

490; 496.

[12] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准 (化学药品及制剂 第一册) [S]. 北京 : 中国医药科技出版社, 1989 : 8.

[13] 曾玉梅, 刘志辉, 陈繁华, 等. 大黄碳酸氢钠片中大黄及薄荷油的质量控制研究 [J]. 中国药物评价, 2019, 36 (1) : 21-25.

[14] 胡 珀, 吴 旭, 王蓓蓓, 等. UPLC-MS/MS 法测定大黄碳酸氢钠片和复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷的含量 [J]. 中国药物评价, 2020, 37 (5) : 362-365.

[15] 王鼎峰, 胡 冰. 采用气相色谱法测定大黄碳酸氢钠片中薄荷脑的含量 [J]. 海峡药学, 2022, 34 (8) : 64-67.

[16] 吴 勇, 刘 燕, 王 雷, 等. 基于高效液相色谱指纹图谱与一测多评法的大黄碳酸氢钠片质量评价 [J]. 中南药

学, 2023, 21 (3) : 784-789.

[17] 吴 勇, 刘 燕, 陈卫东, 等. 高效液相色谱法同时测定大黄碳酸氢钠片中 5 种成分的含量 [J]. 中南药

学, 2019, 17 (10) : 1718-1720.

[18] 秦 立, 徐 行. 高效液相色谱法测定大黄碳酸氢钠片中大黄素、大黄酚的含量 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20 (4) : 274-275.

[19] 王昆鹏, 魏志雄, 张月娟, 等. 一测多评法测定大黄碳酸氢钠片中 5 种游离蒽醌类成分的含量 [J]. 食品与药品, 2024, 26 (3) : 211-215.

[20] 金 鹏, 吴 旭. 大黄碳酸氢钠片评价性抽验结果及质量评价 [J]. 中国药物评价, 2017, 34 (4) : 300-304.

HPLC 法同时测定补脑软胶囊中 11 种成分的含量

陈 挺¹, 王雪梅², 李帅印¹, 李喜香^{2*}, 周亚丽¹, 李小凤¹, 杨寿圆³
(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050; 3. 兰州市第一人民医院, 甘肃 兰州 730050)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定补脑软胶囊中 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、马钱苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、甘草酸的含量。**方法** 分析采用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 ℃; 检测波长 230、280 nm。**结果** 11 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 98.47% ~ 103.30%, RSD 1.13% ~ 2.80%。**结论** 该方法简便可靠, 可用于补脑软胶囊的质量控制。

关键词: 补脑软胶囊; 化学成分; 含量测定; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2025)07-2144-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.002

Simultaneous content determination of eleven constituents in Bunao Soft Capsules by HPLC

CHEN Ting¹, WANG Xue-mei², LI Shuai-yin¹, LI Xi-xiang^{2*}, ZHOU Ya-li¹, LI Xiao-feng¹, YANG Shou-yuan³
(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; 3. The First People's Hospital of Lanzhou, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of 5-hydroxymethylfurfural, chlorogenic acid, caffeic acid, strychnine, paeoniflorin, ferulic acid, paeoniflorin I, epimedium glycoside, psoralen, isopsoralen and glycyrrhetic acid in Bunao Soft Capsules. **METHODS** The analysis was performed on a 35 ℃ thermostatic Waters Symmetry C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the

收稿日期: 2025-03-16
基金项目: 兰州市科技计划基金资助项目 (2023-2-19)
作者简介: 陈 挺 (2001—), 男, 从事中药炮制、制剂工艺研究。E-mail: 17262920875@163.com
* 通信作者: 李喜香 (1968—), 女, 主任中药师, 从事中药制剂二次开发及其新剂型研究。Tel: (0931) 2687057, E-mail: lixixiang929@163.com

mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 230, 280 nm. **RESULTS** Eleven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 0$), whose average recoveries were 98.47%–103.30% with RSDs of 1.13%–2.80%. **CONCLUSION** This simple and reliable method can be used for the quality control of Bunao Soft Capsules.

KEY WORDS: Bunao Soft Capsules; chemical constituents; content determination; HPLC

阿尔茨海默病是一种与认知密切相关的神经性疾病，其发病原因复杂，主要表现为记忆、语言、行为、思想等方面的障碍^[1-2]，中医将本病归属于“痴呆”范畴，认为其病理基础为髓海失养、肾精不足、气血虚弱、痰扰清窍^[3-4]。补脑软胶囊是由甘肃省中医院院内制剂补脑膏（甘药制备字 Z20190320000）改良而来，全方由当归、川芎、黄芪、赤芍、黄精等 14 味中药组成^[5]，具有益气补血、填精补髓之效，治疗肾虚精亏、髓海不足、气血亏虚所致痴呆症的疗效显著^[6]，方中当归所含阿魏酸具有抗氧化、抗血栓、神经保护作用^[7-8]，川芎所含洋川芎内酯 I 具有抗炎、抗脑缺血损伤、抗氧化作用^[9-10]，淫羊藿所含淫羊藿苷具有抗炎、增强免疫力作用^[11-13]，黄精所含 5-羟甲基糠醛对慢性炎症性疾病有防治作用^[14-15]，补骨脂所含补骨脂素对血管性痴呆有神经保护作用^[16-17]，山茱萸所含马钱苷对神经系统具有调节作用且能促进创伤神经修复，改善认知缺陷^[18-19]，对脑部疾病的临床疗效确切，尤其是对血管性痴呆、阿尔茨海默病早期患者认知功能的改善^[20-21]。

目前，补脑软胶囊质量标准中以芍药苷、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷为指标成分，数量偏少，难以全面保障其质量与疗效^[22]。为了有效提升补脑软胶囊质量标准，确保其临床用药安全，本实验建立 HPLC 法同时测定 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、马钱苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、甘草酸的含量，以期为该制剂质量控制提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters ARC 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；KDM 型可控温电子电热套（山东鄞城华鲁电热仪器有限公司）；HHS 型数显恒温水浴锅（江苏正基仪器有限公司）；BIOBASE 型医用冷藏箱（山东博科生物产业有限公司）；SB-3200DT 型超声波清洗机（宁波新芝生物科技有限公司）；JCS-51001C 型电子天平（武义珠恒电子有限公司）；酒精计（冀州市耀华器械仪表厂）。

1.2 试剂与药物 阿魏酸（批号 G13S11L124423）、5-羟甲基糠醛（批号 M18IB215282）、补骨脂素（批号 D07IB234612）、马钱苷（批号 JB254124）、甘草酸（批号 Y02J11L113432）、洋川芎内酯 I（批号 M21HB178706）、异补骨脂素（批号 Y14O11H127487）、绿原酸（批号 A22GB158496）、芍药苷（批号 M28GB143089）、淫羊藿苷（批号 T11A11B111118）、咖啡酸（批号 M28IA211102）对照品（上海源叶生物科技有限公司，纯度 98%）。补脑软胶囊内容物（由课题组提取，每 1 g 相当于 23.6 g 原药材）。色谱纯甲醇（上海麦克林生化科技股份有限公司）；HPLC 纯乙腈（山东禹王和天下新材料有限公司）；HPLC 纯磷酸（天津市百世化工有限公司）；石油醚（60~90℃）（烟台市双双化工有限公司）；纯净水（青海西宁娃哈哈启力饮料有限公司）。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸对照品适量，甲醇制成每 1 mL 分别含 99.86、140.57、177.12、175.36、109.04、105.92、106.08、107.36、331.20、446.8、357.92 μg 上述成分的溶液，即得。

2.1.2 供试品溶液 精密称取本品内容物 4 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 40 mL 石油醚，超声处理 30 min，过滤，弃去石油醚，加入 40 mL 70% 甲醇，超声处理 2 次，在旋转蒸发仪上蒸干甲醇，残渣用 70% 甲醇溶解，置于 10 mL 量瓶中，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按照处方工艺和组成比例，分别制成缺淫羊藿，缺黄精，缺补骨脂，缺山茱萸，缺赤芍，缺甘草，缺当归、川芎、益母草，缺当归、川芎、淫羊藿、益母草的阴性样品，按“2.1.2”项下方法制备，即得。

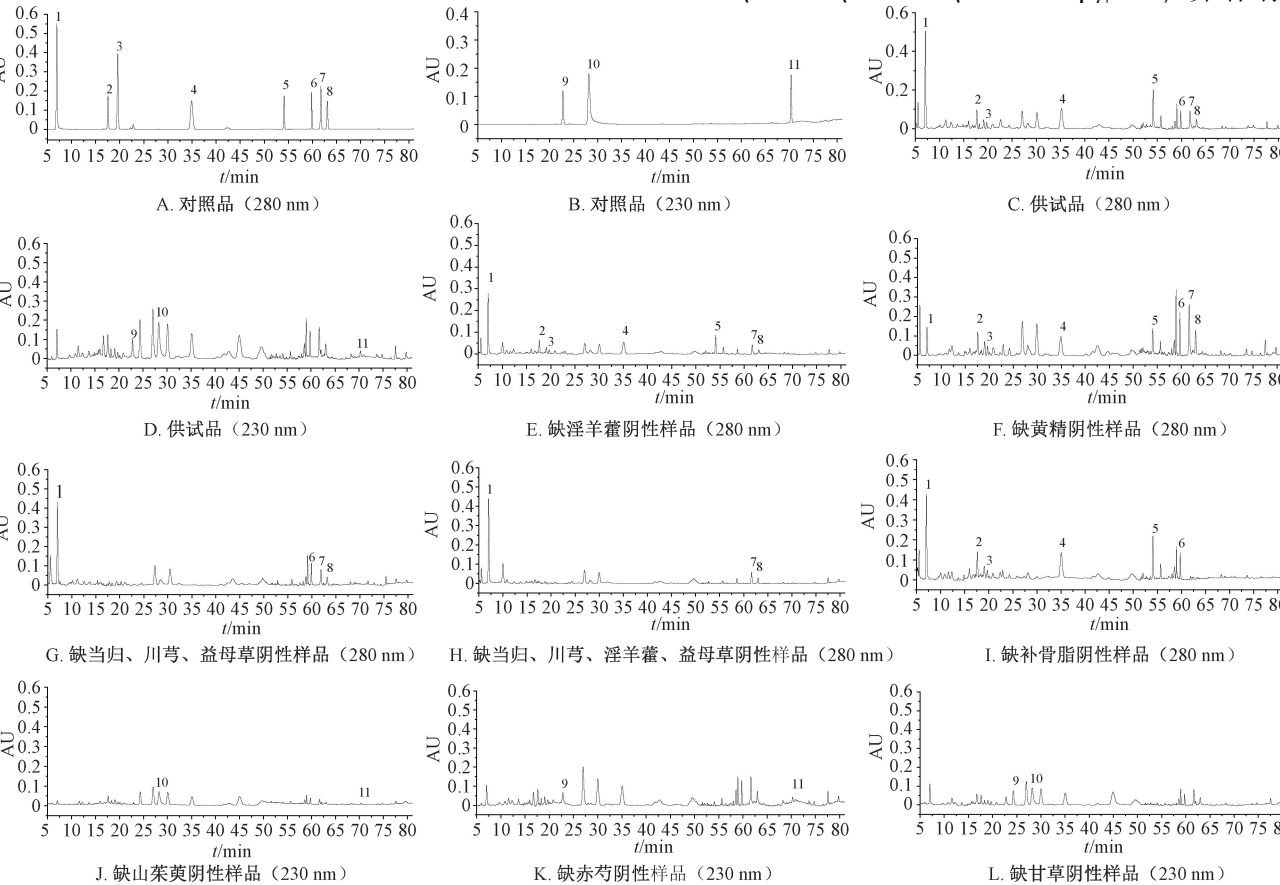
2.2 色谱条件 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱

(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) - 0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱, 程序见表 1; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 ℃; 样品温度 10 ℃; 检测波长 230、280 nm; 进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 乙腈/%	B 0.1% 磷酸/%
0	6	94
8	6	94
13	11	89
18	12	88
44	12	88
46	21	79
60	35	65
69	40	60
79	52	48
80	6	94
81	6	94



1. 5-羟甲基糠醛 2. 绿原酸 3. 咖啡酸 4. 阿魏酸 5. 洋川芎内酯 I 6. 淫羊藿苷 7. 补骨脂素 8. 异补骨脂素 9. 马钱苷 10. 芍药苷 11. 甘草酸

1. 5-hydroxymethylfurfural 2. chlorogenic acid 3. caffeic acid 4. ferulic acid 5. senkyunolide I 6. icariin 7. psoralen 8. angelicin 9. loganin 10. paeoniflorin 11. glycyrrhizic acid

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

脂素 6.71、13.42、26.84、53.68、107.36 1 324.80 μg/mL, 芍药苷 111.70、223.40、μg/mL, 马钱苷 82.80、165.60、331.20、662.40、446.80、893.60、1 787.20 μg/mL, 甘草酸 22.37、2146

44.74、89.48、178.96、357.92 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定。以对照品进样量为横坐标（ X ），峰面积积分值为纵坐标（ Y ）进行回归，结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents				
成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	
5-羟甲基糠醛	$Y=71\ 723X+122\ 435$	0.999 3	12.48~199.72	
绿原酸	$Y=15\ 811X-23\ 159$	0.999 8	17.54~280.56	
咖啡酸	$Y=34\ 098X-70\ 080$	0.999 1	11.07~177.12	
阿魏酸	$Y=28\ 310X-38\ 058$	0.999 6	21.92~350.72	
洋川芎内酯 I	$Y=18\ 362X+6\ 521$	0.999 6	27.26~436.16	
淫羊藿苷	$Y=14\ 955X+13\ 354$	0.999 5	13.24~211.84	
补骨脂素	$Y=30\ 357X-5\ 679$	0.999 8	26.52~212.16	
异补骨脂素	$Y=18\ 843X-16\ 324$	0.999 5	6.71~107.36	
马钱苷	$Y=4\ 088.9X-17\ 985$	0.999 8	82.80~1 324.80	
芍药苷	$Y=13\ 071X-213\ 552$	0.999 2	111.70~1 787.20	
甘草酸	$Y=4\ 228.1X-24\ 934$	0.999 9	22.37~357.92	

2.5 精密度试验 取“2.1.1”项下对照品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定 6 次，测得 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸峰面积 RSD 分别为 0.50%、0.33%、0.37%、0.41%、0.35%、0.41%、0.38%、0.35%、0.66%、1.19%、0.42%，表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液适量，于 0、4、8、12、16、24 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定 6 次，测得 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、

补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸峰面积 RSD 分别为 0.70%、1.89%、1.79%、0.41%、0.86%、0.53%、0.36%、1.28%、1.21%、0.81%、1.64%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取本品 6 份，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 6 次，测得 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸峰面积 RSD 分别为 0.98%、2.19%、0.80%、0.19%、1.27%、0.68%、0.62%、2.04%、1.57%、1.44%、1.43%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称各成分含量已知的本品 9 份，每份 2.0 g，每 3 份为 1 组，分别按 50%、100%、150% 水平加入“2.1.1”项下对照品溶液，置于 10 mL 量瓶中，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，5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸平均加样回收率分别为 99.4%、103.30%、101.23%、99.41%、102.48%、98.47%、101.12%、102.94%、100.62%、100.65%、101.24%，RSD 分别为 1.80%、1.13%、2.04%、1.57%、1.43%、1.26%、2.54%、1.40%、2.80%、2.57%、2.33%。

2.9 样品含量测定 取 3 批样品，每批 3 份，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，计算含量，结果见表 3。

表 3 各成分含量测定结果 (mg/g, $n=3$)

Tab. 3 Results for content determination of various constituents (mg/g, $n=3$)						
批号	5-羟甲基糠醛	绿原酸	咖啡酸	阿魏酸	洋川芎内酯 I	淫羊藿苷
20240525	0.340 2	0.275 1	0.042 8	0.317 5	0.283 2	0.151 4
20240718	0.334 7	0.267 2	0.042 0	0.317 1	0.288 8	0.151 5
20240815	0.334 8	0.269 0	0.041 5	0.316 9	0.289 4	0.152 8
批号	补骨脂素	异补骨脂素	马钱苷	芍药苷	甘草酸	
20240525	0.107 6	0.092 5	1.005 1	1.161 0	0.302 3	
20240718	0.107 5	0.093 4	0.995 7	1.147 9	0.292 1	
20240815	0.108 5	0.093 2	0.995 2	1.150 3	0.297 6	

3 讨论

3.1 色谱条件筛选 本实验首先在 210~400 nm 波长处对 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸进行全波长扫描，发现其最大吸收波长分别为 284、327、327、316、269、270、246、246、230、240、254 nm，为了保

证检测准确性，采用双波长检测，发现在 230 nm 处马钱苷、芍药苷、甘草酸响应值较高，考虑到整体峰形协调性，其他成分在 280 nm 处进行检测。再分别考察了流动相 A（甲醇、乙腈）、B（0.1% 醋酸、水、0.1% 磷酸、0.2% 磷酸），发现以乙腈-0.1% 磷酸洗脱时杂质峰较少，溶剂峰较低，分离效果良好。最后，分别考察了柱温 25、30、35 $^{\circ}\text{C}$ ，

发现在 35 ℃ 下柱效升高，分离度理想。

3.2 提取工艺筛选 本实验首先考察了提取溶剂，基于相似相溶原理先用石油醚提取，除去制剂外壳残留物，再分别以 70% 甲醇、70% 乙醇、甲醇、乙醇提取 2 次，最终确定为 70% 甲醇，并且发现不同提取方法所得 5-羟甲基糠醛含量有所差异，还需进一步优化。再考察了提取时间，分别设定 10、20、30 min 及 30 min 以上，发现提取 30 min 时效果最佳。

4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定补脑软胶囊中 5-羟甲基糠醛、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、芍药苷、甘草酸的含量，该方法在前期质量标准的基础上进行优化，同时也保留了部分原有处理方法，具有干扰少、结果可靠、分析准确、检测成分多元化等特点，可为该制剂新质量标准制定提供技术参考。

参考文献：

[1] 刘 莉,王雪梅,韩宇博,等. 抗阿尔茨海默病的中药治疗及其作用机制研究概况[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(10): 2477-2480.

[2] 谢 宁,王 琪. 从肾防治老年脑病的策略探讨[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2018, 20(6): 900-904.

[3] 宋克立,刘源香. 中医治疗阿尔茨海默病研究进展[J]. 西部中医药, 2019, 32(4): 148-151.

[4] 颜乾麟,邢 斌. 阿尔茨海默病中医治疗目的和方法的拓展[J]. 中医杂志, 2003, 44(10): 725-726.

[5] 芦少敏. 补脑膏治疗多发性神经病疗效观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(6): 56.

[6] 李妍怡,刘志军,杨瑞龙,等. 补脑膏治疗血管性痴呆 70 例[J]. 中医研究, 2010, 23(1): 41-43.

[7] 张 欣,高增平. 阿魏酸的研究进展[J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 138-147.

[8] 祝合朋,陈瑞晗,邬 钰,等. 阿魏酸对阿尔兹海默症模

型小鼠骨骼的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(9): 1275-1280.

[9] 徐兰兰,车仙花,李 宁,等. 洋川芎内酯类化合物药理作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(2): 98-102.

[10] 张丽娟,刘继勇,姚 翀,等. 洋川芎内酯类化合物药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(13): 1081-1084.

[11] 王义翠,彭慧霞,夏子岚,等. 淫羊藿苷药理作用及应用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(6): 182-186.

[12] 李 莹,黄南渠,冯 飞,等. 淫羊藿苷在阿尔茨海默病中的神经保护作用及机制研究进展[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 192-196; 27.

[13] 路宇仁,陈映冰,崔元璐,等. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 209-220.

[14] 姜哲轶,吴婷月,沈传斌,等. 5-羟甲基糠醛的药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(1): 92-95.

[15] 王 梅,王越欣,武英茹,等. 5-羟甲基糠醛在中药加工过程中的变化及药理作用研究概况[J]. 药物评价研究, 2020, 43(11): 2319-2327.

[16] 汪庆飞,高家荣. 补骨脂的药理作用研究进展[J]. 中国妇幼健康研究, 2016, 27(S1): 256-257.

[17] 鲁亚奇,张 晓,王金金,等. 补骨脂化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 180-189.

[18] 胡家铭,陈 权,肖鲁伟,等. 马钱苷药理学作用及机制研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(8): 1206-1209.

[19] Nie L L, He K W, Xie F Z, *et al.* Loganin substantially ameliorates molecular deficits, pathologies and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer’s disease[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(20): 23739-23756.

[20] 李喜香,豆金彦,潘从泽,等. 补脑软胶囊对阿尔茨海默病大鼠学习记忆能力及海马区神经细胞损伤的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(11): 57-61.

[21] 李喜香,潘从泽,王建良,等. 补脑软胶囊对血管性痴呆小鼠学习、记忆能力和海马组织的影响[J]. 中医研究, 2016, 29(11): 67-70.

[22] 李喜香,刘效栓,毕映燕,等. 补脑软胶囊质量标准的研究[J]. 中成药, 2016, 38(2): 321-325.