

HPLC-DAD 法同时测定消积化虫散中 6 种成分

李朝骏， 顾志华*
(同济大学附属上海市肺科医院药剂科，上海 200433)

摘要：目的 建立高效液相色谱-二极管阵列检测 (HPLC-DAD) 法同时测定消积化虫散 (白术、茯苓、使君子仁等) 中白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、去氢土莫酸、去氢茯苓酸和茯苓酸的含有量。**方法** 分析采用依利特 C₁₈ 色谱柱；流动相为乙腈-甲醇 (1:1) (A) -0.05% 磷酸溶液 (B)，梯度洗脱；体积流量 1.1 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 210 nm (去氢土莫酸、去氢茯苓酸和茯苓酸)、220 nm (白术内酯Ⅰ和白术内酯Ⅲ)、276 nm (白术内酯Ⅱ)。**结果** 6 个成分均呈良好的线性关系，平均加样回收率 ($n=6$) 为 96.8% ~99.4%，RSD 值为 0.66% ~1.48%。**结论** 该方法简便、准确、快速，可用于消积化虫散的质量控制。

关键词：消积化虫散；白术内酯Ⅲ；白术内酯Ⅰ；白术内酯Ⅱ；去氢土莫酸；去氢茯苓酸；茯苓酸；HPLC-DAD

中图分类号：R927.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2016)05-1040-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.05.015

Simultaneous determination of six constituents in Xiaoji Huachong Powder by HPLC-DAD

LI Chao-jun, GU Zhi-hua*
(Department of Pharmacy, Shanghai Municipal Pulmonary Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: AIM To establish a high performance liquid chromatography-diotron array detection (HPLC-DAD) method for simultaneously determining the contents of atracylenolide Ⅲ, atracylenolide Ⅰ, atracylenolide Ⅱ, dehydrotumulosic acid, dehydropachymic acid and pachymic acid in Xiaoji Huachong Powder (*Atractylodes macrocephala*, *Poria cocos*, *Quisqualis indica* kernel, etc.). **METHODS** The analysis was performed on a Hyper-sil C₁₈ column with its temperature maintained at 25 ℃, mobile phase comprising of acetonitrile-methanol (1:1) (A) -0.05% phosphoric acid solution (B) in a gradient elution manner, flow rate of 1.1 mL/min, and detection wavelengths of 210 nm for dehydrotumulosic acid, dehydropachymic acid and pachymic acid, 220 nm for atracylenolide Ⅰ and atracylenolide Ⅲ, and 276 nm for atracylenolide Ⅱ. **RESULTS** Six constituents showed good linear relationships, whose average recoveries ($n=6$) were 96.8% -99.4% with the RSDs of 0.66% -1.48%. **CONCLUSION** This simple, accurate and rapid method is suggested for the quality control of Xiaoji Huachong Powder.

KEY WORDS: Xiaoji Huachong Powder; atracylenolide Ⅲ; atracylenolide Ⅰ; atracylenolide Ⅱ; dehydrotumulosic acid; dehydropachymic acid; pachymic acid; HPLC-DAD

消积化虫散由白术（炒）、茯苓、使君子仁、牵牛子（炒）、陈皮、厚朴（姜制）、槟榔、山楂、甘草、六神曲（炒）10 味药材组成，具有消积化虫，开胃增食的功效，临床上多用于小儿厌食纳呆、消化不良、食积虫积、脘腹胀痛等症状的治

疗^[1]，现收载于部颁标准中药成方制剂第 9 册，白术（炒）和茯苓为其主要药味。然而，原相关标准仅对该制剂的性状、散剂通则进行了规定，尚无对其中所含成分进行定量测定的文献报道。为了更好地控制该制剂的质量，本实验首次对消积化虫散中

收稿日期：2015-11-12
作者简介：李朝骏（1982—），男，药师，从事药事管理及药物质量研究。Tel: 13818291243, E-mail: lichaojun-82@sina.com
* 通信作者：顾志华（1984—），男，药师，从事中成药质量研究。Tel: 13761787515, E-mail: 86874904@qq.com

白术（炒）、茯苓^[2]所含白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ、去氢土莫酸、去氢茯苓酸和茯苓酸的含有量进行测定。

1 仪器和试药

Agilent1200 HPLC 色谱仪；电子天平（十万分之一，德国赛多利斯公司）。白术内酯Ⅲ（批号 111978-201501，含有量 99.9%）、白术内酯Ⅰ（批号 111975-201501，含有量 99.9%）、白术内酯Ⅱ（批号 111976-201501，含有量 99.9%）对照品（中国食品药品检定研究院）；去氢土莫酸（批号 6754-16-1，含有量 98.0%）对照品（成都瑞芬思生物科技有限公司）；去氢茯苓酸（77012-31-8，含有量 98.0%）、茯苓酸（29070-92-6，含有量 98.0%）对照品（四川省维克奇生物科技有限公司）。消积化虫散（每袋装 1.5 g，批号为 140403、140404、140406）购自重庆希尔安药业有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯；磷酸为分析纯；水为重蒸馏水。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品贮备液 分别称取 6 种对照品适量，甲醇溶解稀释，制成含 0.548 mg/mL 白术内酯Ⅲ、0.472 mg/mL 白术内酯Ⅰ、0.515 mg/mL 白术内酯Ⅱ、0.592 mg/mL 去氢土莫酸、0.456 mg/mL 去氢茯苓酸和 0.751 mg/mL 茯苓酸的对照品贮备液。

2.1.2 混合对照品溶液 分别吸取“2.1.1”项下贮备液 2.5、2.5、1.0、2.5、2.5、5.0 mL，置于同一 50 mL 量瓶中，甲醇稀释，制成含 0.027 4 mg/mL 白术内酯Ⅲ、0.023 6 mg/mL 白术内酯Ⅰ、0.010 3 mg/mL 白术内酯Ⅱ、0.029 6 mg/mL 去氢土莫酸、0.022 8 mg/mL 去氢茯苓酸和 0.075 1 mg/mL 茯苓酸的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液 取消积化虫散适量，研磨成细粉，精密称取 10.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称定质量，加热回流提取 60 min，冷却至室温，甲醇补足减失的质量，振摇，过滤，取续滤液，即得。

2.1.4 阴性对照品溶液 按照部颁标准中药成方制剂第 9 册消积化虫散质量标准中的处方工艺，制备不含白术（炒）、茯苓的样品，按“2.1.3”项下方法制备阴性对照品溶液。

2.2 色谱条件 C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；流动相 A 为乙腈-甲醇（1：1），B 为 0.05% 磷酸溶液，梯度洗脱（程序见表 1）^[3-6]；检

测波长 220 nm^[7-8]（0 ~ 36 min）、276 nm^[9-10]（37 ~ 45 min）、210 nm^[11-12]（46 ~ 80 min）；体积流量 1.1 mL/min；柱温 25 ℃；进样量 20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs		
时间/min	A 乙腈-甲醇(1：1)/%	B 0.05% 磷酸溶液/%
0 ~ 21	56.0	44.0
22 ~ 45	56.0→62.0	44.0→38.0
46 ~ 71	62.0→80.0	38.0→20.0
72 ~ 80	80.0→56.0	20.0→44.0

3 方法学考察

3.1 系统适用性考察 分别取样品、混合对照品、白术空白和茯苓空白溶液适量，注入液相色谱仪分析，见图 1。由图可知，白术空白溶液色谱图中，白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ和白术内酯Ⅲ的出峰位置处均无干扰；茯苓空白溶液色谱图中，去氢土莫酸、去氢茯苓酸和茯苓酸的出峰位置处也均无干扰，6 种成分可与其相邻峰完全分离。

3.2 线性范围考察 分别精密吸取对照品贮备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mL，甲醇稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样 20 μL 测定，记录峰面积。然后，以峰面积为纵坐标（Y），对照品质量浓度（μg/mL）为横坐标（X）进行线性回归，结果见表 2，表明 6 种成分在各自范围内线性关系均良好。

表 2 6 种成分的线性关系

Tab. 2 Linear relationships of six constituents			
成分	回归方程	线性范围/(μg·mL ⁻¹)	r
白术内酯Ⅲ	Y=7.610 4 × 10 ⁵ X - 211.4	5.48 ~ 109.60	0.999 7
白术内酯Ⅰ	Y=5.947 3 × 10 ⁵ X + 403.5	4.72 ~ 94.40	0.999 9
白术内酯Ⅱ	Y=3.887 5 × 10 ⁵ X + 137.1	5.15 ~ 103.00	0.999 3
去氢土莫酸	Y=8.914 7 × 10 ⁵ X + 336.7	5.92 ~ 118.40	0.999 7
去氢茯苓酸	Y=6.041 1 × 10 ⁵ X - 294.4	4.56 ~ 91.20	0.999 4
茯苓酸	Y=1.301 9 × 10 ⁶ X - 416.2	7.51 ~ 150.20	0.999 8

3.3 精密度试验 精密吸取同一批号（140406）供试品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下连续进样 5 次，每次 20 μL，测得峰面积 RSD 值分别为白术内酯Ⅲ1.16%、白术内酯Ⅰ0.91%、白术内酯Ⅱ1.56%、去氢土莫酸 0.87%、去氢茯苓酸 1.01%、茯苓酸 0.38%，表明仪器精密度良好。

3.4 重复性试验 取样品（批号 140406）适量，按“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，进样 20 μL 分析。结果，白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、去氢土莫酸、去氢茯苓酸和茯苓酸的平均含有量分别为 0.144、0.111、0.049、0.153、0.108、0.384 mg/g，RSD 分别为 0.59%、1.05%、

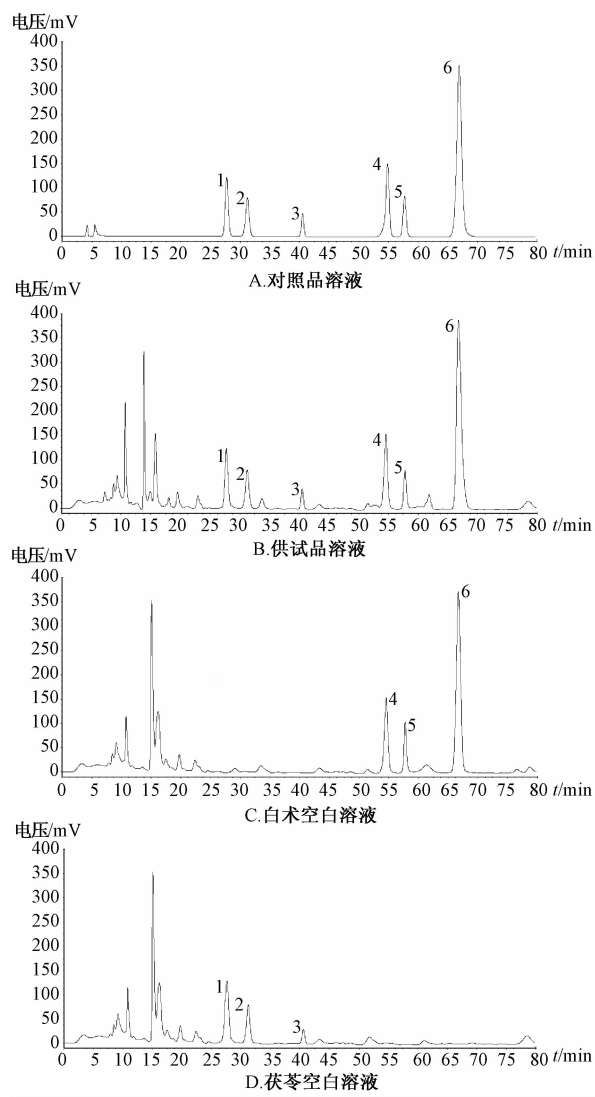


图 1 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms

1.46%、0.61%、1.19%、0.44%，表明该方法重复性良好。

3.5 稳定性试验 取同一批号（140406）供试品溶液适量，分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析，测得峰面积 RSD 值分别为白术内酯Ⅲ1.15%、白术内酯Ⅰ0.86%、白术内酯Ⅱ1.34%、去氢土莫酸 0.91%、去氢茯苓酸 1.39%、茯苓酸 0.53%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.6 回收率试验 取 6 份含有量已知的消化虫散（批号 140406，6 种成分含有量分别为 0.143、0.112、0.049、0.151、0.108、0.386 mg/g）适

量，研磨成细粉，精密称取 5.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入“2.1.2”项下混合对照品溶液和甲醇各 25 mL，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，测定回收率，结果见表 3。

表 3 回收率试验结果

Fig. 3 Results of recovery tests

成分	称样量/ mg	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/% (RSD/%)
白术内酯Ⅲ	5.013 5	0.716 9	0.685 0	1.378 6	96.60	96.77
	5.009 1	0.716 3	0.685 0	1.375 4	96.22	(1.13)
	4.981 3	0.712 3	0.685 0	1.390 1	98.95	
	5.010 6	0.716 5	0.685 0	1.378 7	96.67	
	4.995 7	0.714 4	0.685 0	1.372 9	96.13	
白术内酯Ⅰ	5.011 4	0.716 6	0.685 0	1.374 5	96.04	
	5.013 5	0.561 5	0.590 0	1.133 7	96.98	98.29
	5.009 1	0.561 0	0.590 0	1.147 6	99.42	(0.93)
	4.981 3	0.557 9	0.590 0	1.139 4	98.56	
	5.010 6	0.561 2	0.590 0	1.145 7	99.07	
白术内酯Ⅱ	4.995 7	0.559 5	0.590 0	1.135 3	97.59	
	5.011 4	0.561 3	0.590 0	1.140 1	98.10	
	5.013 5	0.245 7	0.257 5	0.493 1	96.08	96.92
	5.009 1	0.245 4	0.257 5	0.502 1	99.69	(1.48)
	4.981 3	0.244 1	0.257 5	0.491 8	96.19	
去氢土莫酸	5.010 6	0.245 5	0.257 5	0.492 9	96.08	
	4.995 7	0.244 8	0.257 5	0.495 3	97.28	
	5.011 4	0.245 6	0.257 5	0.493 3	96.19	
	5.013 5	0.757 0	0.740 0	1.488 3	98.82	99.42
	5.009 1	0.756 4	0.740 0	1.496 8	100.05	(0.66)
去氢茯苓酸	4.981 3	0.752 2	0.740 0	1.490 5	99.77	
	5.010 6	0.756 6	0.740 0	1.497 1	100.07	
	4.995 7	0.754 4	0.740 0	1.483 3	98.50	
	5.011 4	0.756 7	0.740 0	1.491 6	99.31	
	5.013 5	0.541 5	0.570 0	1.105 1	98.88	97.86
茯苓酸	5.009 1	0.541 0	0.570 0	1.091 6	96.60	(1.45)
	4.981 3	0.538 0	0.570 0	1.085 7	96.09	
	5.010 6	0.541 1	0.570 0	1.110 5	99.89	
	4.995 7	0.539 5	0.570 0	1.095 4	97.53	
	5.011 4	0.541 2	0.570 0	1.100 9	98.19	
茯苓酸	5.013 5	1.935 2	1.877 5	3.809 1	99.81	99.33
	5.009 1	1.933 5	1.877 5	3.813 9	100.15	(0.97)
	4.981 3	1.922 8	1.877 5	3.799 4	99.95	
	5.010 6	1.934 1	1.877 5	3.781 3	98.39	
	4.995 7	1.928 3	1.877 5	3.802 5	99.82	
茯苓酸	5.011 4	1.934 4	1.877 5	3.771 6	97.85	

4 含有量测定

取 3 批样品，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下测定，结果见

表 4。

表 4 含有量测定结果 (mg/g, n=3)
Tab. 4 Results of content determination (mg/g, n=3)

批号	白术内酯Ⅲ	白术内酯Ⅰ	白术内酯Ⅱ	去氢土莫酸	去氢茯苓酸	茯苓酸
140403	0.157	0.127	0.051	0.142	0.120	0.375
140404	0.131	0.119	0.042	0.136	0.105	0.361
140406	0.143	0.112	0.049	0.151	0.108	0.386

5 讨论

5.1 流动相的选择 本实验考察了甲醇-0.05% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-甲醇（1：1）与 0.05% 磷酸溶液流动相，以各色谱峰的出峰时间、峰形和分离度效果为评价指标。结果，以乙腈-甲醇（1：1）与 0.05% 磷酸溶液梯度洗脱时，各指标最佳，故选择乙腈-甲醇（1：1）与 0.05% 磷酸溶液作为流动相。

5.2 提取条件的选择

5.2.1 提取溶剂 本实验以水、50%、75% 和 100% 甲醇为提取溶剂，以提取效率为指标进行优化。结果，以甲醇为溶剂时，各成分提取效率最高，故选择甲醇作为提取溶剂。

5.2.2 提取方式 本实验考察了加热回流提取和超声提取方式，以样品中 6 种成分的提取效率为指标进行优化。结果，加热回流提取的效果明显优于超声提取，故选择加热回流提取。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂：第 9 册（WS₁-B-0053-89）[S]. 1997.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2010 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2010：95-96，224，附录 30，附录 36.

[3] 李 犴，何 丹，杨常成. 高效液相色谱法测定白术中白术内酯Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ的含量[J]. 中南药学，2014，12(1)：70-73.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 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.

[7] 许祥君，陈 敏，宗 露，等. 不同品规白术中白术内酯Ⅰ、Ⅲ的含量测定[J]. 中国医院药学杂志，2011，31(17)：1421-1424.

[8] 刘青青，金传山，吴德玲，等. 不同加工工艺对白术中白术内酯Ⅰ和白术内酯Ⅲ含量的影响[J]. 安徽中医学院学报，2012，31(1)：58-61.

[9] 段 启，李彩萍，赵珍东，等. 高效液相色谱法测定清炒白术中白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ[J]. 中南药学，2009，7(5)：321-323.

[10] 吴 慧，赵文龙，单国顺，等. HPLC 波长切换法同时测定白术及其不同款制品中白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ[J]. 中成药，2013，35(11)：2484-2487.

[11] 高晓霞，于治国，赵云丽，等. HPLC 法同时测定茯苓中去氢茯苓酸和茯苓酸的含量[J]. 沈阳药科大学学报，2010，27(4)：295-298.

[12] 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]. 中国药学杂志，2012，47(13)：1080-1083.