

HPLC 法测定化痔片和化痔胶囊中 6 个成分的含量

陈翠玲, 周津宁, 刘允, 韦日伟*

(梧州市食品药品检验所, 梧州 543000)

摘要 目的:建立高效液相色谱波长切换法测定化痔片和化痔胶囊中 6 个成分(芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基萹草素和大叶萹草素)的含量。**方法:**采用 Agilent ZORBAX SB - Aq 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈(A) - 0.1% 磷酸(B)为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 250 nm(0 ~ 20 min, 芦丁)、283 nm(20 ~ 37 min, 柚皮苷、新橙皮苷)、250 nm(37 ~ 60 min, 槲皮素、羟基萹草素、大叶萹草素)。**结果:**芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基萹草素和大叶萹草素的质量浓度分别在 37.26 ~ 1 863.20 μg · mL⁻¹、11.27 ~ 563.70 μg · mL⁻¹、9.58 ~ 479.04 μg · mL⁻¹、1.92 ~ 95.90 μg · mL⁻¹、0.52 ~ 25.83 μg · mL⁻¹和 0.90 ~ 45.10 μg · mL⁻¹与峰面积呈现良好的线性关系($r > 0.999 0$);化痔片中上述 6 个成分的平均加样回收率(RSD)($n = 6$)分别为 103.2% (1.4%)、99.5% (1.7%)、97.7% (1.2%)、95.2% (1.1%)、104.2% (1.2%)和 104.2% (0.80%);化痔胶囊中上述 6 个成分的平均加样回收率(RSD)($n = 6$)分别为 102.5% (1.3%)、96.9% (0.48%)、97.1% (1.1%)、96.9% (0.78%)、102.3% (1.4%)和 101.8% (1.2%)。17 批次化痔片和化痔胶囊中芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基萹草素和大叶萹草素的含量范围(平均值 ± 标准偏差)分别为 31.14 ~ 98.25(44.33 ± 15.65) mg · g⁻¹、5.12 ~ 20.85(12.96 ± 5.85) mg · g⁻¹、4.03 ~ 17.00(10.14 ± 5.17) mg · g⁻¹、0.63 ~ 7.17(1.97 ± 1.49) mg · g⁻¹、0.23 ~ 1.32(0.57 ± 0.28) mg · g⁻¹和 0.67 ~ 1.72(1.08 ± 0.29) mg · g⁻¹。**结论:**本研究所建立的方法可同时测定化痔片和化痔胶囊中 6 个主要活性成分的含量, 可为化痔片及化痔胶囊的质量控制提供参考。

关键词:化痔片;化痔胶囊;活性成分;芦丁;柚皮苷;新橙皮苷;槲皮素;羟基萹草素;大叶萹草素;高效液相色谱法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)12 - 2164 - 07

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0077

Simultaneous determination of six components in Huazhi tablets and Huazhi capsules by HPLC

CHEN Cui - ling, ZHOU Jin - ning, LIU Yun, WEI Ri - wei*

(Wuzhou Institute for Food and Drug Control, Wuzhou 543000, China)

Abstract Objective: To establish a method for the simultaneous determination of six components (rutin, naringin, neohesperidin, quercetin, purpurin and mollugin) in Huazhi tablets and Huazhi capsules by HPLC. **Methods:** The assay was performed on an Agilent ZORBAX SB - Aq (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) and the sample was eluted by mobile phase consisting of acetonitrile(A) - 0.1% phosphoric acid(B) with a gradient at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ and the column temperature was 30 °C. The detection wavelengths were set at 250 nm for

* 通信作者 Tel:(0774)3866932;E-mail:295130056@qq.com

第一作者 Tel:(0774)3866932;E-mail:269543253@qq.com

rutin during 0 – 20 min, 283 nm for naringin and neohesperidin during 20 – 37 min, and 250 nm for quercetin, purpurin and mollugin during 37 – 60 min. **Results:** Rutin, naringin, neohesperidin, quercetin, purpurin and mollugin exhibited good linearity ($r > 0.999 0$) in the ranges of $37.26 - 1\ 863.20\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $11.27 - 563.70\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $9.58 - 479.04\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $1.92 - 95.90\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.52 - 25.83\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $0.90 - 45.10\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The average recoveries of the above mentioned six components in Huazhi tablets ($n = 6$) were 103.2% (RSD = 1.4%), 99.5% (RSD = 1.7%), 97.7% (RSD = 1.2%), 95.2% (RSD = 1.1%), 104.2% (RSD = 1.2%) and 104.2% (RSD = 0.80%), respectively, and the average recoveries of the above mentioned six components in Huazhi capsules ($n = 6$) were 102.5% (RSD = 1.3%), 96.9% (RSD = 0.48%), 97.1% (RSD = 1.1%), 96.9% (RSD = 0.78%), 102.3% (RSD = 1.4%) and 101.8% (RSD = 1.2%), respectively. The content ranges (mean \pm SD) of rutin, naringin, neohesperidin, quercetin, purpurin and mollugin in the 17 batches of Huazhi tablets and Huazhi capsules were $31.14 - 98.25 (44.33 \pm 15.65)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $5.12 - 20.85 (12.96 \pm 5.85)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $4.03 - 17.00 (10.14 \pm 5.17)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.63 - 7.17 (1.97 \pm 1.49)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.23 - 1.32 (0.57 \pm 0.28)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $0.67 - 1.72 (1.08 \pm 0.29)\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively.

Conclusion: The established method can simultaneously determine six components in Huazhi tablets and Huazhi capsules and can provide a reference for the quality control of Huazhi tablets and Huazhi capsules.

Keywords: Huazhi tablets; Huazhi capsules; active ingredient; rutin; naringin; neohesperidin; quercetin; purpurin; mollugin; high performance liquid chromatography

化痔片及化痔胶囊均收录于国家药品标准中,二者处方相同,均由槐米、茜草、枳壳、三棱、三七5味中药组成,具有清热、凉血、止血、行气散瘀的作用,临床用于内痔、外痔、混合痔、内外痔血栓等痔疮的治疗^[1-3]。处方中槐米的主要活性成分是黄酮类化合物,其中芦丁、槲皮素均具备良好的止血作用^[4-5];茜草具有凉血,止血,祛瘀等功效,所含大叶茜草素为萘醌类有效成分,羟基茜草素为蒽醌类有效成分^[6-9];三七中含皂苷类、黄酮类、氨基酸等多个成分,其中人参皂苷类、三七皂苷类、三七素等成分具有活血、止血、止痛等功效^[10-12];枳壳临床上常用于胃下垂、脱肛、子宫脱垂等病症,新橙皮苷、柚皮苷等黄酮类成分是其活性成分之一^[13-16]。目前有关化痔片和化痔胶囊中组分含量测定的研究较少,马灵珍^[17-18]分别建立了化痔胶囊中柚皮苷和新橙皮苷、羟基茜草素和大叶茜草素的含量测定方法。胡晓莲等^[19]建立了UPLC法测定化痔片中3个皂苷成分的含量,另有文献报道了芦丁的含量测定方法^[20-22]。

化痔片及化痔胶囊为组方制剂,处方中的枳壳、茜草,市场上混伪品较多,现行标准含量测定项下仅测定芦丁1个成分,不能很好地控制该制剂的质量。本研究选择处方中槐米、茜草、枳壳的主要

活性成分作为检测指标,建立HPLC法同时测定芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素的含量,以期为健全该制剂质量控制方法提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1290 高效液相色谱仪,配置二极管阵列检测器(Agilent 公司);Agilent ZORBAX SB - Aq(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(Agilent 公司);XM-400ES型超声波清洗器(小美超声仪器有限公司);XS205DU 十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多公司);Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司)。

对照品芦丁(批号 100080 - 202012, 纯度 91.6%)、柚皮苷(批号 110722 - 202116, 纯度 93.5%)、新橙皮苷(批号 111857 - 202305, 纯度 99.6%)、槲皮素(批号 100081 - 201610, 纯度 99.1%)、羟基茜草素(批号 111898 - 202004, 纯度 98.8%)和大叶茜草素(批号 110884 - 202107, 纯度 99.5%)均购自中国食品药品检定研究院,乙腈和甲醇(色谱纯,赛默飞世尔公司),水为超纯水(自制),甲醇和磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

化痔片和化痔胶囊均为市售样品,12批化痔片来自5个生产厂家(厂家1:批号 20200601、20230203、20230404、20230911、20231001;厂家2:批

号 20230401、20230603、20240101、20240102; 厂家 3: 批号 20220824; 厂家 4: 批号 221202; 厂家 5: 批号 230301, 样品编号 S1 ~ S12), 5 批化痔胶囊来自 1 个生产厂家(批号 210112、211030、221005、2304171、2306011, 样品编号 S13 ~ S17)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 取对照品芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素适量, 精密称量, 加甲醇制成每 1 mL 含芦丁 0.4 mg、柚皮苷 0.1 mg、新橙皮苷 0.1 mg、槲皮素 20 μg 、羟基茜草素 5 μg 、大叶茜草素 10 μg 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 取样品粉末(片剂除去包衣, 研细; 胶囊剂取内容物)各约 0.25 g, 精密称量, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称量, 超声(300 W, 40 kHz)提取 30 min, 放置至室温, 再称量, 用甲醇补足缺失的量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.1.3 阴性样品溶液 分别按片剂和胶囊剂的处方工艺和比例, 分别制成缺槐米、缺茜草、缺枳实的阴性样品, 按“2.1.2”项下方法, 制备各阴性样品溶液。

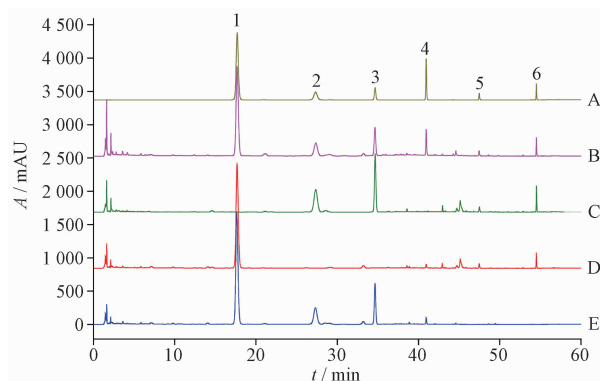
2.2 色谱条件

采用 Agilent ZORBAX SB - Aq (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相 A, 以 0.1% 磷酸溶液为流动相 B, 梯度洗脱(0 ~ 30 min, 14% A \rightarrow 15% A; 30 ~ 40 min, 15% A \rightarrow 32% A; 40 ~ 52 min, 32% A \rightarrow 62% A; 52 ~ 55 min, 62% A \rightarrow 93% A; 55 ~ 60 min, 93% A), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 mL \cdot min $^{-1}$, 进样体积 5 μL , 检测波长为 250 nm (0 ~ 20 min 时, 检测芦丁)、283 nm (20 ~ 37 min 时, 检测柚皮苷、新橙皮苷)、250 nm (37 ~ 60 min 时, 检测槲皮素、羟基茜草素、大叶茜草素)。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取混合对照品溶液、供试品溶液、各阴性样品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 结果见图 1、2。由此可知, 供试品溶液、混合对照品溶液中各成分色谱峰保留时间一致, 各待测成分峰与相邻峰分离度均 > 1.5 , 片剂与胶囊剂阴性样品均无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.3.2 线性关系、检测限、定量限考察 分别取对照品芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和

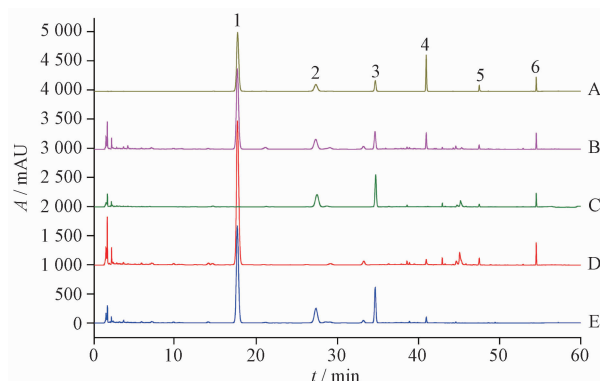


1. 芦丁(rutin) 2. 柚皮苷(naringin) 3. 新橙皮苷(neohesperidin) 4. 槲皮素(queretin) 5. 羟基茜草素(purpurin) 6. 大叶茜草素(mollugin)

A. 混合对照品(mixed reference substances) B. 化痔片样品(samples of Huazhi tablets) C. 缺槐花(槐米)阴性样品(negative sample without Flos Sophorae Immaturus) D. 缺枳实阴性样品(negative sample without Aurantii Fructus Immaturus) E. 缺茜草阴性样品(negative sample without Rubiae Radix Et Rhizoma)

图 1 化痔片专属性色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms for specificity test of Huazhi tablets



1 ~ 6. 同图 1 (same as Fig. 1)

A, C ~ E. 同图 1 (same as Fig. 1) B. 化痔胶囊样品(samples of Huazhi capsules)

图 2 化痔胶囊专属性色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms for specificity test of Huazhi capsules

大叶茜草素适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 9.316、1.879、1.996、0.959、0.861、0.902 mg \cdot mL $^{-1}$ 的单一对照品储备液。分别精密吸取各对照品储备液适量, 用甲醇制成质量浓度分别为 1.863.20、563.70、479.04、95.90、25.83、45.10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品储备液。精密吸取混合对照品储备液 0.2、0.4、1、2、4、6、8、10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 得 8 个系列浓度溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定。以各成分的峰

面积 Y 为纵坐标, 对应的浓度 X 为横坐标, 进行线性回归, 结果见表 1, 可见 6 个成分在各自浓度范围内线性关系良好。另取混合对照品储备液适量, 用甲

醇逐级稀释, 按“2.2”项下色谱条件测定, 以 3 倍信噪比对应的质量浓度作为检测限, 以 10 倍信噪比对应的质量浓度作为定量限, 结果见表 1。

表 1 6 个成分的线性方程、线性范围、检测限和定量限

Tab. 1 Linear equation, linear range, LOD and LOQ of six components

成分 (component)	线性方程 (linear equation)	r	线性范围 (linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
芦丁 (rutin)	$Y = 52.11X - 20.30$	0.999 3	37.26 ~ 1 863.20	0.25	0.83
柚皮苷 (naringin)	$Y = 30.71X - 56.15$	0.999 9	11.27 ~ 563.70	0.37	1.22
新橙皮苷 (neohesperidin)	$Y = 24.19X - 35.08$	0.999 9	9.58 ~ 479.04	0.17	0.57
槲皮素 (quercetin)	$Y = 223.27X + 13.42$	0.999 6	1.92 ~ 95.90	0.05	0.16
羟基茜草素 (purpurin)	$Y = 134.75X - 11.70$	0.999 9	0.52 ~ 25.83	0.02	0.08
大叶茜草素 (mollugin)	$Y = 120.77X - 33.72$	0.999 9	0.90 ~ 45.10	0.03	0.09

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.3.2”项的混合对照品储备液, 用甲醇稀释 5 倍, 按“2.2”项下色谱条件进样 6 次, 记录峰面积。结果芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素色谱峰面积的 RSD ($n = 6$) 分别为 0.13%、0.20%、0.10%、0.13%、0.74% 和 0.14%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取化痔片 S1 和化痔胶囊 S13 供试品溶液, 分别于 1、2、4、6、12、24 h 进样测定。结果化痔片中芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素峰面积的 RSD ($n = 6$) 分别为 0.46%、1.3%、0.45%、0.58%、0.47% 和 0.66%; 化痔胶囊中 6 个成分峰面积的 RSD ($n = 6$) 分别为 0.49%、0.47%、1.5%、0.72%、0.33% 和 0.51%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 按照“2.1.2”项下方法分别制备 6 份化痔片 S1 供试品溶液和 6 份化痔胶囊 S13 供试品溶液, 在“2.2”项色谱条件下进样测定。结果化痔片中 6 个成分芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素的平均含量 ($n = 6$) 分别为 40.69、8.67、8.12、2.27、0.24、0.86 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.9%、1.6%、1.8%、1.4%、2.0% 和 0.60%; 化痔胶囊中上述 6 个成分的平均含量 ($n = 6$) 分别为 40.87、7.44、5.71、1.55、0.22、0.79 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.6%、1.2%、1.1%、1.1%、1.3% 和 1.4%, 表明该方法的重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已知含量的化痔片 S1

和化痔胶囊 S13 样品的粉末各 6 份, 每份约 0.125 g, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素对照品溶液适量, 按照“2.1.2”项下方法制备供试溶液, 进样分析, 计算回收率, 结果见表 2。

2.4 样品含量测定

取 12 批化痔片及 5 批化痔胶囊样品, 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, 以外标法计算芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素的含量, 结果见表 3。

3 讨论

3.1 提取条件的选择

6 个成分在甲醇中的溶解性较好, 故采用甲醇作为提取溶剂; 考察超声和回流 2 种提取方式的提取效率, 结果回流 30 min 与超声 30 min 提取效果接近; 在超声提取条件下考察溶剂体积 (25、50 mL), 发现 25 mL 时各成分基本提取完全。因此采用甲醇溶液 25 mL, 超声 30 min 的提取方式, 简单又能达到较好的提取效果。

3.2 色谱条件的选择

3.2.1 检测波长的确定 由于所测 6 个成分为 2 类不同类型的化合物 (组 1: 芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素为黄酮类; 组 2: 羟基茜草素、大叶茜草素为蒽醌类), 各成分之间紫外最大吸收波长差别较大, 需要在不同吸收波长下进行测定。本实验采用 DAD 检测器采集各成分在 190 ~ 400 nm 波长范围内的光谱

表 2 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab. 2 Results of recovery test

成分 (component)	化痔片(Huazhi tablets)						化痔胶囊(Huazhi capsules)					
	含量 (content)/ mg	加入量 (added)/ mg	测得量 (measured)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %	含量 (content)/ mg	加入量 (added)/ mg	测得量 (measured)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
	芦丁(rutin)	5.257 1	5.209 3	10.627 2	103.1	103.2	1.4	5.277 5	5.209 3	10.592 3	102.0	102.5
	5.253 1	5.209 3	10.697 8	104.5			5.269 4	5.209 3	10.558 4	101.5		
	5.240 9	5.209 3	10.644 8	103.7			5.281 6	5.209 3	10.518 7	100.5		
	5.224 6	5.209 3	10.468 2	100.7			5.285 6	5.209 3	10.700 4	103.9		
	5.232 7	5.209 3	10.682 1	104.6			5.285 6	5.209 3	10.690 9	103.8		
	5.220 5	5.209 3	10.567 3	102.6			5.236 8	5.209 3	10.611 5	103.2		
柚皮苷 (naringin)	1.120 2	1.063 6	2.187 9	100.4	99.5	1.7	0.965 0	0.904 0	1.838 5	96.6	96.9	0.48
	1.119 3	1.063 6	2.153 9	97.3			0.963 5	0.904 0	1.837 5	96.7		
	1.116 7	1.063 6	2.188 0	100.7			0.965 7	0.904 0	1.848 1	97.6		
	1.113 2	1.063 6	2.152 4	97.7			0.966 5	0.904 0	1.845 5	97.2		
	1.115 0	1.063 6	2.192 0	101.3			0.966 5	0.904 0	1.843 4	97.0		
	1.112 4	1.063 6	2.170 1	99.4			0.957 5	0.904 0	1.828 0	96.3		
新橙皮苷 (neohesperidin)	1.049 1	1.088 2	2.106 1	97.1	97.7	1.2	0.740 6	0.680 1	1.404 3	97.6	97.1	1.1
	1.048 3	1.088 2	2.120 0	98.5			0.739 4	0.680 1	1.401 8	97.4		
	1.045 9	1.088 2	2.104 3	97.3			0.741 2	0.680 1	1.406 5	97.8		
	1.042 6	1.088 2	2.088 9	96.1			0.741 7	0.680 1	1.395 0	96.1		
	1.044 2	1.088 2	2.128 0	99.6			0.741 7	0.680 1	1.391 8	95.6		
	1.041 8	1.088 2	2.106 0	97.8			0.734 9	0.680 1	1.403 6	98.3		
槲皮素 (quercetin)	0.293 3	0.350 3	0.627 4	95.4	95.2	1.1	0.201 0	0.200 2	0.392 3	95.6	96.9	0.78
	0.293 1	0.350 3	0.629 3	96.0			0.200 7	0.200 2	0.395 0	97.1		
	0.292 4	0.350 3	0.625 4	95.1			0.201 2	0.200 2	0.395 3	97.0		
	0.291 5	0.350 3	0.619 4	93.6			0.201 3	0.200 2	0.397 2	97.9		
	0.291 9	0.350 3	0.629 7	96.4			0.201 3	0.200 2	0.395 6	97.1		
	0.291 2	0.350 3	0.622 6	94.6			0.199 5	0.200 2	0.392 8	96.6		
羟基茜草素 (purpurin)	0.031 0	0.023 5	0.055 1	102.6	104.2	1.2	0.028 5	0.022 2	0.051 5	103.6	102.3	1.4
	0.031 0	0.023 5	0.055 1	102.6			0.028 5	0.022 2	0.051 4	103.2		
	0.030 9	0.023 5	0.055 5	104.7			0.028 6	0.022 2	0.051 4	102.7		
	0.030 8	0.023 5	0.055 4	104.7			0.028 6	0.022 2	0.051 0	100.9		
	0.030 9	0.023 5	0.055 7	105.5			0.028 6	0.022 2	0.050 8	100.0		
	0.030 8	0.023 5	0.055 5	105.1			0.028 3	0.022 2	0.051 2	103.2		
大叶茜草素 (mollugin)	0.111 1	0.113 2	0.227 4	102.7	104.2	0.80	0.102 5	0.087 1	0.191 1	101.7	101.8	1.2
	0.111 0	0.113 2	0.229 0	104.2			0.102 3	0.087 1	0.189 1	99.7		
	0.110 8	0.113 2	0.228 6	104.1			0.102 5	0.087 1	0.191 8	102.5		
	0.110 4	0.113 2	0.228 7	104.5			0.102 6	0.087 1	0.192 6	103.3		
	0.110 6	0.113 2	0.229 3	104.9			0.102 6	0.087 1	0.191 5	102.1		
	0.110 3	0.113 2	0.229 2	105.0			0.101 7	0.087 1	0.190 2	101.6		

图,发现芦丁、槲皮素、羟基茜草素、大叶茜草在 250 nm 处均有较强的紫外吸收,故选择 250 nm 作为检测波长同时检测以上 4 个成分;柚皮苷、新橙皮苷

在 283 nm 处均有较强的紫外吸收,故选择 283 nm 作为二者的检测波长。

3.2.2 流动相的考察 本研究考察了不同比例的

表3 样品含量测定结果($n=2$)
Tab. 3 The results of sample determination

编号 (No.)	含量(content)/(mg·g ⁻¹)					
	芦丁 (rutin)	柚皮苷 (naringin)	新橙皮苷 (neohesperidin)	槲皮素 (quercetin)	羟基茜草素 (purpurin)	大叶茜草素 (mollugin)
S1	41.02	8.69	8.14	2.26	0.24	0.86
S2	41.54	8.40	8.27	1.48	0.96	0.76
S3	39.10	9.45	8.40	1.08	0.77	1.07
S4	38.66	5.35	4.25	2.03	0.66	1.16
S5	35.50	5.12	4.18	1.71	0.64	1.08
S6	42.03	9.65	9.30	1.92	0.52	0.91
S7	31.14	17.16	16.06	1.92	0.33	0.96
S8	41.47	16.61	13.61	2.79	0.51	1.58
S9	44.91	18.10	16.82	1.48	0.54	1.72
S10	58.96	20.84	17.00	2.53	0.62	0.87
S11	51.87	17.09	13.12	2.45	1.32	1.16
S12	98.25	20.85	16.72	7.17	0.75	1.23
S13	40.67	7.52	5.69	1.53	0.23	0.80
S14	31.48	5.23	4.10	0.63	0.23	0.82
S15	37.26	12.28	5.91	0.79	0.32	0.67
S16	31.84	20.63	4.03	0.77	0.50	1.22
S17	47.90	17.34	16.76	1.01	0.54	1.41
平均值(mean)	44.33	12.96	10.14	1.97	0.57	1.08
标准偏差(SD)	15.65	5.85	5.17	1.49	0.28	0.29

乙腈-磷酸水溶液和乙腈-醋酸水溶液作为流动相体系,结果显示采用乙腈-0.1%磷酸水溶液时,待测成分的分离度和峰形较好。由于6个待测成分极性跨度较大,采用等度洗脱无法对所有化合物进行分离,故采用梯度洗脱方式,6个成分在60 min内获得较好的分离。考察了Symmetry Shield AQ-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)、Agilent ZORBAX SB-Aq色谱柱(150 mm×4.6 mm,3.5 μm)和YMC Hydrosphere C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)对各成分色谱峰分离度的影响,结果发现Agilent ZORBAX SB-Aq色谱柱分离效果最好,在该系统下6个成分得到较好的保留和分离。

3.3 小结

本研究建立的HPLC法可同时测定化痔片和化痔胶囊中6个主要活性成分的含量,方法简便、准确且重复性好。从含量测定结果来看,6个成分的含量波动范围较大,可能与中药材来源广泛、制药设备与制备工艺的差异等有关。所测芦丁、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素、羟基茜草素和大叶茜草素为处方中槐

米、枳壳、茜草3种药材的主要活性成分,能较全面地反映该制剂的质量。同时在一定程度上,可通过这6个成分的含量,排除制剂中易混淆药材枳壳和茜草的投料风险,排除用药安全风险,为化痔片及化痔胶囊的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 卫生部颁药品标准. 中药成方制剂. 第十五册[S]. 1998: 39
Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health. Prescription of Chinese Patent Medicine. Vol 15[S]. 1998: 39
- [2] 国家药品标准: 新药转正标准中药. 第八十六册[S]. 2009: 30
National Drug Standards; New Drug Conversion Standard Chinese Medicine. Vol 86[S]. 2009: 30
- [3] 王秋菊, 吕娟, 盛丽, 等. 化痔片的抗炎镇痛及抗直肠溃疡作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 60
WANG QJ, LÜ J, SHENG L, et al. Anti-inflammatory, analgesic and relieving rectal ulceration effects of the eliminating hemorrhoids tablet[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2009, 15(4): 60
- [4] 张艳丽, 符华林, 卢朝成, 等. 内部沸腾法提取槐米中的芦丁及其动力学和热力学研究[J]. 中成药, 2015, 37(4): 895

- ZHANG YL, FU HL, LU CC, *et al.* Study on the kinetics and thermodynamics of extracting rutin from Flos Sophorae Immaturus by internal boiling[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2015, 37(4): 895
- [5] 胡明月, 梁艳, 王丽, 等. 槐米化学成分与药理作用研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2021, 37(12): 2141
- HU MY, LIANG Y, WANG L, *et al.* Research progress on the chemical composition and pharmacological effects of Flos Sophorae Immaturus[J]. *J Pract Tradit Chin Med*, 2021, 37(12): 2141
- [6] 杨宇婷, 康文艺. HPLC 法测定茜草及不同炮制品中大叶茜草素[J]. *中成药*, 2011, 33(12): 2125
- YANG YT, KANG WY. Determination of rubimaillin contents in *Rubia Cordifolia* L. and different processed products by HPLC[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2011, 33(12): 2125
- [7] 王锐, 曹赢, 王知斌. “一测多评”法测定茜草中 3 种有效成分百分含量[J]. *哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*, 2016, 32(4): 426
- WANG R, CAO Y, WANG ZB. Determination of three active ingredients in Radix Rubiae by quantitative analysis of multi-components with single-marker[J]. *J Harbin Univ Com(Nat Sci Ed)*, 2016, 32(4): 426
- [8] 李海峰, 肖凌云, 张菊, 等. 茜草化学成分及其药理作用研究进展[J]. *中药材*, 2016, 39(6): 1433
- LI HF, XIAO LY, ZHANG J, *et al.* Research progress on the chemical components and pharmacological effects of *Rubia cordifolia*[J]. *J Chin Med Mater*, 2016, 39(6): 1433
- [9] 陈毅, 王海丽, 薛露, 等. 茜草的研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(13): 2771
- CHEN Y, WANG HL, XUE L, *et al.* Research progress on Rubiae Radix et Rhizoma[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2017, 48(13): 2771
- [10] 刘耀晨, 张铁军, 郭海彪, 等. 三七的研究进展及质量标志物预测分析[J]. *中草药*, 2021, 52(9): 2733
- LIU YC, ZHANG TJ, GUO HB, *et al.* Research progress on Notoginseng Radix et Rhizoma and predictive analysis on its Q-marker[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(9): 2733
- [11] 黄依丹, 成嘉欣, 石颖, 等. 近五年三七化学成分、色谱分析、三七提取物和药理活性的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(10): 2584
- HUANG YD, CHENG JX, SHI Y, *et al.* *Panax notoginseng*: a review on chemical components, chromatographic analysis, *P. notoginseng* extracts, and pharmacology in recent five years[J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(10): 2584
- [12] 石礼平, 张国壮, 刘丛盛, 等. 三七化学成分和药理学作用研究概况及质量标志物的预测[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(8): 2059
- SHI LP, ZHANG GZ, LIU CS, *et al.* Research summary of chemical constituents and pharmacological effects of *Panax notoginseng* and predictive analysis on its Q-markers[J]. *China J Chin Mater Med*, 2023, 48(8): 2059
- [13] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 257
- ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 257
- [14] 张金莲, 曾昭君, 李志强, 等. HPLC 法测定枳壳不同炮制品中活性成分[J]. *中成药*, 2014, 36(11): 2355
- ZHANG JL, ZENG ZJ, LI ZQ, *et al.* Determination of active constituents from processed Aurantii Fructus by HPLC[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2014, 36(11): 2355
- [15] 何英杰, 刘东波, 唐其. 酸橙类中药材枳实和枳壳化学成分研究进展[J]. *中药材*, 2017, 40(6): 1488
- HE YJ, LIU DB, TANG Q. Research progress on chemical constituents of Fructus Aurantii and Fructus Aurantii in Chinese medicinal materials[J]. *J Chin Med Mater*, 2017, 40(6): 1488
- [16] 屈彬清, 刘隆基, 杨婧潇, 等. UPLC 法结合灰色关联度分析及化学计量学评价不同产地枳壳质量[J]. *中成药*, 2023, 45(11): 3663
- QU BQ, LIU LJ, YANG JX, *et al.* Quality evaluation of Aurantii Fructus from different regions by UPLC combined with grey correlation analysis and chemometrics[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(11): 3663
- [17] 马灵珍. HPLC 法同时测定化痔胶囊中柚皮苷、新橙皮苷的含量[J]. *安徽科技学院学报*, 2015, 29(5): 20
- MA LZ. HPLC method for simultaneous determination in the content of naringin and hesperidin of hemorrhoids capsule[J]. *J Anhui Sci Technol Univ*, 2015, 29(5): 20
- [18] 马灵珍. 化痔胶囊生产工艺优化和质量研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(6): 49
- MA LZ. Hemorrhoids capsule production process optimization and quality study[J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2016, 18(6): 49
- [19] 胡晓莲, 熊跃. UPLC 法测定化痔片中 3 种皂苷成分含量[J]. *药品评价*, 2017, 14(18): 28
- HU XL, XIONG Y. Determination of three saponins content in Huazhi tablet by UPLC[J]. *Drug Eval*, 2017, 14(18): 28
- [20] 徐晶, 杨洪武. 高效液相色谱法测定化痔胶囊中芦丁的含量[J]. *中国民族民间医药*, 2008(3): 46
- XU J, YANG HW. Determination of rutin in Huazhi capsule by HPLC[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2008(3): 46
- [21] 莫少红, 唐弟光, 陈晓军, 等. 化痔片质量标准研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(4): 150
- MO SH, TANG DG, CHEN XJ, *et al.* Study on quality standards for Huazhi tablets[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2013, 19(4): 150
- [22] 姚闯, 赖娟华, 胡蓉, 等. 化痔片的质量标准研究[J]. *中国药房*, 2014, 25(15): 1406
- YAO M, LAI JH, HU R, *et al.* Quality standard of Huazhi tablets[J]. *China Pharm*, 2014, 25(15): 1406

(本文于 2024 年 2 月 2 日收到)