

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.03.012

◇ 药物分析 ◇

基于 HPLC 波长切换法对养胃宁胶囊中 6 种成分的质量控制研究

孙辉¹, 何胜利²作者单位:¹ 南阳市中心医院急诊内科, 河南 南阳 473009; ² 遂成药业股份有限公司, 河南 新郑 451150

通信作者: 何胜利, 男, 工程师, 研究方向为药物制剂及质量标准研究, E-mail: sunhuixs@163.com

摘要: **目的** 建立同时测定养胃宁胶囊中花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮含量的方法。 **方法** 采用 Agilent Eclipse XDB C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱; 流速: 0.9 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}$ C。 **结果** 花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮分别在 2.18 ~ 54.50 μ g/mL ($r=0.9999$)、7.89 ~ 197.25 μ g/mL ($r=0.9996$)、6.57 ~ 164.25 μ g/mL ($r=0.9998$)、4.89 ~ 122.25 μ g/mL ($r=0.9997$)、5.76 ~ 144.00 μ g/mL ($r=0.9999$)、1.79 ~ 44.75 μ g/mL ($r=0.9991$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 97.33%、100.18%、98.47%、97.42%、99.04% 和 96.99%, RSD 分别为 1.13%、0.59%、1.49%、1.36%、0.80% 和 0.95%。 **结论** 该方法简便、准确、重复性好, 可为养胃宁胶囊多指标质量评价提供依据。

关键词: 养胃宁胶囊; 波长切换法; 花旗松素; 山姜素; 乔松素; 小豆蔻明; 桉木酮; α -香附酮

Quality control for six components in Yangweining capsule based on HPLC wavelength switching method

SUN Hui¹, HE Shengli²Author Affiliations: ¹ Department of Emergency Medicine, Nanyang City Center Hospital, Nanyang, Henan473009, China; ² Suicheng Pharmaceutical Co., LTD, Xinzheng, Henan 451150, China

Abstract: Objective To develop an HPLC wavelength switching method for determination of taxifolin, alpinetin, pinocembrin, cardamonin, alnustone and α -cyperone in Yangweining capsule simultaneously. **Method** The Agilent Eclipse XDB C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) chromatographic column was adopted. The mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid solution with gradient elution, at a flow rate of 0.9 mL/min. The column temperature was set at 25 $^{\circ}$ C. **Results** The linear response range were 2.18-54.50 μ g/mL ($r=0.9999$), 7.89-197.25 μ g/mL ($r=0.9996$), 6.57-164.25 μ g/mL ($r=0.9998$), 4.89-122.25 μ g/mL ($r=0.9997$), 5.76-144.00 μ g/mL ($r=0.9999$), 1.79-44.75 μ g/mL ($r=0.9991$) of taxifolin, alpinetin, pinocembrin, cardamonin, alnustone and α -cyperone, respectively. The average recoveries and the corresponding RSD were 97.33% (RSD = 1.13%), 100.18% (RSD = 0.59%), 98.47% (RSD = 1.49%), 97.42% (RSD = 1.36%), 99.04% (RSD = 0.80%), 96.99% (RSD = 0.95%), respectively. **Conclusion** The method with good reproducibility is simple and accurate, which provide a new mind for quality assess of Yangweining capsule.

Key words: Yangweining capsule; Wavelength switching method; Taxifolin; Alpinetin; Pinocembrin; Cardamonin; Alnustone; α -cyperone

养胃宁胶囊系香附(醋)、水红花子(炒)、草豆蔻、香椽、当归等 12 味中药材加工而成, 收载于《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第十三册, 具有调中养胃、理气止痛的功效, 其适应证主要为急慢性胃炎、溃疡病, 胃神经官能症等疾病, 临床疗效显著^[1]。养胃宁胶囊现行标准未对方中药物成分进行定量测定研究, 王英伟等^[2] 仅对该制剂中所含大黄酚进行了含量测定, 未检索到对养胃宁胶囊中多成分定量测定的文献报道。方中香附^[3-4] 为莎草科植物莎草的干燥根茎, 具有疏肝解郁、理气宽中、调经止痛的作用, 主要用于脾胃气滞、脘腹痞闷、胀满疼痛、肝郁气滞、胸胁胀痛等症的治疗; 水红花子^[3] 为蓼科植物红蓼的干燥成熟果实, 具有消积止痛、利水消肿、散血消癥的功

效, 主要用于食积不消、胃脘胀痛、水肿腹水等症的治疗; 草豆蔻^[3,5] 温中止呕、燥湿行气, 香椽^[3] 舒肝理气、宽中化痰。笔者 2016 年 1 月至 2017 年 1 月采用 HPLC 波长切换法, 对养胃宁胶囊主要药味香附所含主要成分 α -香附酮, 水红花子所含指标性成分花旗松素, 草豆蔻的指标性成分山姜素、乔松素、小豆蔻明和桉木酮进行了同时测定研究, 所建立的方法操作简便、准确, 重复性好, 为养胃宁胶囊质量标准的提高提供了数据支持。

1 仪器

Agilent1100 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦科技有限公司; BP211DAG 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; KQ-500DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声

仪器有限公司。

2 试药与试剂

养胃宁胶囊(规格:每粒装 0.3 g,批号:160501、170101、170601)来源于通化茂祥制药有限公司;对照品花旗松素(批号:111816-201102,含量:98.9%)、山姜素(批号:110762-201405,含量:97.5%)、乔松素(批号:111829-201703,含量:99.5%)、小豆蔻明(批号:110763-201604,含量:99.8%)、桉木酮(111830-201703,含量:99.8%)、 α -香附酮(批号:110748-201714,含量:99.4%)均来自于中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,其它试剂为分析纯。

3 方法与结果

3.1 溶液的制备

3.1.1 对照品溶液 分别精密称取花旗松素对照品、山姜素对照品、乔松素对照品、小豆蔻明对照品、桉木酮对照品、 α -香附酮对照品各适量,用甲醇溶解并制成质量浓度为 0.436、1.578、1.314、0.978、1.152、0.358 mg/mL 的单一组分对照品储备液。再精密吸取各对照品储备液 2.5 mL,置同一 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得养胃宁胶囊检测用混合对照品溶液。

3.1.2 供试品溶液 取养胃宁胶囊适量,倾出内容物,取约 2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 50 mL,密塞,称重,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)提取 30 min,放冷,擦干外壁,用甲醇补足减失重量,摇匀,过滤,续滤液作为养胃宁胶囊供试品溶液。

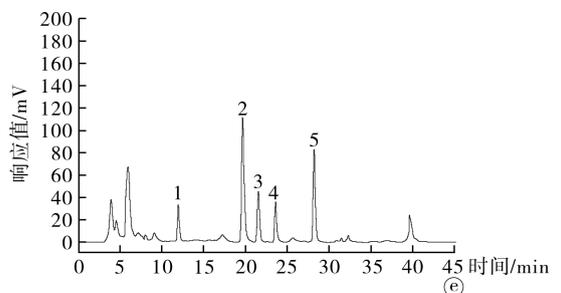
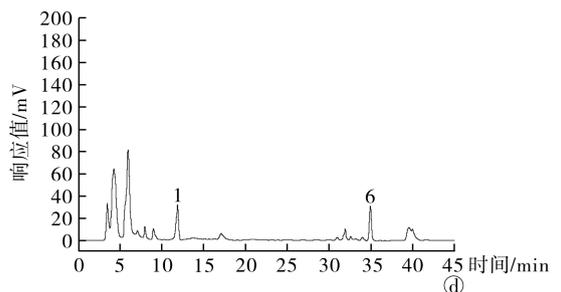
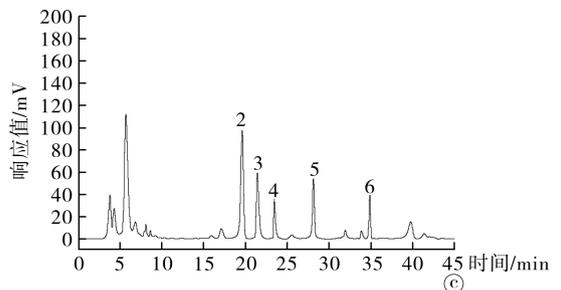
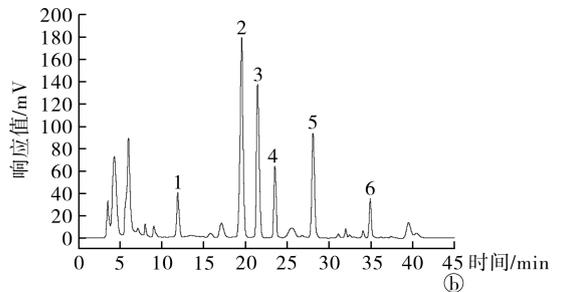
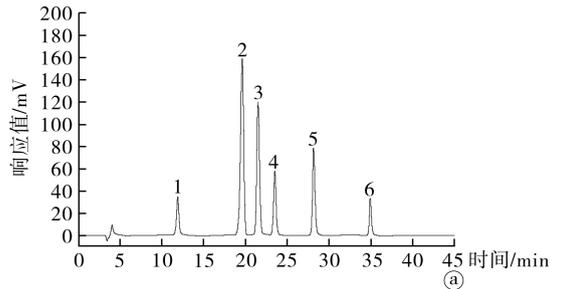
3.1.3 阴性样品溶液 按照养胃宁胶囊的处方和制备工艺,分别制备缺水红花子(炒)阴性样品、缺草豆蔻阴性样品和缺香附(醋)阴性样品,再按照“3.1.2”项下养胃宁胶囊供试品溶液制备方法制成水红花子阴性样品溶液、草豆蔻阴性样品溶液和香附阴性样品溶液。

3.2 色谱条件 采用 Agilent Eclipse XDB C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱;流动相 A:甲醇,流动相 B:0.1% 磷酸溶液,梯度洗脱(0 ~ 10 min, 36.0% A; 10 ~ 14 min, 36.0% A → 48.0% A; 14 ~ 30 min, 48.0% A → 62.0% A; 30 ~ 37 min, 62.0% A → 70.0% A; 37 ~ 45 min, 70.0% A → 36.0% A); 0 ~ 30 min 在 300 nm^[3,6-7] 波长下检测花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明和桉木酮,30 ~ 45 min 在 242 nm^[8-11] 波长下检测 α -香附酮;流速:0.9 mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C;进样量为 10 μ L。

3.3 方法学考察

3.3.1 专属性考察 精密量取“3.1”项下制备的

混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各适量,依法进样测定,结果见图 1,阴性样品溶液均无干扰,理论塔板数按所测各成分计均不低于 3 000,所测各成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮色谱峰均能达到有效分离,分离度均大于 1.5。



注:a.混合对照品溶液;b.养胃宁胶囊;c.水红花子阴性样品溶液;d.草豆蔻阴性样品溶液;e.香附阴性样品溶液;1.花旗松素;2.山姜素;3.乔松素;4.小豆蔻明;5.桉木酮;6. α -香附酮

图1 养胃宁胶囊 HPLC 色谱图

3.3.2 线性关系考察 分别精密吸取“3.1.1”项下制备的花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮对照品储备液各0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,置于20 mL量瓶中,用甲醇制成25倍浓度差的6个混合对照品溶液,依法进样测定,采用花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮质量浓度 c 为横坐标,所测各成分峰面积 A 为纵坐标,绘制标准曲线进行回归计算,回归方程分别为花旗松素: $A = 8.5594 \times 10^5 c + 427.1$;山姜素: $A = 1.6057 \times 10^6 c + 256.9$;乔松素: $A = 1.7365 \times 10^6 c - 372.8$;小豆蔻明: $A = 1.3219 \times 10^6 c + 281.7$;桉木酮: $A = 1.5698 \times 10^6 c - 277.1$; α -香附酮: $A = 9.0572 \times 10^5 c + 169.4$ 。花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮分别在2.18~54.50 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$)、7.89~197.25 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9996$)、6.57~164.25 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9998$)、4.89~122.25 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9997$)、5.76~144.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$)、1.79~44.75 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9991$)范围内线性关系良好。

3.3.3 精密度试验 取“3.1.1”项下制备的养胃宁胶囊检测用混合对照品溶液,依法进样测定花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮峰面积,结果所测6个成分峰面积的RSD分别为1.11%、0.95%、1.02%、0.98%、0.83%和1.26%。

3.3.4 稳定性试验 取养胃宁胶囊(批号:160501)的同一供试品溶液,分别在室温下第0、2、4、8、12和16 h进样,结果养胃宁胶囊供试品溶液室温下16 h稳定,所测各成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮峰面积的RSD分别为1.05%、0.88%、0.95%、1.11%、0.67%和1.20%。

3.3.5 重复性试验 取养胃宁胶囊(批号:160501),按照“3.1.2”项下制备方法制备养胃宁胶囊供试品溶液6份,依法进样测定,记录花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮峰面积,计算所测各成分含量,结果所测各成分含量的RSD分别为1.46%、0.59%、0.82%、1.39%、1.27%和0.96%。

3.3.6 加样回收率试验 取已知含量的养胃宁胶囊(批号:160501),倾出内容物,取6份,每份约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入花旗松素对照品溶液(0.514 mg/mL)0.5 mL、山姜素对照品溶液(0.905 mg/mL)1.0 mL、乔松素对照品溶液(0.762 mg/mL)1.0 mL、小豆蔻明对照品溶液(0.561 mg/mL)1.0 mL、桉木酮对照品溶液(0.659

mg/mL)1.0 mL和 α -香附酮对照品溶液(0.417 mg/mL)0.5 mL,再按照“3.1.2”项下养胃宁胶囊供试品溶液制备方法制备加样回收样品溶液,依法进样测定,计算所测各成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮加样回收率,结果见表1。

表1 花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮、 α -香附酮的回收率

成分	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
花旗松素	1.000 4	0.261 1	0.257 0	0.512 8	97.94	97.33	1.13
	1.007 0	0.262 8	0.257 0	0.517 6	99.14		
	0.992 8	0.259 1	0.257 0	0.509 3	97.35		
	1.010 1	0.263 6	0.257 0	0.510 4	96.03		
	0.982 5	0.256 4	0.257 0	0.504 6	96.58		
	0.991 6	0.258 8	0.257 0	0.507 9	96.93		
山姜素	1.000 4	0.897 4	0.905 0	1.800 2	99.76	100.18	0.59
	1.007 0	0.903 3	0.905 0	1.815 4	100.78		
	0.992 8	0.890 5	0.905 0	1.803 7	100.91		
	1.010 1	0.906 1	0.905 0	1.806 0	99.44		
	0.982 5	0.881 3	0.905 0	1.785 3	99.89		
	0.991 6	0.889 5	0.905 0	1.797 2	100.30		
乔松素	1.000 4	0.759 3	0.762 0	1.520 7	99.92	98.47	1.49
	1.007 0	0.764 3	0.762 0	1.517 8	98.88		
	0.992 8	0.753 5	0.762 0	1.499 3	97.87		
	1.010 1	0.766 7	0.762 0	1.502 4	96.55		
	0.982 5	0.745 7	0.762 0	1.509 6	100.25		
	0.991 6	0.752 6	0.762 0	1.494 5	97.36		
小豆蔻明	1.000 4	0.564 2	0.561 0	1.117 3	98.59	97.42	1.36
	1.007 0	0.567 9	0.561 0	1.109 2	96.49		
	0.992 8	0.559 9	0.561 0	1.099 4	96.17		
	1.010 1	0.569 7	0.561 0	1.108 9	96.11		
	0.982 5	0.554 1	0.561 0	1.110 2	99.13		
	0.991 6	0.559 3	0.561 0	1.109 1	98.00		
桉木酮	1.000 4	0.672 3	0.659 0	1.329 1	99.67	99.04	0.80
	1.007 0	0.676 7	0.659 0	1.328 0	98.83		
	0.992 8	0.667 2	0.659 0	1.321 9	99.35		
	1.010 1	0.678 8	0.659 0	1.327 8	98.48		
	0.982 5	0.660 2	0.659 0	1.319 4	100.03		
	0.991 6	0.666 4	0.659 0	1.311 6	97.91		
α -香附酮	1.000 4	0.213 1	0.208 5	0.418 8	98.66	96.99	0.95
	1.007 0	0.214 5	0.208 5	0.415 6	96.45		
	0.992 8	0.211 5	0.208 5	0.413 0	96.64		
	1.010 1	0.215 2	0.208 5	0.415 5	96.07		
	0.982 5	0.209 3	0.208 5	0.412 4	97.41		
	0.991 6	0.211 2	0.208 5	0.412 9	96.74		

3.4 养胃宁胶囊的含量测定 取批号为 160501、170101、170601 的养胃宁胶囊,按照“3.1.2”项下养胃宁胶囊供试品溶液制备方法制备供试品溶液,依法进样测定,记录花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮峰面积,采用外标法计算所测各成分含量,结果见表 2。

表 2 含量测定结果/(mg/g)

成分	批号		
	160501	170101	170601
花旗松素	0.261	0.230	0.282
山姜素	0.897	0.938	0.815
乔松素	0.759	0.855	0.727
小豆蔻明	0.564	0.614	0.492
桉木酮	0.672	0.622	0.734
α -香附酮	0.213	0.189	0.244

4 讨论

4.1 养胃宁胶囊供试品溶液制备方法的优化 本实验考察了不同提取溶剂(甲醇^[3,7-9]、70% 甲醇、乙醇^[12]、70% 乙醇^[13])对养胃宁胶囊中所测成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮提取率的影响,对比结果显示甲醇的提取效果优于其他提取溶剂;在此结果基础上,对养胃宁胶囊供试品的提取方式(超声提取^[2,7-8]和加热回流提取^[3])和提取时间(15 min、30 min 和 45 min)进行了对比考察,最终优选养胃宁胶囊供试品溶液最佳的制备方法为甲醇溶液超声提取 30 min,此条件下所测成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮的综合提取率最佳。

4.2 色谱条件中流动相的优化 本实验对比考察了甲醇-水^[3,7-9,13-14]、乙腈-水^[15]等度洗脱,以所测成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮的峰形、分离度以及色谱峰基线平稳等为评价指标,结果甲醇-水流动相优于乙腈-水流动相体系,但所测成分 α -香附酮峰形较差,乔松素色谱峰分离效果欠佳;在此结果基础上,笔者又分别考察了甲醇-0.1% 磷酸溶液^[16-17]、甲醇-0.1% 冰醋酸溶液为流动相,同时采用梯度洗脱方法,对流动相的比例进行不断摸索,最终确定采用甲醇-0.1% 磷酸溶液为流动相,按照文中“3.2”项下的规定的程序梯度洗脱,此条件下所测色谱峰基线平稳,所测成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮色谱峰峰形对称,分离度符合要求。

本研究采用 HPLC 波长切换联合梯度洗脱法,同时对养胃宁胶囊中 6 个成分花旗松素、山姜素、乔松素、小豆蔻明、桉木酮和 α -香附酮的含量进行了测定,所建立的方法简便、快捷,重复性好,灵敏度高,为养胃宁胶囊质量标准的提高提供了数据支持。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 卫生部颁药品标准(中药成方制剂第十三册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1997:154.
- [2] 王英伟,于佳立,赵文倩,等. 高效液相色谱法测定养胃宁胶囊中大黄酚含量[J]. 中国药业,2012,21(13):29-30.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:83,238-239,258.
- [4] 吴卫东. 离子色谱法测定艾附暖宫丸中 9 种无机阴离子含量[J]. 安徽医药,2016,20(6):1068-1072.
- [5] 谢鹏,秦华珍,谭喜梅,等. 草豆蔻化学成分和药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(3):60-63.
- [6] 高森,李正翔,王志涛,等. HPLC-ELSD 测定猴枣牛黄散中乔松素、小豆蔻明、西贝母碱和西贝母碱昔[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(21):145-149.
- [7] 李元圆,俞桂新,杨莉,等. 草豆蔻药材质量控制方法研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2091-2094.
- [8] 卢君蓉,李文兵,王世宇,等. 香附醋制前后香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):24-27.
- [9] 王世宇,李文兵,卢君蓉,等. HPLC 法同时测定不同产地香附药材中香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮[J]. 中成药,2015,37(3):588-591.
- [10] 卢君蓉,李文兵,傅超美,等. 香附药材的质量控制方法的探讨[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(5):389-392.
- [11] 季宁平,卢君蓉,李文兵,等. 不同醋制方法对香附中指标成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(7):5-7.
- [12] 赵艳芳,徐坤,徐鲁斌,等. 胶束电动毛细管色谱法测定草豆蔻中山姜素和小豆蔻明的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(14):142-144.
- [13] 王延翠,李爱峰,孙爱玲,等. 草豆蔻有效成分的半制备型高效液相色谱分离[J]. 安徽农业科学,2016,44(24):127-130.
- [14] 王雪婷,王磊,宋德成,等. 不同产地香附中 α -香附酮含量测定[J]. 天津科技,2013,26(1):28-29.
- [15] 谢健鸣,陈浩按,隆颖. 水红花子配方颗粒中花旗松素的含量测定[J]. 今日药学,2016,26(9):636-638.
- [16] 高晓丽,丑静,孟先生,等. HPLC 波长切换法测定不同产地水红花子中花旗松素和槲皮素的含量[J]. 中国现代应用药学,2013,30(5):508-511.
- [17] 周晓玉,苏丙贺,张宇瑶,等. HPLC 分析比较不同炮制方法对水红花子活性成分的影响[J]. 中药材,2012,35(4):540-542.

(收稿日期:2017-11-28,修回日期:2018-01-23)