

HPLC 法同时测定通舒口爽片中 9 个成分的含量*

胡小祥¹, 何艳^{2**}, 孔庆丽³, 黄丽彬^{1**}

(1. 郴州市食品药品检验检测中心, 郴州 423000; 2. 湘南学院药学院, 郴州 423000; 3. 吉林省俊宏药业有限公司, 通化 135100)

摘要 目的:采用高效液相色谱(HPLC)技术,建立同时测定通舒口爽片(大黄、枳实、秦艽等)中马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 9 个成分的含量。**方法:**样品经甲醇回流提取后,分析采用 Thermo Acclaim - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相为 0.15% 磷酸(乙腈,梯度洗脱,流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 10 μL,检测波长为 236 nm(检测马钱苷酸)、280 nm(检测龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚)、254 nm(检测芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚)。**结果:**马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚在各自线性范围内呈良好的关系(*r* 为 0.999 1 ~ 0.999 9),平均加样回收率(RSD)分别为 99.6% (RSD = 1.9%)、101.1% (RSD = 2.0%)、100.5% (RSD = 1.5%)、101.6% (RSD = 0.51%)、99.8% (RSD = 1.4%)、100.9% (RSD = 1.4%)、100.8% (RSD = 1.8%)、102.7% (RSD = 1.2%)、102.9% (RSD = 0.86%),6 批样品中 9 个成分的含量范围分别为 1.871 ~ 3.517 mg · g⁻¹、6.274 ~ 12.55 mg · g⁻¹、2.140 ~ 3.946 mg · g⁻¹、1.393 ~ 2.018 mg · g⁻¹、0.394 8 ~ 0.807 2 mg · g⁻¹、0.657 5 ~ 1.246 mg · g⁻¹、0.484 7 ~ 0.915 8 mg · g⁻¹、0.839 8 ~ 1.429 mg · g⁻¹、0.327 3 ~ 0.547 9 mg · g⁻¹。**结论:**所建立的方法简单准确,可用于通舒口爽片的质量控制与评价。**关键词:**通舒口爽片;高效液相色谱;化学成分;马钱苷酸;龙胆苦苷;橙皮苷;丹皮酚;芦荟大黄素;大黄酸;大黄素;大黄酚;大黄素甲醚;含量测定;质量控制

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)09 - 1597 - 07
doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0786

Simultaneous determination of nine constituents in
Tongshu Koushuang tablets by HPLC*HU Xiao - xiang¹, HE Yan^{2**}, KONG Qing - li³, HUANG Li - bin^{1**}

(1. Chenzhou Municipal Center for Food and Drug Control, Chenzhou 423000, China; 2. College of Pharmacy, Xiang Nan University, Chenzhou 423000, China; 3. Junhong Drug Company of Jilin, Tonghua 135100, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of loganic acid, gentiopicric acid, hesperidin, paeonol, aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion in Tongshu Koushuang tablets (Rhei Radix et Rhizoma, Aurantii Fructus Immaturus and Gentianae Macrophyllae Radix, etc.).
Methods: The samples were extracted by refluxing with methanol and the separation was performed on a Thermo Acclaim - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column at 30 °C, with mobile phase consisting of 0.15% phosphoric

* 湖南省自然科学基金科药联合项目(2021JJ80023)

** 通信作者 何艳 Tel:(0735)2278323;E-mail:hxx3318@126.com

黄丽彬 Tel:(0735)2116279;E-mail:1084250809@qq.com

第一作者 Tel:15873594256;E-mail:526378710@qq.com

acid solution and acetonitrile with a gradient elution at a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The injection volume was $10 \mu\text{L}$, and the detection wavelength was set at 236 nm (detecting loganic acid), 280 nm (detecting gentiopicroside, hesperidin and paeonol) and 254 nm (detecting aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion). **Results:** Nine constituents (loganic acid, gentiopicroside, hesperidin, paeonol, aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion) were in good linearity within their own ranges (r were $0.9991 - 0.9999$), and the average recoveries were 99.6% ($\text{RSD} = 1.9\%$), 101.1% ($\text{RSD} = 2.0\%$), 103.0% ($\text{RSD} = 1.5\%$), 101.6% ($\text{RSD} = 0.51\%$), 99.8% ($\text{RSD} = 1.4\%$), 100.9% ($\text{RSD} = 1.4\%$), 100.8% ($\text{RSD} = 1.8\%$), 102.7% ($\text{RSD} = 1.2\%$) and 102.9% ($\text{RSD} = 0.86\%$), respectively. The content ranges of nine constituents were $1.871 - 3.517 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $6.274 - 12.55 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.140 - 3.946 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $1.393 - 2.018 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.3948 - 0.8072 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.6575 - 1.246 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.4847 - 0.9158 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.8398 - 1.429 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $0.3273 - 0.5479 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** This simple and accurate method can be used for the quality control and evaluation of Tongshu Koushuang tablets.

Keywords: Tongshu Koushuang tablets; HPLC; chemical constituents; loganic acid; gentiopicroside; hesperidin; paeonol; aloe - emodin; rhein; emodin; chrysophanol; physcion; content determination; quality control

通舒口爽片由大黄、牡丹皮、当归、枳实、秦艽、夏枯草、茵陈、木贼 8 味药组成,具有清热除湿、化浊通便的作用,临床上用于口臭、牙龈肿痛、大肠湿热所致的便秘^[1],疗效显著。中药复方制剂成分复杂,成分间相互协同、相互作用,质量和疗效强调整体性;同时其质量评价指标应首选君药所含有效成分,同时兼顾臣、佐、使药有效成分^[2-3]。通舒口爽片现行质量标准中仅对大黄中大黄素和大黄酚进行质量控制,尚未有关通舒口爽片质量控制的文献报道,难以全面控制和评价该制剂的质量。方中大黄清热泻火、攻逐通便,主要活性成分有芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等蒽醌类成分^[4-5],枳实破气消积、疏通决泄,主要活性成分为橙皮苷、辛弗林^[6-7],二者合为君药;秦艽祛风湿、清湿热,为臣药,主要活性成分为马钱苷酸、龙胆苦苷^[8-9],为臣药;牡丹皮清热凉血、活血散瘀,为佐药,主要活性成分为丹皮酚^[10-11]。因此,本实验采用 HPLC 同时测定该制剂中马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 9 个成分的含量,以期为了更加全面控制和评价通舒口爽片内在质量,从而确保临床疗效的稳定。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器、自动进样器、四元泵、柱温箱,Agilent 公司);XSE-205Du 十万分之一电子天平(梅特勒托利

多公司);电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司);KQ-500VDE 超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品马钱苷酸(批号 111865-20202005,含量 97.5%)、龙胆苦苷(批号 110770-201918,含量 97.1%)、橙皮苷(批号 110721-202220,含量 97.2%)、丹皮酚(批号 110708-201908,含量 99.8%)、芦荟大黄素(批号 110795-201710,含量 98.3%)、大黄酸(批号 110757-201607,含量 99.3%)、大黄素(批号 110756-201913,含量 96.0%)、大黄酚(批号 110796-201922,含量 99.4%)、大黄素甲醚(批号 110758-201817,含量 99.2%)购自中国食品药品检定研究院。甲酸、乙酸、磷酸(分析纯、国药集团化学试剂有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,Merck 公司);水为屈臣氏纯净水。通舒口爽片(批号 20221001、20221101、20220101、20220201、20220401、20220402,吉林省俊宏药业有限公司,有效期 3 年)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Thermo Acclaim - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以 0.15% 磷酸为流动相 A,乙腈为流动相 B,梯度洗脱(0~10 min,8% B;10~20 min,8% B→15% B;20~35 min,15% B→25% B;35~50 min,25% B→40% B;50~65 min,40% B→70% B;65~70 min,70% B→80% B;70~80 min,80% B;再运行

6 min), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 进样量 $10 \text{ } \mu\text{L}$, 检测波长 236 nm (检测马钱苷酸)、 280 nm (检测龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚)、 254 nm (检测大黄素甲醚、大黄酚、大黄素、大黄酸、芦荟大黄素)。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取通舒口爽片样品 20 片 ($0.3502 \text{ g} \cdot \text{片}^{-1}$), 除去薄膜衣, 研细, 精密称取粉末 0.7 g , 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL , 称量, 加热回流 60 min , 放冷, 再称量, 用甲醇补足减失的量, 摇匀, 滤过, 滤液过 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 即得。

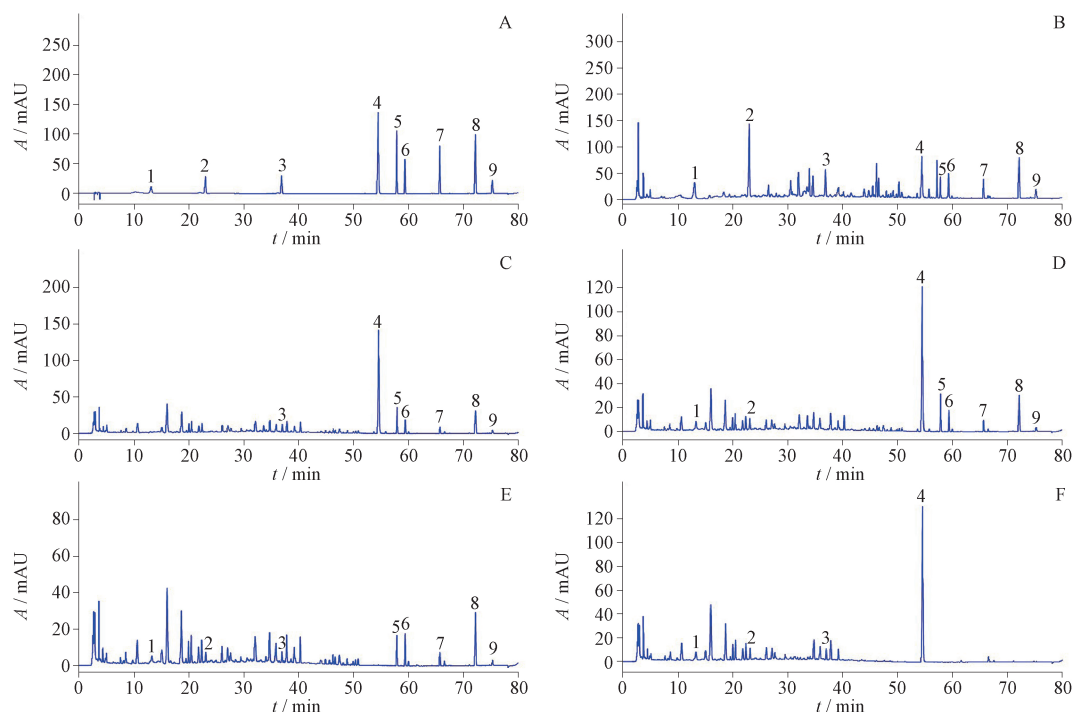
2.2.2 阴性样品溶液 按照处方中各药味比例, 分别取除秦艽、枳实、牡丹皮、大黄的其他药味, 按照工艺制得各阴性样品, 并按“2.2.1”项下方法制成缺秦艽、缺枳实、缺牡丹皮、缺大黄的阴性样品溶液。

2.2.3 混合对照品溶液 精密称取马钱苷酸、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄素、大黄酚对照品 10.07 、 8.07 、 10.61 、 6.02 、 6.88 、 7.60 mg 分别置 25 mL 量瓶中, 精密称取大黄酸、大黄素甲醚对照品

6.08 、 5.64 mg 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 得各单一对照品储备液。精密称取龙胆苦苷对照品 5.77 mg 置 25 mL 量瓶中, 再分别往该量瓶中加入各单一对照品储备液: 马钱苷酸 5 mL 、橙皮苷 5 mL 、丹皮酚 2.5 mL 、芦荟大黄素 1.5 mL 、大黄素 4 mL 、大黄素 2 mL 、大黄酚 2 mL 、大黄素甲醚 2.5 mL , 加甲醇定容至刻度, 得混合对照品储备液 (含马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚分别为 78.55 、 224.1 、 62.75 、 42.36 、 14.20 、 19.32 、 21.14 、 24.17 、 $11.19 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.3 专属性试验考察

取供试品溶液、4 种阴性样品溶液、混合对照品储备液各适量, 经 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 分别注入高效液相色谱仪, 按“2.1”项色谱条件进样测定, 记录各色谱图 (见图 1)。结果供试品色谱图中 9 个成分色谱峰保留时间与混合对照品一致, 且与相邻杂质峰的分离度均大于 1.9, 阴性样品相应保留时间位置上无色谱峰出现, 方法专属性良好。



1. 马钱苷酸 (loganic acid) 2. 龙胆苦苷 (gentiopicoside) 3. 橙皮苷 (hesperidin) 4. 丹皮酚 (paeonol) 5. 芦荟大黄素 (aloe-emodin) 6. 大黄酸 (rhein) 7. 大黄素 (emodin) 8. 大黄酚 (chrysophanol) 9. 大黄素甲醚 (physcion)

A. 混合对照品 (mixed reference substance) B. 样品 (sample) C. 缺秦艽阴性样品 (negative sample without *Gentiana Macrophylla Radix*) D. 缺枳实阴性样品 (negative sample without *Aurantii Fructus Immaturus*) E. 缺牡丹皮阴性样品 (negative sample without *Moutan Cortex*) F. 缺大黄阴性样品 (negative sample without *Rhei Radix et Rhizoma*)

图 1 通舒口爽片 HPLC 色谱图

Fig. 1 The HPLC chromatograms of Tongshu Kouhuang tablets

2.4 线性关系考察

精密量取混合对照品储备溶液 0.5、1、2、3、4、5 mL 各置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,得系列标准曲线工作液。取适量,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,分

别按“2.1”项色谱条件进样测定,记录各待测成分的峰面积。以各待测成分质量浓度($X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标进行线性回归,得回归方程(见表 1)。结果各组分在试验范围内线性关系良好。

表 1 9 个成分线性关系考察结果

Tab.1 The results of linearity investigation of nine constituents

成分(component)	回归方程(regression equation)	r	线性范围(linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
马钱苷酸(loganic acid)	$Y = 12.16X + 26.14$	0.999 1	7.855 ~ 78.55
龙胆苦苷(gentiopicroside)	$Y = 12.18X + 16.12$	0.999 9	22.41 ~ 224.1
橙皮苷(hesperidin)	$Y = 15.32X - 0.561 1$	0.999 9	6.275 ~ 62.75
丹皮酚(paeonol)	$Y = 44.68X - 6.965$	0.999 8	4.236 ~ 42.36
芦荟大黄素(aloe-emodin)	$Y = 46.63X - 2.014$	0.999 9	1.420 ~ 14.20
大黄酸(rhein)	$Y = 33.81X - 2.071$	0.999 9	1.932 ~ 19.32
大黄素(emodin)	$Y = 33.60X - 1.778$	0.999 8	2.114 ~ 21.14
大黄酚(chrysophanol)	$Y = 48.72X - 3.991$	0.999 9	2.417 ~ 24.17
大黄素甲醚(physcion)	$Y = 31.99X - 1.274$	0.999 9	1.119 ~ 11.19

2.5 仪器精密度试验

取混合对照品储备液,用甲醇稀释 2 倍,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,照“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次测定各成分的峰面积。结果马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.50%、0.15%、0.61%、0.19%、0.23%、0.20%、0.42%、0.17%、0.44%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号 20220101),按“2.1”项色谱条件,于 0、6、12、18、24、36 h 进样测定,马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 依次为 0.57%、0.55%、0.73%、0.66%、0.58%、0.93%、1.7%、0.55%、0.58%,供试品溶液在 36 h 内测定稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号 20220101),精密称取 6 份,按“2.2.1”项下的方法平行制备供试品溶液,再按“2.1”项色谱条件测定马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的峰面积,代入标准曲线,计算 9 个成分的含量。结果 9 个成分平均含量依次为 3.555、10.09、2.929、1.819、0.503 9、0.804 6、0.623 1、1.111、0.416 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 为 0.94%、1.0%、1.7%、2.0%、1.9%、1.9%、1.2%、1.8%、1.4%,该方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取含量已知的通舒口爽片(批号 20220101)样品,精密称取 0.35 g,共 6 份,分别置具塞锥形瓶中,每份按相当于样品中各成分含量的 100% 分别加入各对照品溶液(0.422 8 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 马钱苷酸 3 mL、0.355 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 龙胆苦苷 10 mL、0.204 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 橙皮苷 5 mL、0.437 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹皮酚 1.5 mL、0.184 6 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦荟大黄素 1 mL、0.150 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 大黄酸 2 mL、0.231 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 大黄素 1 mL、0.271 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 大黄酚 1.5 mL、0.119 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 大黄素甲醚 1.5 mL),加甲醇补足至 50 mL,再按“2.1”项色谱条件进样测定马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积,代入相应标准曲线,计算 9 个成分的加样回收率,结果见表 2。

2.9 样品含量测定

通舒口爽片样品 6 批,每批次称取 2 份,分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,进样测定,分别代入标准曲线计算其含量(见表 3)。

3 讨论

3.1 检测成分的考察

为了对通舒口爽片质量进行更全面的评价,预实验还对当归中活性成分阿魏酸^[12-13]、茵陈主要活性成分绿原酸^[14-15]、夏枯草主要活性成分迷迭香酸^[16-17]进行测定。发现阿魏酸和绿原酸含量较低,

表 2 9 个成分加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab.2 Results of recovery test for nine constituents

成分 (component)	称样量 (mass)/g	样品量 (amount)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
马钱苷酸(loganic acid)	0.351 2	1.249	1.268	2.535	101.4	99.6	1.9
	0.350 4	1.246	1.268	2.524	100.8		
	0.351 1	1.248	1.268	2.524	100.6		
	0.350 8	1.247	1.268	2.505	99.2		
	0.351 6	1.250	1.268	2.508	99.2		
	0.350 3	1.245	1.268	2.465	96.2		
龙胆苦苷(gentiopicro side)	0.351 2	3.544	3.555	7.176	102.2	101.1	2.0
	0.350 4	3.536	3.555	7.045	98.7		
	0.351 1	3.543	3.555	7.110	100.3		
	0.350 8	3.540	3.555	7.106	100.3		
	0.351 6	3.548	3.555	7.120	100.5		
	0.350 3	3.535	3.555	7.248	104.4		
橙皮苷(hesperidin)	0.351 2	1.029	1.024	2.065	101.2	100.5	1.5
	0.350 4	1.026	1.024	2.064	101.4		
	0.351 1	1.028	1.024	2.071	101.9		
	0.350 8	1.027	1.024	2.055	100.4		
	0.351 6	1.030	1.024	2.058	100.4		
	0.350 3	1.026	1.024	2.025	97.6		
丹皮酚(paeonol)	0.351 2	0.638 8	0.656 3	1.304	101.4	101.6	0.51
	0.350 4	0.637 4	0.656 3	1.305	101.7		
	0.351 1	0.638 7	0.656 3	1.303	101.2		
	0.350 8	0.638 1	0.656 3	1.306	101.8		
	0.351 6	0.639 6	0.656 3	1.312	102.5		
	0.350 3	0.637 2	0.656 3	1.300	101.0		
芦荟大黄素(aloe-emodin)	0.351 2	0.177 0	0.184 6	0.360 0	99.1	99.8	1.4
	0.350 4	0.176 6	0.184 6	0.358 2	98.4		
	0.351 1	0.176 9	0.184 6	0.359 4	98.86		
	0.350 8	0.176 8	0.184 6	0.361 3	99.9		
	0.351 6	0.177 2	0.184 6	0.365 8	102.2		
	0.350 3	0.176 5	0.184 6	0.362 1	100.5		
大黄酸(rhein)	0.351 2	0.282 6	0.300 2	0.592 1	103.1	100.9	1.4
	0.350 4	0.281 9	0.300 2	0.586 4	101.4		
	0.351 1	0.282 5	0.300 2	0.582 3	99.9		
	0.350 8	0.282 3	0.300 2	0.580 2	99.2		
	0.351 6	0.282 9	0.300 2	0.584 6	100.5		
	0.350 3	0.281 9	0.300 2	0.586 0	101.3		
大黄素(emodin)	0.351 2	0.218 8	0.231 2	0.452 8	101.2	100.8	1.8
	0.350 4	0.218 3	0.231 2	0.446 6	98.8		
	0.351 1	0.218 8	0.231 2	0.451 5	100.7		
	0.350 8	0.218 6	0.231 2	0.446 9	98.8		
	0.351 6	0.219 1	0.231 2	0.457 3	103.0		
	0.350 3	0.218 3	0.231 2	0.455 3	102.5		
大黄酚(chrysophanol)	0.351 2	0.390 2	0.406 8	0.816 2	104.7	102.7	1.2
	0.350 4	0.389 3	0.406 8	0.802 7	101.6		
	0.351 1	0.390 1	0.406 8	0.804 9	102.0		

表 2(续)

成分 (component)	称样量 (mass)/g	样品量 (amount)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
大黄素甲醚(phycion)	0.350 8	0.389 7	0.406 8	0.804 0	101.8	102.9	0.86
	0.351 6	0.390 6	0.406 8	0.808 1	102.6		
	0.350 3	0.389 2	0.406 8	0.809 9	103.4		
	0.351 2	0.146 3	0.178 8	0.332 3	104.0		
	0.350 4	0.146 0	0.178 8	0.328 1	101.9		
	0.351 1	0.146 3	0.178 8	0.329 0	102.2		
	0.350 8	0.146 1	0.178 8	0.331 4	103.6		
	0.351 6	0.146 5	0.178 8	0.329 6	102.4		
	0.350 3	0.145 9	0.178 8	0.330 7	103.4		

表 3 通舒口爽片中样品中 9 个成分含量结果 ($n=2$)

Tab. 3 Determination results of nine constituents in Tongshu Koushuang tablets

批号 (lot number)	含量(contnet)/(mg · g ⁻¹)								
	马钱苷酸 (loganin acid)	龙胆苦苷 (gentiopicoside)	橙皮苷 (hesperidin)	丹皮酚 (paeonol)	芦荟大黄素 (aloe-emodin)	大黄酸 (rhein)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (phycion)
20221001	1.871	6.274	2.140	1.393	0.498 1	0.768 3	0.571 8	1.267	0.383 1
20221101	2.725	9.006	2.424	2.018	0.807 2	1.246	0.915 8	1.429	0.574 9
20220101	3.517	10.21	2.946	1.891	0.497 3	0.811 5	0.607 9	1.110	0.411 0
20220201	2.810	10.22	3.500	1.828	0.443 8	0.675 4	0.507 0	0.854 4	0.341 9
20220401	2.889	12.55	3.912	1.727	0.415 5	0.717 6	0.497 5	0.894 0	0.341 9
20220402	2.692	11.56	3.346	1.628	0.394 8	0.657 5	0.484 7	0.839 8	0.327 3

迷迭香酸色谱峰存在干扰,尝试多次未实现有效分离。故最终选择马钱苷酸、龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚、大黄素甲醚、大黄酚、大黄素、大黄酸、芦荟大黄素作为含量测定的指标成分。

3.2 供试品制备条件的考察

以 9 个成分各色谱峰的峰形、峰面积、分离度(大于 1.5)为评价指标,课题组前期考察了甲醇、70% 甲醇、乙醇、70% 乙醇等提取溶剂,发现以甲醇提取溶剂时各色谱峰峰形为最好,峰面积为最大,且分离度满足要求。以甲醇为溶剂考察了超声提取(30、45、60 min)和回流提取(30、45、60、90 min),在现回流提取条件下,大黄素等 5 个蒽醌类成分提取更为完全,且回流提取 60 min 基本上提取完全。故供试品制备方法最终确定为加 50 mL 甲醇回流提取 60 min。

3.3 色谱条件的优化

在“2.1”项色谱条件下,对 9 个成分进行扫描(200~400 nm)。结果马钱苷酸在 236 nm 处有最大吸收,龙胆苦苷、橙皮苷、丹皮酚在 280 nm 处有较大吸收,大黄素甲醚、大黄酚、大黄素、大黄酸、芦荟大

黄素在 254 nm 处有较大吸收。故本实验采用波长切换技术,选择 236、280、254 nm 作为检测波长。

预实验分别考察了乙腈-水、甲醇-水运行时 9 个成分的峰形及分离情况,发现乙腈-水系统压力较低,且各成分分离效果优于甲醇-水系统,但马钱苷酸和龙胆苦苷峰形不佳。进而比较了乙腈-0.1% 乙酸、乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-0.1% 磷酸等流动相系统对 9 个成分的峰形及分离的影响,以乙腈-0.1% 磷酸流动相系统效果最佳,最后对磷酸的浓度(0.05%、0.1%、0.15%、0.2%)进行了筛选,以 0.15% 磷酸为最佳,故最终选择乙腈-0.15% 磷酸为流动相梯度洗脱对通舒口爽片中 9 种成分进行测定。

3.4 小结

本实验采用高效液相色谱法建立了同时测定通舒口爽片中 9 个成分含量的方法,能较全面的反映和评价该制剂的内在质量,6 批含量测定结果显示各成分含量范围波动较小,质量较为稳定,但所收集的样本量偏少,尚不能制定各成分含量的限度值,后续将继续收集样本,以期制定各成分的限量值。

参考文献

- [1] YBZ116322008-2021 通舒口服液. 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S]. 2021
YBZ116322008-2021 Tongshu Koushuang Pian. National Drug Standard of China Food Drug Administration[J]. 2021
- [2] 舒波, 雷果平, 袁斌. 便通胶囊的含量测定及化学模式识别分析[J]. 中国药房, 2022, 33(18): 2209
SHU B, LEI GP, YUAN B. Content determination and chemical pattern recognition analysis of Biantong capsules [J]. China Pharm, 2022, 33(18): 2209
- [3] 李静华, 王丽琼. HPLC 法同时测定木香顺气丸中 6 种成分[J]. 中成药, 2022, 44(9): 2789
LI JH, WANG LQ. Simultaneous determination of six constituents in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(9): 2789
- [4] 贾志鑫, 刘力榕, 张银环, 等. UHPLC-FLD 法测定不同产地大黄中 6 种大黄蒽醌[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 926
JIA ZX, LIU LR, ZHANG YH, et al. Determination of six rhubarb anthraquinones of Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces from different growing areas by UHPLC-FLD [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 926
- [5] 胡小祥, 何艳. HPLC 法同时测定骨折挫伤胶囊中 7 种成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(2): 224
HU XX, HE Y. Simultaneous determination of seven components in Guzhe Cuoshang capsules by HPLC [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm, 2020, 31(2): 224
- [6] 曲中原, 李苏楠, 孙志伟, 等. 枳实化学成分与治疗功能性消化不良关联性分析及实验验证[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6521
QU ZY, LI SL, SUN ZW, et al. Correlation analysis and experimental verification between chemical components of *Aurantii Fructus Immaturus* and treatment of functional dyspepsia [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(20): 6521
- [7] 陆超颖, 王佳丽, 王洪兰, 等. 不同基原枳实药材的质量差异评价研究[J]. 中草药, 2022, 53(14): 4493
LU CY, WANG LJ, WANG HL, et al. Study on quality difference of *Aurantii Fructus Immaturus* from different origins [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(14): 4493
- [8] 李晶晶, 杨路存, 熊丰, 等. 6 种干燥方法对麻花苕品质的影响[J]. 中成药, 2022, 44(1): 148
LI JJ, YANG LC, XIONG F, et al. Effects of six drying methods on quality of *Gentiana straminea* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(1): 148
- [9] 谭东明, 魏杰, 尹红英. 高效液相色谱梯度洗脱法同时测定灵龙感冒胶囊中 9 种成分含量[J]. 医药导报, 2020, 39(10): 1399
TAN DM, WEI J, YIN HY. Simultaneous determination of nine compositions in Linglong Ganmao capsules by HPLC gradient elution method [J]. Herald Med, 2020, 39(10): 1399
- [10] 王海燕, 刘斌. 一测多评法测定不同产地牡丹皮中 5 种有效成分的含量[J]. 中国药品标准, 2021, 22(6): 577
WANG HY, LIU B. Simultaneous determination of five ingredients in Moutan Cortex with different origins by QAMS [J]. Drug Stand Chin, 2021, 22(6): 577
- [11] 张树蓉, 赵宏苏, 佟沫儒, 等. 牡丹皮化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 中草药, 2022, 53(16): 5215
ZHANG SR, ZHAO HS, TONG MR, et al. Chemical constituents, pharmacological effects of Moutan Cortex and predictive analysis on its quality marker (Q-Marker) [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(16): 5215
- [12] 逄安航, 李思思, 陈瑾, 等. 一测多评法同时测定连翘归尾颗粒中 3 种成分[J]. 中成药, 2022, 44(9): 2779
TI A H, LI SS, CHEN J, et al. Simultaneous determination of three constituents in Lianqiao Guiwei Granules by QAMS [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(9): 2779
- [13] 李惠莹, 唐云丽, 钟文, 等. 当归不同极性部位提取物 5 个成分含量测定及补血药效学研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(6): 1019
LI HY, TANG YL, ZHONG W, et al. Determination of 5 components in extracts from different polar parts of *Angelica sinensis* (div.) Diels and study on pharmacodynamics of enriching blood [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(6): 1019
- [14] 位翠杰, 刘晓霞, 冯涌微, 等. 基于 UPLC 特征图谱和多成分定量的不同产地绵茵陈药材质量评价[J]. 中国现代中药, 2023, 25(5): 1026
WEI CJ, LIU XX, FENG YW, et al. Quality evaluation of artemisia scoparia from different producing areas based on UPLC characteristic chromatogram and multi-component determination [J]. Mod Chin Med, 2023, 25(5): 1026
- [15] 倪丽丽, 戴莹, 窦志华, 等. 茵陈标准汤剂量值传递规律研究[J]. 中草药, 2020, 51(11): 2954
NI LL, DAI Y, DOU ZH, et al. Study on law of quality value transmitting of Artemisiae Scopariae Herba standard decoction [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(11): 2954
- [16] 黄宽, 付鹏, 林艾和, 等. 不同产地夏枯草 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 124
HUANG K, FU P, LIN AH, et al. Study on HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of *Xiakucao* (*Prunella vulgaris*) from different producing areas [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(12): 124
- [17] 刘月新, 林艳, 谢菁琛, 等. 基于夏枯草不同生长发育时期化学成分的动态监测阐释“夏枯质优”的科学内涵[J]. 中草药, 2021, 52(7): 2082
LIU YX, LIN Y, XIE JK, et al. Scientific connotation of “summer withering with good quality” based on dynamic monitoring of chemical constituents at different growth and development stages of *Prunella vulgaris* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(7): 2082

(本文于 2024 年 6 月 12 日修改回)