

成分分析

山菊降压胶囊多指标成分含量测定及量值传递分析菊花成分变化*

赵振霞, 耿韞, 雷蓉, 尹璇, 刘永利**

(河北省药品医疗器械检验研究院 河北省中药质量评价与标准研究重点实验室, 石家庄 050227)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法同时测定山菊降压胶囊中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 个成分的含量, 并结合量值传递规律对菊花化学成分的变化进行分析。方法: 采用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 - 0.1% 磷酸为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 328 nm。以上述 8 个成分的转移率为主要评价指标, 进行从饮片到提取液的量值传递分析。结果: 8 个成分新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 分别在各自质量浓度范围内线性关系良好 ($r = 0.9999$), 平均加样回收率为 98.3% ~ 101.9%, RSD 为 0.066% ~ 0.64%。3 批山菊降压胶囊样品中测得的上述 8 个成分的含量范围分别为 0.257 ~ 0.279、0.629 ~ 0.650、0.402 ~ 0.476、0.454 ~ 0.539、1.118 ~ 1.278、0.653 ~ 0.740、0.659 ~ 0.706、1.138 ~ 1.167 mg · g⁻¹。结论: 该研究所建立的含量测定方法简单可行, 重复性、稳定性良好。量值传递分析更为含量方法的建立及限度的制定提供数据支持, 本研究可为山菊降压胶囊质量控制方法研究提供依据。

关键词: 山菊降压胶囊; 高效液相色谱法; 含量测定; 菊花; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 洋蓟素; 木犀草苷; 异绿原酸; 量值传递; 转移率

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024) 05 - 0796 - 10
doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.05.07

Multi - component determination of Shanjujiangya capsules and analysis of compositional change in Chrysanthemi Flos by quantity transfer*

ZHAO Zhen - xia, GENG Yun, LEI Rong, YIN - Xuan, LIU Yong - li**

(Hebei Institute for Drug and Medical Device Control, Hebei Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Evaluation and Standard Research, Shijiazhuang 050227, China)

Abstract Objective: To establish a method for simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, cynarin, galuteolin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C in Shanjujiangya capsules by HPLC and analyze compositional change of Chrysanthemi Flos combined with law of quantity transfer. **Methods:** The analysis was performed on Waters Symmetry C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with mobile phase composed of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ in gradient elution mode. The column temperature was 30 °C and the detection wavelength was

* 河北省重点研发计划项目“中药质量特征标识新技术研究与应用”(21372502D)

** 通信作者 Tel: 13932166206; E - mail: liuyongli2008@126.com

第一作者 Tel: 13623213609; E - mail: 34774757@qq.com

328 nm. The transfer rates of the above eight components were used as the indexes for quality evaluation to study the quantity value of transfer rule from the decoction piece to the extracting solution. **Results:** The results showed that the determination of eight components manifested a good linear relationship in the range of mass concentration ($r > 0.9999$), the average recoveries of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, cynarin, galuteolin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C were 98.3%–101.9%, with RSDs of 0.066%–0.64%. The contents of the above 8 components in 3 samples were 0.257–0.279 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.629–0.650 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.402–0.476 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.454–0.539 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 1.118–1.278 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.653–0.740 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.659–0.706, 1.138–1.167 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The HPLC method established in this study is simple, repeatable and stable. The analysis of quantity transfer provides data support for the establishment of content methods and the formulation of limits. This study can provide basis for quality control method of Shanjujiangya capsules.

Keywords: Shanjujiangya capsules; HPLC; content determination; Chrysanthemi Flos; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; cynarin; galuteolin; isochlorogenic acid; quantity transfer; transfer rate

山菊降压胶囊收载于国家药品标准[WS-452(Z-052)-2001-2011Z],是临床常用的中药复方制剂,由山楂、夏枯草、菊花、小蓟、盐泽泻、炒决明子六味药配伍而成,主要用于高血压病合并高血脂症之肝火亢盛引起的头痛眩晕、耳鸣目胀、面赤、脉弦等。方中山楂消食健胃、行气散瘀、化浊降脂,为君药;炒决明子清热明目、润肠通便,菊花散风清热、平肝明目、清热解毒,夏枯草清肝泻火、明目散结,三者合为臣药;盐泽泻利水渗湿、泄热降脂,小蓟凉血止血、散瘀消痈,合为佐使药^[1];诸药合用,以达平肝降火,利湿化痰的功效。

现行质量标准中仅对山楂中的熊果酸和决明子中的大黄酚进行含量测定,未有针对菊花成分的含量测定项目,文献中也未见相关报道^[2]。中药复方制剂由多味药按照“君、臣、佐、使”的规律配伍而成,其疗效一般是多个成分协同作用的结果^[3-5],菊花作为方中臣药,对复方制剂发挥疗效具有不可替代的作用,所以有必要建立含量测定方法。本研究主要针对菊花的化学成分进行研究,参考相关文献^[6-9],建立了高效液相色谱法测定菊花中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 个成分的含量,为山菊降压胶囊的质量标准制定提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Ultimate 3000 高效液相色谱仪,配备四元泵和 DAD 检测器(赛默飞世尔科技有限公司);KQ-400KDE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Mettler XPE26 型电子天平(梅特勒托利多科技

有限公司,0.001 mg);Mettler XSR205DU/A 型电子天平(梅特勒托利多科技有限公司,0.01 mg);Milli-Q 型超纯水净化系统(默克密理博公司)。

1.2 试剂

乙腈为色谱纯,默克公司;水为超纯水,自制;其他试剂均为分析纯;对照品绿原酸(批号 110753-202119,含量以 96.3% 计)、木犀草苷(批号 111720-202111,含量以 96.6% 计)、异绿原酸 A 品(批号 111782-202208,含量以 95.9% 计),中国食品药品检定研究院;对照品新绿原酸(批号 DSTDX001504,含量 $\geq 98\%$)、隐绿原酸(批号 DSTDY003501,含量 $\geq 98\%$)、洋蓟素(批号 DSTDE000502,含量 $\geq 98\%$)、异绿原酸 B(批号 DSTDY003703,含量 $\geq 98\%$)、异绿原酸 C(批号 DSTDY003804,含量 $\geq 98\%$),乐美天医药德斯特生物技术有限公司;菊花饮片购自安国市场,其中贡菊和怀菊各 4 批,编号分别为 GJ-1~GJ-4 和 HJ-1~HJ-4,经河北省药品医疗器械检验研究院段吉平主任药师鉴定均为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序;山菊降压胶囊样品由药店购买,3 批样品的生产厂家均为南京同仁堂药业有限责任公司,批号分别为 220101、220103、220104。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)为流动

相,梯度洗脱(0~8 min,7% A;8~22 min,7% A→15% A;22~32 min,15% A→18% A;32~48 min,18% A→22% A;48~60 min,22% A→25% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30℃,检测波长 328 nm,进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取对照品新绿原酸 3.238 mg、绿原酸 4.902 mg、隐绿原酸 3.102 mg、洋蓟素 3.511 mg、木犀草苷 3.393 mg、异绿原酸 B 5.662 mg、异绿原酸 A 7.491 mg、异绿原酸 C 5.040 mg,置同一 200 mL 量瓶中,加 70% 甲醇约 150 mL,超声(500 W,40 kHz)处理 5 min 使溶解,取出,放冷至室温,加 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 山菊降压胶囊供试品溶液 取山菊降压胶囊(批号 220103)内容物,置研钵内研细,取约 0.5 g,精密称定,置 150 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇溶液 25 mL,密塞,称量,超声(500 W,40 kHz)处理 30 min,取出,放冷,再称量,用 70% 甲醇溶液补足减失的量,摇匀,过滤,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按国家药品标准[WS-452(Z-052)-2001-2011Z]中【处方】比例与【制法】项下制备工艺,制备缺菊花药味的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2.4 菊花饮片供试品溶液 取菊花饮片粉碎(过 3 号筛),精密称取 0.5 g,置 150 mL 具塞锥形瓶中,按“2.2.2”项下方法操作,即得。

2.2.5 含菊花药味的提取液供试品 参照山菊降压胶囊处方与制备工艺,取菊花和小蓟饮片各 24 g,加水 500 mL,煎煮 2 次,每次 2 h,煎液合并,滤过,滤液浓缩至 100 mL,精密量取浓缩液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加 70% 甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

2.3 专属性试验

分别精密吸取“2.2”项下的混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL,按照“2.1”项下色谱条件,分别注入高效液相色谱仪,进行分析,并记录色谱图,结果见图 1。在样品色谱图中,分别显示与 8 个待测成分保留时间一致的色谱峰,色谱图基线平稳,各色谱峰峰形较好,且与相邻峰分离良好,阴性样品色谱图中无相应的色谱峰,说明方法可行,且除菊花外的其他药味不干扰山菊降压胶囊中待测成分的测定,方法专属性良好。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 用 70% 甲醇溶液配制新绿

原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 质量浓度依次为 0.321 2、0.489 2、0.313 6、0.351 2、0.337 2、0.569 1、0.472 2、0.512 4 mg·mL⁻¹的混合对照品储备液,精密吸取 0.5、1、5、10、20、50 mL,分别置于 100 mL 量瓶中,加 70% 甲醇定容至刻度,摇匀,即得系列浓度的混合对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各 10 μL,分别注入高效液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品进样浓度 X (μg·mL⁻¹) 为横坐标,峰面积积分值 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,结果(表 1)表明,各成分在各自线性范围内线性关系良好。

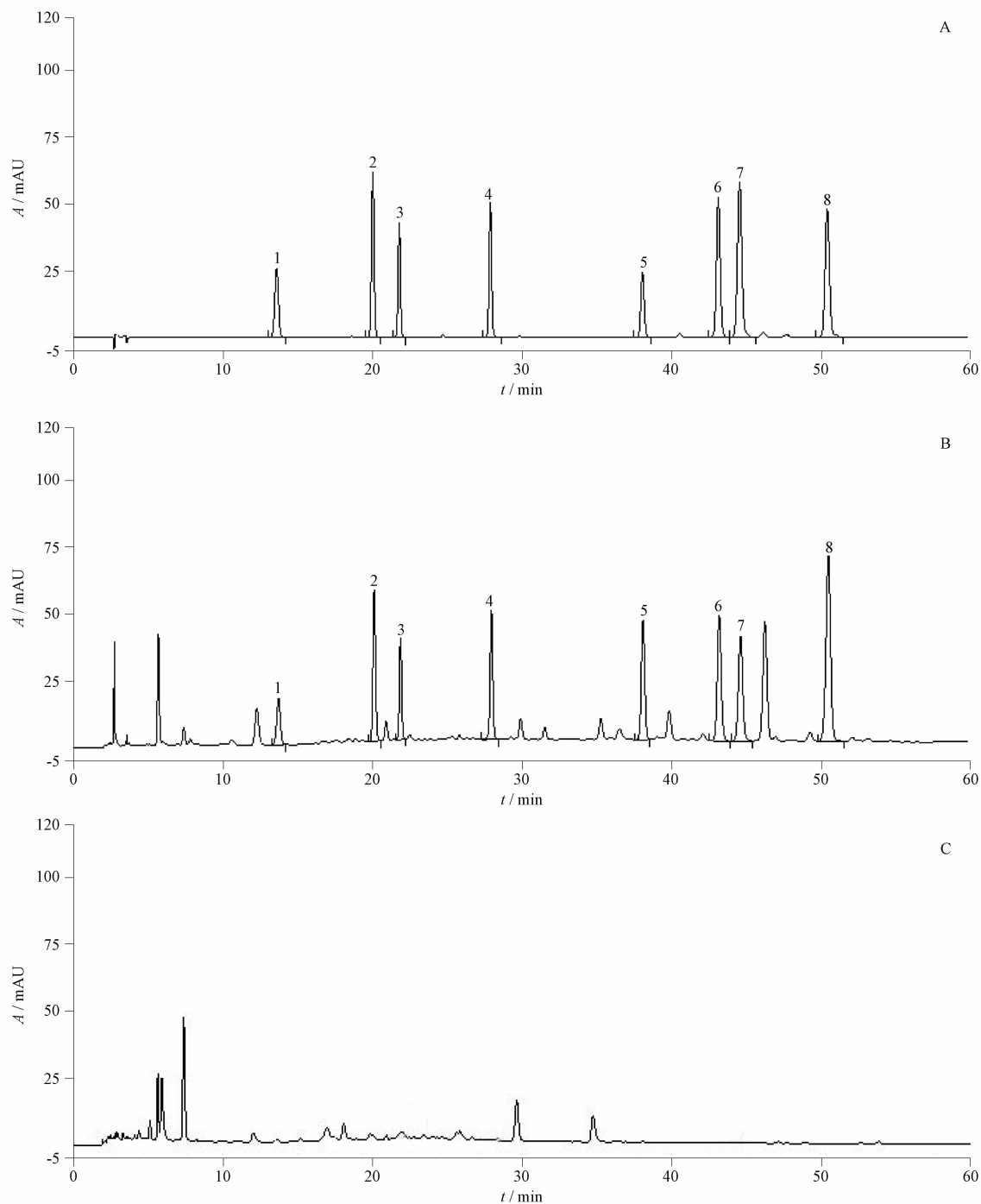
2.4.2 稳定性试验 精密吸取“2.2.2”项下制备的山菊降压胶囊供试品溶液 10 μL,分别在配制后 0、2、4、8、12、18、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录各成分峰面积积分值,计算 RSD,结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的 RSD 分别为 0.21%、0.32%、0.24%、0.31%、0.89%、0.39%、0.71%、0.62%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取山菊降压胶囊(批号 220103)样品适量研细,取约 0.25、0.50、0.75 g,各 3 份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项的色谱条件进样测定,记录各成分峰面积积分值,计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的平均含量分别为 0.278 7、0.649 7、0.424 4、0.491 5、1.245 9、0.740 2、0.670 2、1.141 5 mg·g⁻¹,RSD 分别为 0.18%、0.45%、0.29%、1.2%、0.79%、0.67%、0.40%、0.72%,表明该方法重复性良好。

2.4.4 加样回收率试验 取山菊降压胶囊(批号 220103)样品适量研细,精密称取 9 份,每份约 0.25 g,每 3 份为 1 组,分别加入用 70% 甲醇配制的低、中、高 3 个质量浓度的混合对照品溶液 25 mL,按“2.2.2”项下方法分别制备供试溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表 2,表明本方法回收率较好。

2.5 样品测定

2.5.1 山菊降压胶囊 采用所建立的含量测定方法对收集到的 3 批山菊降压胶囊样品进行测定,记录色谱图,计算 8 个指标成分的含量,结果见表 3。不同批次间部分测定成分的含量结果存在一定差异。



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid) 3. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) 4. 洋蓟素 (cynarin) 5. 木犀草苷 (galuteolin) 6. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 7. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 8. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)
 A. 混合对照品 (mixed reference substances) B. 样品 (sample) C. 阴性样品 (negative sample)

图 1 山菊降压胶囊 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of Shanjujiangya capsules

2.5.2 菊花药材及菊花提取液 采用所建立的含量测定方法对收集到的 8 批菊花饮片样品及按照山菊降压胶囊制备工艺制备的 8 批菊花提取液样品进

行测定,记录色谱图,并计算 8 个指标成分的含量,提取液中待测成分的含量也折合成每 1 g 菊花中的含量,结果见表 4。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationship of various components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
新绿原酸(neochlorogenic acid)	$Y=0.469X-0.0219$	0.9999	1.606~160.6
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y=0.524X-0.0431$	0.9999	2.446~244.6
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	$Y=0.497X-0.0213$	0.9999	1.568~156.8
洋蓟素(cynarin)	$Y=0.566X-0.0168$	0.9999	1.756~175.6
木犀草苷(galuteolin)	$Y=0.370X-0.0220$	0.9999	1.686~168.6
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	$Y=0.603X-0.0514$	0.9999	2.846~284.6
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	$Y=0.581X-0.0776$	0.9999	2.361~236.1
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	$Y=0.675X-0.0689$	0.9999	2.562~256.2

表 2 加样回收率试验结果($n=3$)

Tab. 2 The results of recovery experiments

成分 (component)	称样量 (weight)/ g	样品含量 (content)/ mg	加入量 (added amount)/ mg	测得量 (measured amount)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/ %	RSD/ %
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.2512	0.07001	0.03558	0.1063	102.0	101.9	0.35
	0.2535	0.07065	0.03558	0.1065	100.8		
	0.2505	0.06981	0.03558	0.1064	102.8		
	0.2523	0.07032	0.07116	0.1416	100.2	101.0	0.30
	0.2518	0.07018	0.07116	0.1420	101.9		
	0.2507	0.06987	0.07116	0.1423	100.8		
	0.2532	0.07057	0.10674	0.1776	100.3	101.0	0.21
	0.2513	0.07004	0.10674	0.1771	101.3		
绿原酸(chlorogenic acid)	0.2509	0.06993	0.10674	0.1781	101.3		
	0.2512	0.1632	0.0812	0.2457	101.6	101.7	0.33
	0.2535	0.1647	0.0812	0.2465	100.7		
	0.2505	0.1627	0.0812	0.2461	102.7		
	0.2523	0.1639	0.1624	0.3277	100.9	100.9	0.11
	0.2518	0.1636	0.1624	0.3279	101.2		
	0.2507	0.1629	0.1624	0.3262	100.6		
	0.2532	0.1645	0.2436	0.4041	98.4	99.6	0.51
隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	0.2513	0.1633	0.2436	0.4048	99.1		
	0.2509	0.1630	0.2436	0.4098	101.3		
	0.2512	0.1066	0.0564	0.1641	102.0	101.2	0.52
	0.2535	0.1076	0.0564	0.1653	102.3		
	0.2505	0.1063	0.0564	0.1624	99.5		
	0.2523	0.1071	0.1128	0.2191	99.3	100.3	0.31
	0.2518	0.1069	0.1128	0.2209	101.1		
	0.2507	0.1064	0.1128	0.2199	100.6		
	0.2532	0.1075	0.1692	0.2784	101.0	100.8	0.14
	0.2513	0.1067	0.1692	0.2765	100.4		
	0.2509	0.1065	0.1692	0.2776	101.1		

表 2(续)

成分 (component)	称样量 (weight)/ g	样品含量 (content)/ mg	加入量 (added amount)/ mg	测得量 (measured amount)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/ %	RSD/ %
洋蓟素(cynarin)	0.251 2	0.123 5	0.065 3	0.190 1	102.0	100.8	0.60
	0.253 5	0.124 6	0.065 3	0.189 1	98.8		
	0.250 5	0.123 1	0.065 3	0.189 5	101.7		
	0.252 3	0.124 0	0.130 6	0.255 6	100.8	100.7	0.27
	0.251 8	0.123 8	0.130 6	0.256 3	101.4		
	0.250 7	0.123 2	0.130 6	0.253 6	99.8		
	0.253 2	0.124 4	0.195 9	0.319 6	99.6	100.1	0.28
	0.251 3	0.123 5	0.195 9	0.318 5	99.5		
	0.250 9	0.123 3	0.195 9	0.321 2	101.0		
木犀草苷(galuteolin)	0.251 2	0.313 0	0.153 9	0.464 7	98.6	98.3	0.44
	0.253 5	0.315 8	0.153 9	0.464 9	96.9		
	0.250 5	0.312 1	0.153 9	0.465 1	99.4		
	0.252 3	0.314 3	0.307 8	0.623 4	100.4	99.7	0.30
	0.251 8	0.313 7	0.307 8	0.617 5	98.7		
	0.250 7	0.312 3	0.307 8	0.614 5	99.8		
	0.253 2	0.315 5	0.461 7	0.766 9	97.8	98.5	0.24
	0.251 3	0.313 1	0.461 7	0.768 7	98.7		
	0.250 9	0.312 6	0.461 7	0.770 5	99.2		
异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	0.251 2	0.185 9	0.091 6	0.276 8	99.2	100.5	0.39
	0.253 5	0.187 6	0.091 6	0.280 5	101.4		
	0.250 5	0.185 4	0.091 6	0.277 9	101.0		
	0.252 3	0.186 8	0.183 2	0.369 2	99.6	99.4	0.066
	0.251 8	0.186 4	0.183 2	0.368 6	99.4		
	0.250 7	0.185 6	0.183 2	0.367 3	99.2		
	0.253 2	0.187 4	0.274 8	0.467 4	101.9	101.4	0.64
	0.251 3	0.186 0	0.274 8	0.468 9	103.0		
	0.250 9	0.185 7	0.274 8	0.458 5	99.3		
异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	0.251 2	0.168 4	0.081 2	0.248 7	98.9	99.7	0.27
	0.253 5	0.169 9	0.081 2	0.250 8	99.6		
	0.250 5	0.167 9	0.081 2	0.249 5	100.5		
	0.252 3	0.169 1	0.162 4	0.333 4	101.2	100.8	0.16
	0.251 8	0.168 8	0.162 4	0.331 7	100.3		
	0.250 7	0.168 0	0.162 4	0.332 0	101.0		
	0.253 2	0.169 7	0.243 6	0.416 0	101.1	101.7	0.22
	0.251 3	0.168 4	0.243 6	0.415 7	101.5		
	0.250 9	0.168 2	0.243 6	0.417 6	102.4		
异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	0.251 2	0.286 7	0.145 6	0.433 8	101.0	101.7	0.30
	0.253 5	0.289 4	0.145 6	0.436 8	101.2		
	0.250 5	0.285 9	0.145 6	0.435 4	102.7		
	0.252 3	0.288 0	0.291 2	0.579 9	100.2	100.8	0.18
	0.251 8	0.287 4	0.291 2	0.582 1	101.2		
	0.250 7	0.286 2	0.291 2	0.580 6	101.1		
	0.253 2	0.289 0	0.436 8	0.728 5	100.6	100.8	0.31
	0.251 3	0.286 9	0.436 8	0.723 5	100.0		
	0.250 9	0.286 4	0.436 8	0.730 8	101.7		

表 3 山菊降压片中指标成分含量 ($n=2$)

Tab. 3 Content of index components in Shanjujiangya capsules

批号 (batch number)	含量(content)/(mg·g ⁻¹)							
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	洋茴素 (cynarin)	木犀草苷 (galuteolin)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)
220101	0.263	0.638	0.402	0.454	1.118	0.653	0.706	1.138
220103	0.279	0.650	0.424	0.492	1.246	0.740	0.670	1.142
220104	0.257	0.629	0.476	0.539	1.278	0.714	0.659	1.167

表 4 菊花及其提取液中指标成分含量 ($n=2$)

Tab. 4 Contents of index components in Chrysanthemi Flos and its extracting solution

样品名称 (sample name)	批号 (batch number)	含量(content)/(mg·g ⁻¹)							
		新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	洋茴素 (cynarin)	木犀草苷 (galuteolin)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)
菊花(Chrysanthemi Flos)	GJ-1	0.379	3.645	0.602	0.109	4.395	0.729	13.481	5.365
	GJ-2	0.392	3.804	0.617	0.123	4.296	0.756	13.142	5.884
	GJ-3	0.362	3.788	0.627	0.117	4.381	0.849	13.919	5.813
	GJ-4	0.373	3.947	0.645	0.11	4.553	0.895	13.473	6.093
	HJ-1	0.196	4.523	0.358	0.134	3.648	0.379	13.366	6.094
	HJ-2	0.251	4.125	0.482	0.185	3.592	0.631	13.128	6.207
	HJ-3	0.188	4.588	0.391	0.142	3.583	0.402	13.212	6.092
	HJ-4	0.156	4.054	0.421	0.153	3.628	0.486	13.967	6.153
提取液(extracting solution)	GJTQY-1	0.487	1.184	0.504	0.566	2.356	0.837	1.314	2.021
	GJTQY-2	0.495	1.315	0.452	0.548	2.619	0.827	1.382	2.259
	GJTQY-3	0.554	1.192	0.455	0.619	2.435	0.901	1.413	2.551
	GJ TQY-4	0.497	1.167	0.512	0.607	2.793	0.831	1.179	2.031
	HJTQY-1	0.531	1.921	0.59	0.569	2.337	0.469	0.803	2.37
	HJ TQY-2	0.409	1.255	0.485	0.622	2.401	0.804	1.509	2.225
	HJTQY-3	0.509	1.401	0.55	0.567	2.559	0.546	1.279	2.368
	HJTQY-4	0.598	1.32	0.517	0.615	2.232	0.687	1.435	2.087

2.6 山菊降压胶囊制备过程中指标成分量值传递关系研究

基于上述含量测定结果,按下式计算从饮片到提取液指标成分的转移率情况,结果见表 5。

$$\text{转移率(饮片} \rightarrow \text{提取液)} = \frac{\text{提取液中指标成分含量}}{\text{对应饮片中指标成分含量}} \times 100\%$$

式中,提取液是指“2.2.5”项下按照山菊降压胶囊工艺制备的含菊花和小茴药材的水煎煮提取样品溶液;指标成分包括新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋

茴素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 个成分。

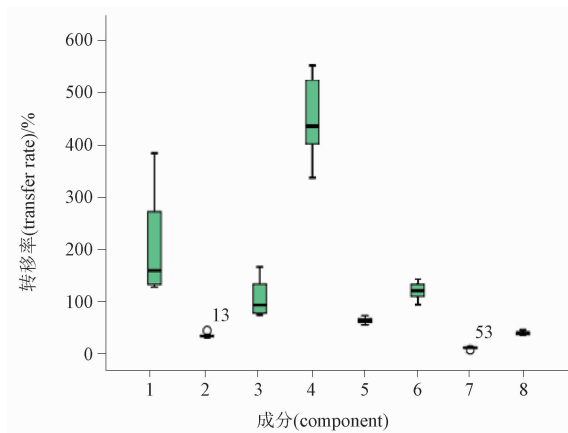
从含量测定及转移率的计算结果可看出,在提取液中各成分的含量高低与菊花饮片中对应成分的含量并未呈现一一对应关系:绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 在菊花饮片中含量较高;隐绿原酸在饮片和提取液中含量相当;而异绿原酸 B、新绿原酸、洋茴素在提取液中含量比饮片中原有含量都高,推断在煎煮过程中可能存在成分的转化。菊花饮片到提取液测定成分转移率箱式图见图 2,

表 5 饮片到提取液指标成分的转移率

Tab. 5 The transfer rate of index components from the decoction piece to the extracting solution

量值传递对应关系 (quantity transfer, correspondence)	转移率(transfer rate)/%							
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	洋蓟素 (cynarin)	木犀草苷 (galuteolin)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)
GJ-1→TQY1	128.5	32.5	83.7	519.3	53.6	114.8	9.7	37.7
GJ-2→TQY2	126.3	34.6	73.3	445.5	61.0	109.4	10.5	38.4
GJ-3→TQY3	153.0	31.5	72.6	529.1	55.6	106.1	10.2	43.9
GJ-4→TQY4	133.2	29.6	79.4	551.8	61.3	92.8	8.8	33.3
HUJ-1→TQY1	270.9	42.5	164.8	424.6	64.1	123.7	6.0	38.9
HUJ-2→TQY2	162.9	30.4	100.6	336.2	66.8	127.4	11.5	35.8
HUJ-3→TQY3	270.7	30.5	140.7	399.3	71.4	135.8	9.7	38.9
HUJ-4→TQY4	383.3	32.6	122.8	402.0	61.5	141.4	10.3	33.9
\bar{x}	203.6	33.0	104.7	451.0	61.9	118.9	9.6	37.6

从图中可明显看出,除新绿原酸外,各成分转移率的批间一致性较好。经过分析可知,新绿原酸从饮片到提取液不同批次样品间转移率相差较大是由不同来源饮片中原有新绿原酸含量差异较大引起的,并不说明此成分的传递规律不稳定。



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid)
3. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) 4. 洋蓟素 (cynarin) 5. 木犀草苷 (galuteolin) 6. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 7. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 8. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)

图 2 饮片到提取液测定成分转移率箱式图

Fig. 2 Box plot of component transfer rate from the decoction piece to the extracting solution

综上所述,对于中成药标准的制定,尤其是测定成分含量限度的制定,其依据不能仅限于药材中待

测成分含量的高低,必要时需对制备过程中化学成分的变化进行考察,为指标成分的选择及限度的制定提供合理依据。

3 讨论

3.1 指标成分的选择

2020年版《中华人民共和国药典》一部菊花药材质量控制指标为绿原酸、木犀草苷和异绿原酸 A,而预实验过程中发现,山菊降压胶囊中除含有上述 3 个成分外,还含有较高含量的其他酚酸类成分。查阅文献可知,中药中的化学成分在药材加工或中成药的生产过程中也会在物理、化学等因素的作用下发生化学反应和相互转化^[10-12],咖啡酰奎宁酸类成分在炮制前后成分的变化亦有相关报道^[13]。对菊花及其提取液中化学成分的相关研究发现,菊花药材在中成药的制备过程中,化学成分确实会发生相互转化,原本含量较高的绿原酸、异绿原酸 A 和异绿原酸 B,含量会有较大程度的降低,而含量较低的新绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素和异绿原酸 B,含量会有所增加,因此,本文以新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 个成分作为研究对象,建立含量测定方法,并进行相关分析。

3.2 色谱条件的优化

3.2.1 测定波长的选择 采用二极管阵列检测器在 200~400 nm 波长范围内对 8 个成分进行扫描,结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、

异绿原酸 A、异绿原酸 C 均在 328 nm 处有最大吸收；木犀草苷的最大吸收波长为 350 nm，但在 328 nm 处也有较强吸收，综合考虑，本实验选择 328 nm 作为检测波长。

3.2.2 色谱柱的选择 考察了 Boston Green ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 和资生堂 CAPELL PAC C₁₈ MGII (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱对 8 个待测成分的影响，以各成分与相邻色谱峰的分度度和峰形为指标，最终选择 Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱进行试验。

3.2.3 流动相的选择 分别考察了甲醇 - 0.1% 磷酸水、乙腈 - 0.1% 磷酸水、甲醇 - 乙腈 - 0.1% 磷酸水、乙腈 - 0.2% 磷酸水、乙腈 - 水 5 个流动相体系对各成分分离的影响，结果发现乙腈 - 0.1% 磷酸水的分离效果较好。

3.3 供试品溶液制备方法的选择

参考文献中相关成分的提取方法^[14-17]，考察了不同提取溶剂甲醇(不同体积分数 90%、70%、50%) 和乙醇(不同体积分数 90%、70%、50%)、不同提取方式(超声、回流)、不同提取时间(20、30、40、50、60 min) 及不同溶剂用量(25、50、100 mL) 对 8 个待测成分提取效率和色谱峰峰形的影响，结果显示甲醇提取较乙醇提取色谱峰峰形较好；超声和回流 2 种方式均能将待测成分有效提取，但超声提取操作简便，故作为本实验的提取方式；采用 70% 甲醇水溶液 25 mL 超声提取 30 min 时，8 个成分基本提取完全，各成分色谱峰峰形良好，故选择此条件作为供试品溶液制备方法。

3.4 结论

本实验建立 HPLC 法测定山菊降压胶囊中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 个成分的含量，方法简单易行，重复性好，稳定性好，准确度高；对菊花水煮前后测定成分的量值传递情况进行了分析，可为山菊降压胶囊含量测定方法的建立及限度的制定提供依据。中药组分或组分配比发生改变，其药性会受到影响，也可能使药效发生变化^[18]，所以有必要对中成药制备过程中化学成分的变化开展相关研究，为中药制备工艺的优化提供数据支持^[19-20]，更为中成药质量控制方法的建立提供依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020:292
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:292
- [2] 吴俊平, 陈淑敏, 杨光, 等. 基于 HPLC 多指标成分定量控制联合化学计量学的山菊降压胶囊质量评价研究[J]. 现代药物与临床, 2021, 36(10):2039
WU JP, CHEN SM, YANG G, *et al.* Study on quality evaluation of Shanju Jiangya capsules based on HPLC multi-index component quantitative control combined with stoichiometry [J]. Mod Med Clin, 2021, 36(10):2039
- [3] 赵倩, 黄维, 彭成, 等. 中药多维配伍探索及创新药物发现[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(6):3298
ZHAN Q, HUANG W, PENG C, *et al.* Exploration of multi-dimensional compatibility of traditional Chinese medicine and discovery of innovative drugs [J]. China J Tradit Chin Med, 2022, 37(6):3298
- [4] 吕玥, 汤湧, 李立言, 等. 中药复方制剂质量控制体系的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(1):170
LÜ Y, TANG Y, LI LY, *et al.* Research progress of quality control system of traditional Chinese medicine compound preparation [J]. Chin J Surg Integr Tradit West Med, 2020, 26(1):170
- [5] 邓启荣. 中药复方质量标准研究的主要策略分析[J]. 中国药物经济学, 2015, 10(S2):47
DENG QR. Analysis of the main strategies in the study of the quality standard of traditional Chinese medicine compound [J]. China Pharmacoecon, 2015, 10(S2):47
- [6] 张伟, 吴瑞, 常相伟, 等. 基于 HPLC 特征图谱结合化学计量学的菊花特征标志物的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(8):1289
ZHANG W, WU R, CHANG XW, *et al.* Study on characteristic markers of *Chrysanthemum* based on HPLC chromatogram combined with stoichiometry [J]. Nat Prod Res Dev, 2022, 34(8):1289
- [7] 王月茹, 谢伟. HPLC 法测定药用菊花中 10 个主要化学成分的含量[J]. 世界中医药, 2016, 11(12):2778
WANG YR, XIE W. Determination of 10 main chemical components in *Chrysanthemum* by HPLC [J]. World Tradit Chin Med, 2016, 11(12):2778
- [8] 宋程, 陈存武, 孙传伯, 等. 反相色谱法测定菊花中咖啡酸衍生物和黄酮类成分[J]. 中成药, 2020, 42(8):2084
SONG C, CHEN CW, SUN CB, *et al.* Determination of caffeic acid derivatives and flavonoids in *chrysanthemum* by reversed-phase chromatography [J]. China Tradit Pat Med, 2020, 42(8):2084
- [9] 汤珺, 袁铭铭, 周国平, 等. HPLC 法同时测定小儿感冒颗粒中 12 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(12):2179
TANG J, YUAN MM, ZHOU GP, *et al.* Simultaneous determination of twelve chemical compositions in Xiaoer Ganmao granules by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(12):2179

- [10] 杨利民,张永刚,林红梅,等. 中药材质量形成理论与控制技术研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2012,34(2):119
YANG LM, ZHANG YG, LIN HM, *et al.* Research progress on quality formation theory and control technology of Chinese medicinal materials [J]. *J Jilin Agric Univ*, 2012, 34(2):119
- [11] 赵小勤,许莉,李庆,等. 水煎煮条件下知母新芒果苷和芒果苷成分转化关系研究[J]. 中国药物评价,2022,39(4):304
ZHAO XQ, XU L, LI Q, *et al.* Study on the transformation relationship between nemangiferin and mangiferin components in decocted water [J]. *Chin J Pharm Eval*, 2022, 39(4):304
- [12] 王丽灵,庞会明,郑啸,等. 山萸肉炮制前后 11 种成分的变化[J]. 药物分析杂志,2016,36(4):624
WANG LL, PANG HM, ZHEN X, *et al.* Quantitative analysis of eleven active constituents in crude and processed *Cornus officinalis* [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(4):624
- [13] 张雪,郭东晓,崔伟亮,等. 金银花炮制前后咖啡酰奎宁酸类成分变化[J]. 中国药学杂志,2022,57(16):1337
ZHANG X, GUO DX, CUI WL, *et al.* Changes of caffiacyl quinone composition before and after processing of honeysuckle [J]. *Chin J Pharm*, 2022, 57(16):1337
- [14] 吴笛,郭纯. HPLC 法同时测定不同品种、产地、商品规格杭菊中 9 种成分[J]. 中成药,2021,43(5):1231
WU D, GUO C. Simultaneous determination of 9 components in different varieties, origin and commodity specifications of Hangju by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43(5):1231
- [15] 牛广东. 不同产地杭白菊中绿原酸、木樨草苷、异绿原酸含量分析[J]. 河南大学学报(医学版),2022,41(2):99
NIU GD. Analysis of chlorogenic acid, luteolin and isochlorogenic acid in chrysanthemum from different habitats [J]. *J Henan Univ (Med Ed)*, 2022, 41(2):99
- [16] 李辉,逯桃桃,陈佳,等. 金银花绿原酸提取方法研究[J]. 分析测试技术与仪器,2022,28(4):416
LI H, LU TT, CHEN J, *et al.* Study on extraction method of chlorogenic acid from Honeysuckle [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2022, 28(4):416
- [17] 朱帮会,李银,马雪,等. 高效液相色谱法同时测定醒脾养儿颗粒中 6 种咖啡酰奎宁酸类成分含量[J]. 中国药业,2022,31(19):59
ZHU BH, LI Y, MA X, *et al.* Simultaneous determination of six caffeoyl quinic acids in Xingpi Yang'er granules by high performance liquid chromatography [J]. *China Pharm*, 2022, 31(19):59
- [18] 王赛,谢逸轩,田硕,等. 中药组分-药性-药效关系探讨[J]. 中药药理与临床,2023,39(4):125
WANG S, XIE YX, TIAN S, *et al.* Study on the relationship between TCM components, drug properties and efficacy [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2023, 39(4):125
- [19] 王乃康. 中药制剂生产工艺存在的问题和对策探讨[J]. 内蒙古中医药,2022,41(6):122
WANG NK. Discussion on the problems and countermeasures of the production technology of traditional Chinese medicine [J]. *Inner Mongolia Tradit Chin Med*, 2022, 41(6):122
- [20] 刘涛,苟小军,郭晓恒,等. 基于中成药工艺与质量控制的再评价模式商建[J]. 中草药,2011,42(10):1873
LIU T, GOU XJ, GUO XH, *et al.* Construction of reevaluation model based on process and quality control of Chinese patent medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2011, 42(10):1873

(本文于 2023 年 8 月 10 日收到)