

HPLC-DAD 法测定肠胃舒胶囊中木香烯内酯、去氢木香内酯、没食子酸和血竭素

武蕊, 崔艳华, 黄牧坤, 李明杰*

三二〇一医院 药学部, 陕西 汉中 723000

摘要: 目的 采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法测定肠胃舒胶囊中木香烯内酯、去氢木香内酯、没食子酸和血竭素。方法 采用 Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); DAD; 流动相: 乙腈-0.2%磷酸溶液, 梯度洗脱; 检测波长: 木香烯内酯(225 nm)、去氢木香内酯(225 nm)、没食子酸(272 nm)、血竭素(440 nm); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样体积 10 μL。结果 木香烯内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素分别在 0.999~99.900、0.995~99.500、0.275~27.500、0.250~25.000 μg/mL 线性良好, 平均回收率分别为 99.2%、99.5%、99.1%、99.9%, RSD 值分别为 1.1%、1.6%、1.3%、1.7%。结论 本法具有简便、准确等特点, 可以用于肠胃舒胶囊的质量控制。

关键词: 肠胃舒胶囊; 木香烯内酯; 去氢木香内酯; 没食子酸; 血竭素; HPLC-DAD

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)04-0746-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.04.010

Determination of auckland lactone, dehydrocarbactone, gallic acid, and draconisin in Changweishu Capsules by HPLC-DAD

WU Rui, CUI Yan-hua, HUANG Mu-kun, LI Ming-jie

Department of Pharmacy, 3201 Hospital, Hanzhong 723000, China

Abstract: Objective To establish an HPLC-DAD method for determination of auckland lactone, dehydrocarbactone, gallic acid, and draconisin in Changweishu Capsules. **Methods** Waters Sunfire C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile - 0.2% phosphoric acid solution as the mobile phase by gradient elution. DAD detector was used for quantitative detection. The detection wavelength were 225 nm (auckland lactone), 225 nm (dehydrocarbactone), 272 nm (gallic acid), and 440 nm (draconisin). The flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linearity of lignan lactone, dehydrocarbactone, gallic acid and draconisin were good in the range of 0.999 — 99.900 μg/mL, 0.995 — 99.500 μg/mL, 0.275 — 27.500 μg/mL, and 0.250 — 25.000 μg/mL. The average recoveries were 99.2%, 99.5%, 99.1% and 99.9%, with RSD 2.4%, 1.6%, 2.1%, and 1.8%, respectively. **Conclusion** The method is simple and accurate, which can be used for the quality control of Changweishu Capsules.

Key words: Changweishu Capsules; auckland lactone; dehydrocarbactone; gallic acid; draconisin; HPLC-DAD

肠胃舒胶囊系由蜘蛛香、草果、紫地榆、草血竭、木香 5 味中药经粉碎、回流提取、浓缩、制粒、干燥等步骤加工制成的中药胶囊剂, 具有清热燥湿、理气止痛、止痢止血的功效, 临床常用于治疗湿热蕴结所致的食少纳呆、脘腹疼痛等病症^[1-4]。肠胃舒胶囊执行标准收载于《国家中成药标准汇编(中成药地方标准上升国家标准部分)》^[5], 其质量标准中只有性状、鉴别和检查项, 缺少含量测定项,

因此该标准不能较好地控制产品的质量。现阶段, 湿热病患者在全球范围内逐年增加, 因此肠胃舒胶囊的临床使用量也越来越多, 为确保患者的用药安全, 有必要提高肠胃舒胶囊产品的质量水平。因此本实验参考相关文献报道^[6-9], 采用 HPLC-DAD 法同时测定肠胃舒胶囊中木香烯内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素 4 种成分, 用于肠胃舒胶囊的质量控制。

收稿日期: 2022-01-27

作者简介: 武蕊(1984—), 女, 陕西岐山人, 主管药师, 本科, 研究方向为医院药学。E-mail: wu1221rui@163.com

*通信作者: 李明杰 E-mail: ye252581551488@163.com

1 仪器与试药

Waters 2695 型主机, 2998 型 DAD 检测器, 包括在线脱气机、自动进样器、EMPOWER 色谱工作站 (美国沃特世科技公司); 梅特勒 XS 205 型电子天平 (十万分之一, 瑞士梅特勒公司); Milli-q Academic 型超纯水仪 (美国密理博公司); CD-E30 型超声仪[亦为超声技术 (深圳) 有限公司]。

木香烃内酯 (批号 111524-201911, 质量分数以 99.9% 计)、去氢木香内酯 (批号 111525-201912, 质量分数以 99.5% 计)、没食子酸 (批号 110831-201906, 质量分数以 91.5% 计)、血竭素 (批号 110811-201707, 质量分数以 96.3% 计) 对照品均购于中国食品药品检定研究院; 肠胃舒胶囊 (云南优克制药公司, 规格 0.4 g/粒, 批号 210705、210822、210915); 乙腈、甲醇 (色谱纯) 购自美国 Fluka 公司; 磷酸盐 (分析纯) 购自国药集团上海化学试剂厂; 纯化水 (自制); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); Waters 二极管阵列检测器 (DAD, 波长精度 0.01 nm, 测定范围 190~760 nm); 流动相: 乙腈 (A) - 0.2% 磷酸溶液 (B), 梯度洗脱, 0~3 min, 7% A; 3~8 min, 7%~15% A; 8~11 min, 15%~46% A; 11~15 min, 46%~55% A; 15~24 min, 55%~82% A; 24~29 min, 82% A; 29~30 min, 7% A; 检测波长: 木香烃内酯 (225 nm)、去氢木香内酯 (225 nm)、没食子酸 (272 nm)、血竭素 (440 nm); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样体积 10 μL。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品储备溶液的制备 取木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素对照品适量, 加 50% 甲醇分别制备含木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素 999、995、274.5、250.3 μg/mL 的各对照品储备溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取对照品储备溶液, 分别精密移取 1.0 mL, 置同一个 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取肠胃舒胶囊 10 粒, 除去胶囊壳, 内容物研细, 取约 1.0 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇约 35 mL, 超声提取 20 min (超声功率 200 W、频率 55 kHz), 取出放

冷, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 0.22 μm 滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性供试品溶液的制备 按肠胃舒胶囊处方中药材配比比例和制备方法分别制备不含木香、紫地榆和草血竭的阴性供试品, 按供试品溶液的制备方法操作, 即得。

2.3 专属性考察

取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液, 依次进样 10 μL, 结果在供试品溶液谱图中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素色谱峰保留时间与对照品溶液一致; 在阴性供试品溶液中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素色谱峰对应位置无干扰峰。色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察

取木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素对照品储备溶液, 分别精密移取 10、50、100、500、1 000 μL, 分别置 5 个 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得 4 种待测物标准曲线系列溶液。待基线稳定后, 依次进样 10 μL, 采集色谱图。以谱图中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素的峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 结果见表 1。

2.5 精密度试验

取对照品溶液, 待基线稳定后, 进样 10 μL, 连续进样 6 次, 结果木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素峰面积的 RSD 值分别为 1.5%、1.1%、1.4%、1.2%。

2.6 重复性试验

取批号 210705 肠胃舒胶囊样品制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 待基线稳定后, 分别进样 10 μL, 采集色谱图。根据谱图中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素峰面积计算质量分数。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素质量分数的 RSD 值分别为 2.4%、1.6%、2.1%、1.8%。

2.7 稳定性试验

取批号 210705 肠胃舒胶囊样品, 制备供试品溶液, 放置 0、3、6、9、12、18、24 h 后分别取样, 依次进样 10 μL, 采集色谱图。根据谱图中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素峰面积计算 RSD 值, 分别为 1.2%、1.6%、1.8%、1.3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

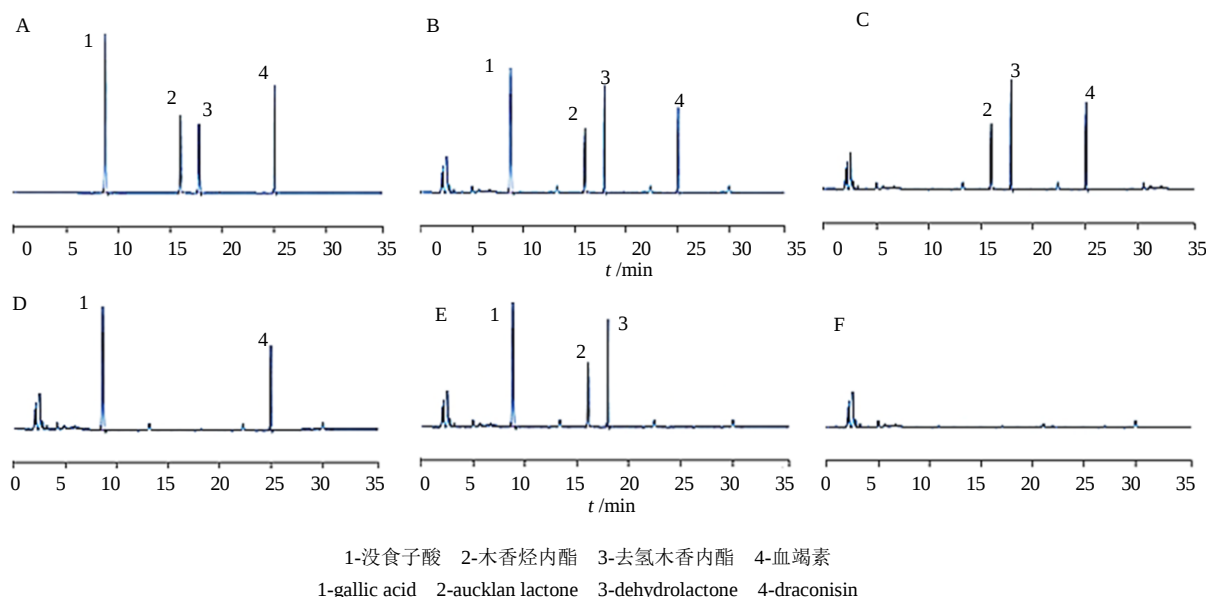


图 1 对照品 (A)、肠胃舒胶囊 (B)、缺紫地榆的阴性样品 (C)、缺木香的阴性样品 (D)、缺草血竭的阴性样品 (E) 和缺紫地榆、木香和草血竭的阴性样品 (F) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), Changweishu Capsules (B), negative sample without *Geranium strictipes* (C), negative sample without *Aucklandiae Radix* (D), negative sample without *Polygonum paleaceum* (E), and negative sample without *Geranium strictipes*, *Aucklandiae Radix*, and *Polygonum paleaceum* (F)

表 1 标准曲线方程和线性范围

Table 1 Curve equation and linear range

成分	标准曲线方程	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
木香烃内酯	$Y=26.24 X+11.32$	0.999 4	0.999~99.900
去氢木香内酯	$Y=13.39 X+24.77$	0.999 2	0.995~99.500
没食子酸	$Y=12.62 X+10.68$	0.999 1	0.275~27.500
血竭素	$Y=19.75 X+11.59$	0.999 6	0.250~25.000

2.8 回收率试验

取批号 210705 肠胃舒胶囊 10 粒, 除去胶囊壳, 内容物研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 平行称取 6 份, 分别置 50 mL 量瓶中, 精密加入木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素对照储备溶液 6.7、6.7、60、40 μL , 制备供试品溶液, 分别进样 10 μL , 采集色谱图, 计算回收率。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素平均回收率分别为

99.2%、99.5%、99.1%、99.9%, RSD 值分别为 1.1%、1.6%、1.3%、1.7%。

2.9 样品测定

取肠胃舒胶囊样品, 制备供试品溶液, 每份平行制备 2 份, 待基线稳定后, 分别进样 10 μL , 采集色谱图, 外标法计算供试品中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素的质量分数, 结果见表 2。

表 2 肠胃舒胶囊中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素的测定结果 ($n=2$)

Table 2 Determination of auckland lactone, dehydrocarbactone, gallic acid and draconisin in Changweishu Capsules ($n=2$)

批号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	木香烃内酯	去氢木香内酯	没食子酸	血竭素
210705	0.350 3	0.343 7	0.720 7	0.453 6
210822	0.339 8	0.332 1	0.741 2	0.444 9
210915	0.345 6	0.357 3	0.715 3	0.451 7

3 讨论

3.1 检测波长选择

取木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素对照品溶液,待基线稳定后,分别进样 10 μ L,设置波段扫描范围为 190~700 nm,记录木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素光谱图,结果木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素最大吸收波长分别在 225、225、272、440 nm 处。其中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸在紫外光波段,血竭素在可见光波段,波长分布较广,因此采用单波长无法同时检测 4 种待测物。实验采用二极管阵列检测器,根据 4 种待测物采集到的最大吸收波长,即波长切换法定量检测供试品中木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素。

3.2 流动相选择

高效液相色谱法检测中药中活性成分的常用流动相有甲醇、乙腈体系,因此本实验考察乙腈-水、甲醇-水、0.2%磷酸溶液-乙腈和 0.2%磷酸溶液-甲醇作为流动相体系对木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素 4 种成分分离、检测时间和基质干扰的影响情况。结果表明,选择甲醇体系时,肠胃舒胶囊中 4 种成分的分离时间较长,检测效率低下;选择乙腈-水体系时,血竭素的色谱峰发生分叉现象,定量结果不准确;选择 0.2%磷酸溶液-乙腈时,4 种成分分离良好,无基质干扰,且分析时间较短。故实验选择乙腈-0.2%磷酸溶液作为流动相体系。

3.3 前处理条件优化

肠胃舒胶囊处方药材较多,基质复杂,为保障提取效率和检测结果准确性,有必要对前处理方法进行优化。取肠胃舒胶囊样品(批号 210705),考察提取溶剂为甲醇、50%甲醇和 90%甲醇时,对木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素提取的影响。再分别考察超声功率(200、220、240 W)

和提取时间(15、20、25 min)的影响,结果选择 50%甲醇作为提取剂,超声功率控制 220 W,时间 20 min 为最佳供试品溶液的制备时的提取条件。

实验以肠胃舒胶囊为研究对象,采用超声提取法提取肠胃舒胶囊中的木香烃内酯、去氢木香内酯、没食子酸、血竭素,并以 HPLC-DAD 法定量检测了各成分,结果本法具有简便、准确等特点,可以用于肠胃舒胶囊的质量控制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王婧,田同德,郑智,等.肠胃舒胶囊治疗肿瘤相关腹泻与便秘疗效及调节机制研究[J].现代中西医结合杂志,2021,30(12):1255-1260.
- [2] 李蕊白,田同德,郑智,等.肠胃舒胶囊对肿瘤湿热证腹泻与便秘的双向调节[J].湖南中医药大学学报,2021,41(8):1268-1274.
- [3] 杨璐,姚靓,李丹阳,等.肠胃舒胶囊治疗恶性肿瘤胃肠功能紊乱临床方案设计特色[J].中医药学报,2020,48(4):34-38.
- [4] 吕弢.肠胃舒胶囊在幽门螺杆菌相关胃溃疡治疗中的应用[J].中国药物与临床,2019,19(5):801-803.
- [5] 中华人民共和国卫生部.《国家中成药标准汇编(中成药地方标准上升国家标准部分)》内科脾胃分册[S].2002.WS-11107(ZD-1107)-2002.
- [6] 杨春艳,德央,张燕飞,等.九味牛黄胶囊中马兜铃酸 A、木香烃内酯和去氢木香内酯含量测定[J].西藏科技,2021,36(10):72-74.
- [7] 许耀珑,周燕园,赵凯丽,等.用高效液相色谱法测定胃乐胶囊中木香烃内酯和去氢木香内酯含量的效果分析[J].当代医药论丛,2021,18(4):1-3.
- [8] 吴博,杨桂娥,成志平,等.高效液相色谱法测定蒙药阿嘎如-19 丸中木香烃内酯的含量[J].中国民族医药杂志,2021,27(6):39-41.
- [9] 梁奇,曹丽萍,李曙光,等.龙石膏中钙元素 ICP-AES 测定及血竭素 HPLC 含量测定方法研究[J].今日药学,2021,31(1):27-31.

[责任编辑 解学星]