

HPLC法同时测定藿砂颗粒中7种成分

潘艳琳, 程心玲, 肖淋, 翁淑琴, 卓实, 肖钦*
(福建中医药大学附属人民医院药学部, 福建福州 350004)

摘要: 目的 建立 HPLC 法同时测定藿砂颗粒 (广藿香、厚朴、泽泻等) 中广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B、去氢土莫酸、茯苓酸的含量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 检测波长 210、294、310 nm; 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 30 °C。结果 7 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 96.98% ~ 100.03%, RSD 0.73% ~ 1.61%。结论 该方法简便、重复性好, 可用于藿砂颗粒的质量控制。

关键词: 藿砂颗粒; 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)09-2049-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.09.006

Simultaneous determination of seven constituents in Huosha Granules by HPLC

PAN Yan-lin, CHENG Xin-ling, XIAO Lin, WENG Shu-qin, ZHUO Shi, XIAO Qin*
(Department of Pharmacy, People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350004, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of pogostone, honokiol, magnolol, 24-acetate laliso A, 23-acetate lalisol B, dehydrotumulosic acid and pachymic acid in Huosha Granules (*Pogostemonis Herba*, *Magnoliae officinalis Cortex*, *Alismatis Rhizoma*, etc.). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 30 °C thermostatic Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowing at 0.9 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 210, 294, 310 nm. **RESULTS** Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999 0$), whose average recoveries were 96.98% - 100.03% with the RSDs of 0.73% - 1.61%. **CONCLUSION** This simple and reproducible method can be used for the quality control of Huosha Granules.

KEY WORDS: Huosha Granules; chemical constituents; HPLC

藿砂颗粒由福建中医药大学附属人民医院院内制剂藿砂口服液改进剂型而来, 是广藿香、厚朴、泽泻、茯苓等 9 味中药材组成的中药复方制剂, 具有健脾化湿、和胃止泻的功效, 临床上主要用于脾胃不和、脘腹胀痛、呕吐泄泻等病症的治疗。方中广藿香味辛性微温, 化脾胃湿滞、避秽和中, 砂仁味辛性温, 温脾止泻, 化湿开胃, 两者合为君药; 厚朴、陈皮理气燥湿, 苍术燥湿健脾, 合为臣药; 茯苓、泽泻淡渗利湿, 神曲和胃消食, 合为佐药; 甘草调和诸药, 为使药, 对痞满证、寒湿型肠易激

综合征等治疗效果明显^[1-5], 但仅检索到臣药苍术中茅术醇、β-桉叶醇含量测定的报道^[6-7], 未涉及君药和其他成分。

中药复方制剂发挥疗效往往是多成分协同作用的结果, 仅测定单一药味难以有效地控制其质量均一性和疗效一致性。为了全面控制和提高藿砂颗粒内在质量, 参考中药质量标志物确定原则, 以君药为主, 兼顾臣、佐、使药, 本实验采用 HPLC 法同时测定君药藿香主要成分广藿香酮, 臣药厚朴主要成分和厚朴酚、厚朴酚, 佐药泽泻主要成分 24-乙

收稿日期: 2018-12-11

基金项目: 福建省科技厅引导性项目 (2018Y0042)

作者简介: 潘艳琳 (1977—), 女, 副主任药师, 从事药物质量控制等医院药学相关工作。Tel: (0591) 83947300

*通信作者: 肖钦 (1975—), 女, 副主任药师, 从事药物质量控制等医院药学相关工作, Tel: 13799327585, (0591) 83947159, E-mail: xq7585@qq.com

酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B、茯苓主要成分去氢土莫酸、茯苓酸的含有量，为该制剂质量标准的提高完善提供理论依据和实验基础。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技公司); XS-205DU 型电子天平 (万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); KQ500DE 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。和厚朴酚 (110730-201614, 含有量 99.3%)、厚朴酚 (110729-201714, 含有量 100.0%)、23-乙酰泽泻醇 B (111846-201705, 含有量 99.7%) 对照品购于中国食品药品检定研究院; 广藿香酮 (23800-56-8, 含有量 98%)、茯苓酸对照品 (29070-92-6, 含有量 98.0%) 对照品购于上海纯优生物科技有限公司; 24-乙酰泽泻醇 A (18674-16-3, 含有量 98.0%)、去氢土莫酸 (6754-16-1, 含有量 98.0%) 对照品购于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。藿砂颗粒 (每袋装 10 g, 批号 20180919、20180928、20181009) 购于福建中医药大学附属人民医院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) - 0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~13.0 min, 52.0% A; 13.0~18.0 min, 52.0% → 65.0% A; 18.0~39.0 min, 65.0% → 76.0% A; 39.0~47.0 min, 76.0% → 90.0% A; 47.0~55.0 min, 90.0% → 52.0% A); 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 30 ℃; 0~18.0 min 在 310 nm 波长下检测广藿香酮^[8-9],

18.0~30.0 min 在 294 nm 波长下检测和厚朴酚、厚朴酚^[10-12], 30.0~55.0 min 在 210 nm 波长下检测 24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B、去氢土莫酸、茯苓酸^[10,13-14]; 进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

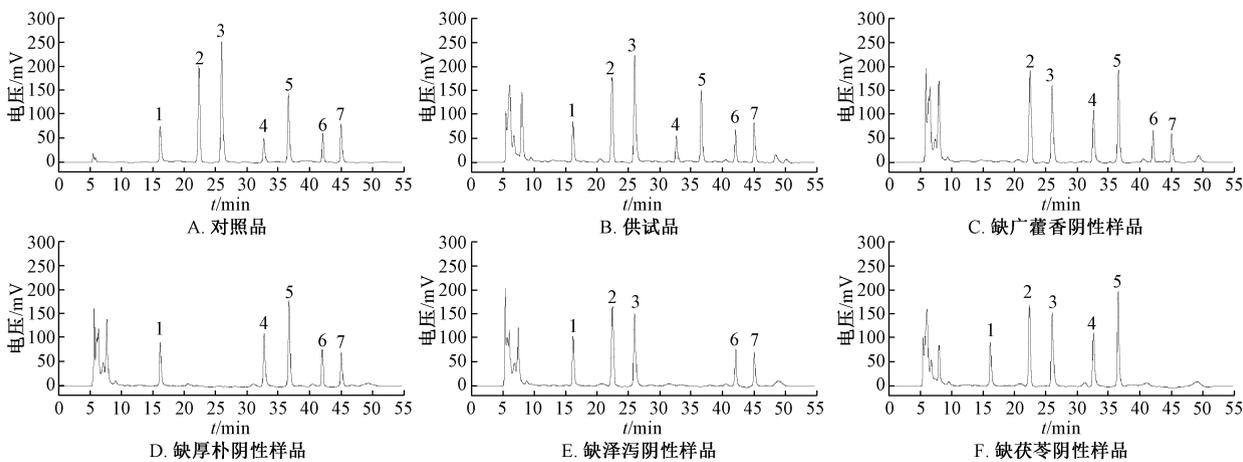
2.2.1 对照品溶液 精密称取广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B、去氢土莫酸、茯苓酸对照品适量, 甲醇分别制成 0.292、0.948、1.210、0.172、0.574、0.238、0.306 mg/mL, 精密吸取适量, 甲醇制成含广藿香酮 14.6 μg/mL、和厚朴酚 47.4 μg/mL、厚朴酚 60.5 μg/mL、24-乙酰泽泻醇 A 8.6 μg/mL、23-乙酰泽泻醇 B 28.7 μg/mL、去氢土莫酸 11.9 μg/mL、茯苓酸 15.3 μg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 取颗粒适量, 研细, 过 80 目筛, 精密称取 1.0 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按照处方和生产工艺, 分别制备缺广藿香、厚朴、泽泻、茯苓的阴性样品, 按“2.2.2”项下方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液各 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由图可知, 各成分均能达到有效分离, 分离度均大于 1.5; 理论塔板数按各成分色谱峰计, 均大于 3 000; 阴性样品溶液相应位置无其他色谱峰, 表明阴性无干扰。



1. 广藿香酮 2. 和厚朴酚 3. 厚朴酚 4. 24-乙酰泽泻醇 A 5. 23-乙酰泽泻醇 B 6. 去氢土莫酸 7. 茯苓酸

1. pogostone 2. honokiol 3. magnolol 4. 24-acetate lalisol A 5. 23-acetate lalisol B 6. dehydrotumulosic acid 7. pachymic acid

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，置于6个20 mL量瓶中，甲醇稀释成25倍梯度质量浓度，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/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
广藿香酮	$Y=8.0247\times 10^5 X+436.3$	0.9998	1.46~36.50
和厚朴酚	$Y=9.8591\times 10^5 X-382.7$	0.9991	4.74~118.50
厚朴酚	$Y=1.2435\times 10^6 X-229.2$	0.9997	6.05~115.25
24-乙酰泽泻醇A	$Y=6.1042\times 10^5 X+180.7$	0.9996	0.86~21.50
23-乙酰泽泻醇B	$Y=1.1317\times 10^6 X+200.9$	0.9999	2.87~71.75
去氢土莫酸	$Y=5.9716\times 10^5 X-366.4$	0.9992	1.19~29.75
茯苓酸	$Y=7.9981\times 10^5 X-169.0$	0.9995	1.53~38.25

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸峰面积RSD分别为1.03%、0.85%、0.68%、1.15%、0.94%、1.20%、1.02%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批颗粒（批号20180919），按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸含有量RSD分别为1.66%、0.57%、1.53%、

表2 各成分含有量测定结果（mg/g，n=3）

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

批号	广藿香酮	和厚朴酚	厚朴酚	24-乙酰泽泻醇A	23-乙酰泽泻醇B	去氢土莫酸	茯苓酸
20180919	0.659	2.726	3.229	0.384	1.356	0.511	0.792
20180928	0.563	3.120	3.705	0.329	1.214	0.436	0.679
20181009	0.687	2.455	3.068	0.396	1.420	0.582	0.828

3 讨论

本实验比较了不同提取溶剂（50%甲醇、甲醇^[10-11,14]、50%乙醇、乙醇^[8-9,12]）、提取方法（超声^[10-11,13-15]、回流^[9]）、提取时间（15、30、45 min）对藿砂颗粒中广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸7种成分含有量的影响，最终确定供试品溶液制备方法为甲醇超声提取30 min，此时各成分提取完全，同时干扰少，重复性良好。

0.88%、0.44%、1.91%、0.75%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一批供试品溶液（批号20180919），室温下放置0、2、4、8、16、24 h后在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸峰面积RSD分别为0.99%、0.83%、0.71%、1.47%、0.82%、1.18%、1.05%，表明溶液在24 h稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取含有量已知的颗粒（批号20180919）适量，研细，过80目筛，精密称取6份，每份0.5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入对照品溶液（0.331 mg/mL广藿香酮1.0 mL、0.679 mg/mL和厚朴酚2.0 mL、0.539 mg/mL厚朴酚3.0 mL、0.194 mg/mL 24-乙酰泽泻醇A 1.0 mL、0.681 mg/mL 23-乙酰泽泻醇B 1.0 mL、0.253 mg/mL去氢土莫酸1.0 mL、0.402 mg/mL茯苓酸1.0 mL），按“2.2.2”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，广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸平均加样回收率分别为97.61%、99.59%、100.03%、96.98%、98.57%、97.26%、98.29%，RSD分别为1.24%、0.73%、0.90%、1.61%、1.36%、0.92%、1.03%。

2.4 样品含有量测定 取3批颗粒，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，平行3份，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表2。

4 结论

综上所述，本实验建立HPLC法同时测定了藿砂颗粒中广藿香酮、和厚朴酚、厚朴酚、24-乙酰泽泻醇A、23-乙酰泽泻醇B、去氢土莫酸、茯苓酸的含有量，该方法操作简便，灵敏度高，重复性好，可为该制剂质量标准的提高提供有力的数据支持。

参考文献:

[1] 施光亚, 林良献, 陈贤桐, 等. 藿砂口服液治疗痞满证 65

- 例的疗效观察[J]. 福建中医学院学报, 2008, 18(5): 5-6.
- [2] 高勇, 施光亚, 罗秋红, 等. 藿砂口服液治疗寒湿型肠易激综合征疗效观察及对结肠电节律的影响[J]. 福建中医药, 2012, 43(5): 14-16.
- [3] 施光亚, 林瑜, 陈朝元, 等. 藿砂口服液运脾止泻功效的临床研究[J]. 福建中医学院学报, 2008, 18(4): 4-6.
- [4] 郝彦雷, 施光亚, 苏婷婷, 等. 藿砂口服液对慢性非萎缩性胃炎患者胃电节律的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37(6): 500-501.
- [5] 施光亚, 罗秋红, 何顺勇, 等. 藿砂口服液对腹泻模型小鼠的止泻作用[J]. 福建中医药大学学报, 2013, 23(1): 8-10.
- [6] 李劭, 翁淑琴, 林雄, 等. 高效液相色谱法测定藿砂口服液中茅术醇和 β -桉叶醇的含量[J]. 海峡药学, 2018, 30(2): 43-45.
- [7] 褚克丹, 郑学钦, 范德东. 藿砂合剂制备工艺及质量标准的控制[J]. 福建中医学院学报, 1995, 5(4): 23-25.
- [8] 易宇阳, 陈海明, 秦臻, 等. HPLC法测定广藿香油中广藿香酮的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5): 560-562.
- [9] 陈海明, 易宇阳, 彭绍忠, 等. 高效液相色谱法测定广藿香中广藿香酮的含量[J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(6): 645-647.
- [10] 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: 45, 229, 240, 251.
- [11] 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和与厚朴酚[J]. 广东化工, 2014, 41(17): 181-182.
- [12] 刘晓鹏, 姜宁, 向东山, 等. 厚朴叶中厚朴酚及和厚朴酚的提取与测定[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(5): 694-696.
- [13] 赵万里, 张方方, 黄小强, 等. 一测多评法测定泽泻中4种三萜类成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1347-1352.
- [14] 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]. 药学学报, 2010, 45(4): 494-497.
- [15] 丘建芳, 林婧, 许文, 等. HPLC-DAD-ELSD测定泽泻药材中4种三萜类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 42-46.

一测多评法同时测定清解颗粒中3种成分

唐林¹, 肖望重¹, 黄莉¹, 雷昌², 夏新华^{3*}

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007; 2. 中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地, 湖南长沙 410208; 3. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208)

摘要: 目的 建立一测多评法同时测定清解颗粒(苦杏仁、防风、石膏等)中3种成分的含有量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用依利特 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相甲醇-乙腈-0.1%冰醋酸, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 210、254 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C。以苦杏仁苷为内标, 建立其他2种成分的相对校正因子, 测定含有量。结果 苦杏仁苷、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷分别在 37.08~1 236、22.4~748、11.88~396 μ g/mL 范围内线性关系良好 ($R^2 \geq 0.999 9$), 平均加样回收率 102.17%、101.12%、104.73%, RSD 1.85%、1.74%、2.12%。一测多评法所得结果与外标法接近。结论 该方法准确可靠, 可用于清解颗粒的质量控制。

关键词: 清解颗粒; 苦杏仁苷; 升麻素苷; 5-O-甲基维斯阿米醇苷; 一测多评

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)09-2052-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.09.007

Simultaneous determination of three constituents in Qingjie Granules by QAMS

TANG Lin¹, XIAO Wang-zhong¹, HUANG Li¹, LEI Chang², XIA Xin-hua^{3*}

(1. The First Hospital Affiliated to Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. Key Laboratory for Chinese Material Medical

收稿日期: 2019-01-24

基金项目: 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科(2018); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教发[2016]42)

作者简介: 唐林(1990—), 男, 硕士, 研究实习员, 从事中药制备工艺与质量标准研究。E-mail: 492150309@qq.com

* 通信作者: 夏新华(1962—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新制剂、新剂型、新技术及制剂质量标准研究。Tel: (0731) 88458305, E-mail: xiaxinhua001@163.com