分）内科脾胃分册中^[1]，由铁筷子、吴茱萸、地乌泡、高良姜、藿香5味中药材加工而成，方中铁筷子具有祛风止痛、理气解毒的功效，主治胃痛和腹痛^[2-4]；吴茱萸具有镇痛、抗炎、抗菌、抗胃溃疡等作用，为常用的温中散寒药^[5-7]。

目前，良姜胃疡胶囊中除地乌泡药材以外的其他4味中药材已有较多质量控制报道^[8-11]，但其现有标准中仅对吴茱萸碱、吴茱萸次碱进行TLC定性鉴别和含有量测定，显得较为单薄。因此，本实验通过HPLC法同时测定良姜胃疡胶囊中东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱的含有量，为全面评价该制剂质量提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters2998型PDA高效液相色谱仪（美国Waters公司）；SG8200HE型超声波提取器（上海冠特超声仪器有限公司）；TB-2150D型电子天平（十万分之一，北京赛多利斯仪器系统有限公司）；ZYCGF-II-10T型超纯水机（四川卓越水处理设备有限公司）。

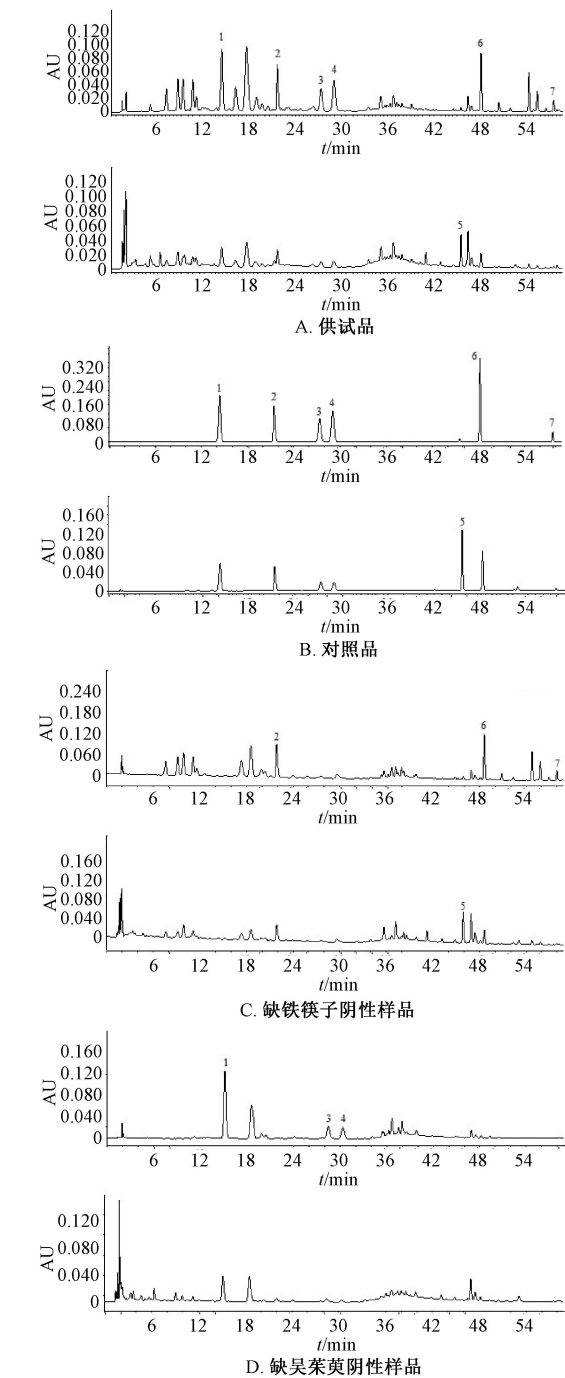
1.2 试药 东莨菪苷（批号D0401AS）、异嗪皮

啶（批号J0709AS）、东莨菪内酯（批号S0305AS）对照品均购自大连美仑生物技术有限公司；吴茱萸碱（批号920C022）、吴茱萸次碱（批号831A022）、吴茱萸新碱（批号327A021）对照品均购自北京索莱宝科技有限公司；去氢吴茱萸碱（批号P24M7F11741）对照品购自上海源叶生物科技有限公司。良姜胃疡胶囊（贵州宏奇药业有限公司，0.5 g×12粒/板×2板/盒，批号20180501、20180601、20180602）。甲醇为色谱纯（美国天地有限公司）；甲酸为分析纯（重庆茂业化学试剂有限公司）；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-0.1%甲酸（B），梯度洗脱（0~8 min，10%~21% A；8~14 min，21% A；14~20 min，21%~29% A；20~29 min，29% A；29~35 min，29%~55% A；35~42 min，55%~73% A；42~60 min，73%~100% A）；体积流量1.0 mL/min；柱温30 °C；检测波长267 nm（吴茱萸碱）、334 nm（东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱）；进样量10 μL。在此色谱条件下，各成分分离度>1.5，见图1。

2.2 对照品溶液制备 精密称取对照品东莨菪苷12.91 mg、去氢吴茱萸碱8.04 mg、东莨菪内酯



注：各小图中上半张均为 334 nm，下半张均为 267 nm

1. 东莨菪苷 2. 去氢吴茱萸碱 3. 东莨菪内酯 4. 异嗪皮啶
5. 吴茱萸碱 6. 吴茱萸次碱 7. 吴茱萸新碱
1. scopolin 2. dehydroevodiamine 3. scopoletin 4. isofraxidin
5. evodiamine 6. rutecarpine 7. evocarpine

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

6.51 mg、异嗪皮啶 9.99 mg、吴茱萸碱 5.75 mg、
吴茱萸次碱 6.90 mg、吴茱萸新碱 5.00 mg，甲醇
配制成 0.516 4、0.225 1、0.130 2、0.239 8、
0.109 3、0.179 4、0.050 0 mg/mL，摇匀，即得，

4℃冰箱中保存备用。

2.3 供试品溶液制备 称取同一批胶囊内容物
0.5 g，置于平底烧瓶中，精密加入 70% 甲醇
25 mL，称定质量，回流提取 30 min，冷却至室
温，70% 甲醇补足减失质量，摇匀，滤过，即得。

2.4 阴性样品溶液制备 按照胶囊处方比例及制
备工艺，分别制备缺吴茱萸、铁筷子的阴性样品，
按“2.3”项下方法制备，即得。

2.5 线性关系考察 精密量取“2.2”项下对照
品溶液，70% 甲醇稀释成 5 个质量浓度，各精密吸
取 10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以
溶液质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标
(Y) 进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范
围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系			
Tab. 1 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
东莨菪苷	$Y=1.574\ 6\times10^6X-1.078\ 8\times10^4$	0.999 9	32.28~516.40
去氢吴茱萸碱	$Y=2.286\ 4\times10^6X-2.350\ 2\times10^4$	0.999 9	14.07~225.12
东莨菪内酯	$Y=3.613\ 2\times10^6X-1.160\ 9\times10^4$	0.999 9	8.14~130.20
异嗪皮啶	$Y=2.907\ 1\times10^6X-1.953\ 2\times10^4$	0.999 9	14.99~239.76
吴茱萸碱	$Y=2.430\ 0\times10^6X-2.096\ 4\times10^4$	0.999 9	6.83~109.25
吴茱萸次碱	$Y=5.483\ 5\times10^6X-6.777\ 1\times10^5$	0.999 7	11.21~179.40
吴茱萸新碱	$Y=1.823\ 4\times10^6X-1.400\ 5\times10^4$	0.999 9	3.13~50.00

2.6 精密度试验 取同一批供试品溶液，在
“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得东莨菪
苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱
萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱峰面积 RSD 分别
为 0.27%、1.17%、1.00%、0.28%、1.61%、
1.03%、1.13%，表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一批供试品溶液，室温下
于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件
下进样测定，测得东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨
菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱
萸新碱峰面积 RSD 分别为 0.33%、1.81%、0.79%、
0.57%、0.23%、0.25%、0.59%，表明供试品溶
液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 重复性试验 取同一批胶囊 6 份，按“2.3”
项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件
下进样测定，测得东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨
菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱
萸新碱含有量 RSD 分别为 2.00%、2.05%、
2.19%、1.71%、2.34%、1.49%、2.59%，表明
该方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取含有量已知的胶囊 9 份, 每份约 0.5 g, 按成分原有量加入 50%、100%、150% 水平的对照品各 3 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱平均加样回收率分别为

102.21%、102.34%、102.63%、101.73%、98.84%、101.59%、101.89%, RSD 分别为 1.20%、2.00%、0.95%、0.69%、1.05%、0.87%、1.37%。
2.10 样品含有量测定 取 3 批胶囊, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 外标法计算含有量, 结果见表 2。

表 2 各成分含有量测定结果

Tab. 2 Results of content determination of various constituents

批号	含有量/(mg·粒 ⁻¹)						
	东莨菪苷	去氢吴茱萸碱	东莨菪内酯	异嗪皮啶	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸新碱
20180602	2.201 5	1.180 7	0.479 3	0.998 4	0.382 1	0.826 2	0.230 8
20180501	2.001 7	1.334 5	0.627 0	0.833 4	0.446 6	0.905 1	0.280 2
20180601	1.922 7	1.318 4	0.776 2	0.988 6	0.490 3	0.980 2	0.298 1

3 讨论

3.1 检测波长考察 本实验采用二极管阵列检测器, 对各成分在 190~400 nm 波长处进行紫外吸收扫描, 发现东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱分别在 226、289、339 nm, 248、363 nm, 228、297、343 nm, 333 nm, 225、267 nm, 213、343 nm, 214、238、322、334 nm 处有最大吸收峰。再考察不同检测波长下色谱峰数目、丰度、分离度, 发现东莨菪苷、去氢吴茱萸碱、东莨菪内酯、异嗪皮啶、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱, 以及吴茱萸碱分别在 334、267 nm 波长下基线平稳, 色谱丰度较好, 故选择两者作为检测波长。

3.2 洗脱条件考察 本实验比较了甲醇-水^[12]、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-0.1%甲酸^[13-15]的分离效果, 发现甲醇-0.1%甲酸洗脱时色谱峰峰形、分离度较理想, 故选择其作为流动相。

3.3 柱温考察 本实验比较了 25、30、35 ℃ 下的分离效果, 发现 30 ℃ 时各成分分离度最理想, 故选择其作为柱温。

3.4 提取方法考察 本实验比较了回流、超声提取对提取率的影响, 发现前者更优; 比较了提取溶剂(水、50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇)对提取率的影响, 发现 70% 甲醇提取时色谱峰数量更多; 比较了提取时间(30、60、90、120 min)对提取率的影响, 发现提取 30 min 时色谱峰数量与峰面积最理想, 提取 60 min 时与 30 min 时相当, 而提取 120 min 时色谱峰数量反而减少, 故选择 30 min 作为提取时间。综上所述, 最佳提取方法为 70% 甲醇回流提取 30 min。

4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定良姜胃疡胶囊中东莨菪苷、异嗪皮啶、东莨菪内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸新碱、去氢吴茱萸碱的含有量, 该方法简便准确, 重复性良好, 可用于该制剂的质量控制。

参考文献:

[1] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局国家中成药标准汇编(中成药地方标准上升国家标准部分 内科脾胃分册) [S]. 2002: 389.
[2] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 457.
[3] 李朋收, 范冰冰, 刘洋洋, 等. 铁筷子化学成分及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1286-1289.
[4] 钱海兵, 王祥培, 李雨生, 等. 苗药铁筷子醇提物镇痛作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3120-3121.
[5] 蔡卿嫣, 魏晶晶, 李伟荣. 吴茱萸不同提取物的镇痛作用及其有效成分含量的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(2): 179-182.
[6] 杨炳友, 宋佳欣, 孟永海, 等. 吴茱萸多糖和吴茱萸内酯抗胃溃疡作用的研究[J]. 中医药信息, 2012, 29(3): 11-15.
[7] 龚慕辛, 王智民, 张启伟, 等. 吴茱萸有效成分的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 183-187.
[8] 梁彩霞, 杨 岚, 张 东, 等. 吴茱萸 UPLC 指纹图谱的建立及质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 38-44.
[9] 王丽峰, 彭敬东, 王 宁. 高良姜药材高效液相指纹图谱研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2008, 33(6): 33-38.
[10] 章润青, 朱水娣, 邵艳华, 等. 广藿香药材的高效薄层色谱指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志, 2016, 31(4): 404-407.
[11] 钟琛聪, 冯育林. 高效液相色谱指纹图谱结合化学计量学方法评价苗药铁筷子的质量[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(21): 1944-1947.

- [12] 唐秀胜, 靳风云, 章 誉, 等. HPLC 法测定贵州苗药铁筷子中东茛菪内酯的含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2015, 37(6): 24-27.

[13] 甄 攀, 王治宝, 白雪梅, 等. 吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 HPLC 分析[J]. 中成药, 2004, 26(3): 227-229.

[14] 曾金祥, 刘 勇, 黄碧涛, 等. 吴茱萸 HPLC 指纹图谱的建
- 立及 3 种成分含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(14): 8273-8275, 8278.

[15] 杨媛媛, 陈志永, 廖立平, 等. 冯了性风湿跌打药酒中东茛菪素、东茛菪苷和绿原酸的测定[J]. 中成药, 2014, 36(3): 551-553.

忍冬藤胶囊的制备及其质量标准

徐英辉¹, 申 茹¹, 郭玉岩^{2*}

(1. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 制备忍冬藤胶囊, 并建立其质量标准。**方法** 以休止角、吸湿率、堆密度为指标, 制备忍冬藤胶囊。然后, TLC 法定性鉴别绿原酸、马钱苷, HPLC 法测定绿原酸、马钱苷含量。**结果** 最佳制备工艺为微晶纤维素与淀粉比例 3:1, 吸湿率 10.7%, 选用 1 号胶囊。TLC 斑点清晰, 阴性对照无干扰; 绿原酸、马钱苷分别在 10.2~306、7~525 mg/mL 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 100.8%、98.67%, RSD 分别为 1.79%、2.41%。**结论** 该方法合理可行, 专属性强, 重复性好, 可用于忍冬藤胶囊的质量控制。

关键词: 忍冬藤胶囊; 制备; 绿原酸; 马钱苷; TLC; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)08-1790-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.08.008

Preparation of Rendongteng Capsules and the quality standard

XU Ying-hui¹, SHEN Ru¹, GUO Yu-yan^{2*}

(1. Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China; 2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

KEY WORDS: Rendongteng Capsules; preparation; chlorogenic acid; loganin; TLC; HPLC

忍冬藤为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥茎枝, 具有清热解毒、疏风通络功效, 用于温病发热、热毒血痢、痈肿疮疡、风湿热痹、关节红肿热痛^[1], 始见于梁代《名医别录》, 四季均可用药, 资源丰富^[2], 其有效成分绿原酸、咖啡酸有显著的抗菌、抗病毒作用^[3-6], 马钱苷具有抗炎作用^[7-8]。课题组前期以绿原酸、马钱苷为指标, 优化忍冬藤提取工艺^[9]; 本实验在此基础上, 以休止角、堆密度、吸湿率^[10]为指标, 对忍冬藤胶囊的制备工艺进行研究, 并对其进行质量控制, 以期为今后工业化生产提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安

捷伦公司); HH-8 数显恒温水浴锅 (江苏金坛市环宇科学仪器厂); JA3003 电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); BPG-9240A 鼓风干燥箱 (上海百典仪器设备有限公司); PS-40A 超声波清洗机 (深圳市科洁超声科技有限公司); ZF-7 暗箱三用紫外分析仪 (上海和勤分析仪器有限公司); AS-400 手工胶囊填充板 (浙江奥特机械有限公司); BZF-50 真空干燥箱 (上海博迅实业有限公司)。

1.2 试药 药用乳糖、淀粉、糖粉、微晶纤维素 (山东聊城华阳医药辅料有限公司); 1 号空心胶囊 (吉林敖东顺合胶囊有限公司)。忍冬藤 (批号 160601) 购自亳州市宏大中药饮片有限公司, 产

收稿日期: 2018-07-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703724); 2016 年度惠州市科技专项资金资助项目 (2016X0402017)

作者简介: 徐英辉 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事药物制剂研究。E-mail: 21806850@qq.com

* 通信作者: 郭玉岩 (1982—), 女, 博士, 副教授, 从事中药新药开发研究。E-mail: guoyuyan622@163.com