

基于 HPLC 波长切换联合梯度洗脱技术的越鞠片中 9 种主要成分定量研究

姜红宇^{1,2,3}, 刘焱琳¹, 蒋荣娜¹, 罗小芳^{1,2,3}, 王宗成^{1,2,3*}

1. 湖南科技学院 化学与生物工程学院, 湖南 永州 425199

2. 湖南科技学院 湖南省银杏工程技术研究中心, 湖南 永州 425199

3. 湖南科技学院 湘南优势植物资源综合利用湖南省重点实验室, 湖南 永州 425199

摘要: 目的 建立 HPLC 波长切换联合梯度洗脱法 (HPLC-DVD 法) 同时测定越鞠片中 9 种指标成分 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素的量。方法 采用 HPLC-DVD 法, Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 甲醇-乙腈 (2:1, A) -0.2%冰醋酸溶液 (B) 为流动相, 进行梯度洗脱, 体积流量 0.9 mL/min; α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷和栀子苷的检测波长为 240 nm, 西红花苷 I 的检测波长为 440 nm, 洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A 和藁本内酯的检测波长为 280 nm, 苍术素的检测波长为 340 nm; 进样量为 10 μ L。结果 9 种指标成分 α -香附酮在 2.58~51.60 μ g/mL ($r=0.999\ 4$)、京尼平龙胆二糖苷在 11.99~239.80 μ g/mL ($r=0.999\ 9$)、栀子苷在 17.96~359.20 μ g/mL ($r=0.999\ 6$)、西红花苷 I 在 3.98~79.60 μ g/mL ($r=0.999\ 7$)、洋川芎内酯 H 在 2.82~56.40 μ g/mL ($r=0.999\ 9$)、洋川芎内酯 I 在 2.38~47.60 μ g/mL ($r=0.999\ 9$)、洋川芎内酯 A 在 6.04~120.80 μ g/mL ($r=0.999\ 5$)、藁本内酯在 7.98~159.60 μ g/mL ($r=0.999\ 3$)、苍术素在 6.51~130.20 μ g/mL ($r=0.999\ 2$) 质量浓度与峰面积具有较好的线性关系; 精密度良好, RSD $\leq$ 1.22%; 重复性良好, RSD $\leq$ 1.75%; 供试品溶液在室温条件下 18 h 内稳定, RSD $\leq$ 1.37%; 平均加样回收率和相应的 RSD 分别为 97.64% (0.98%)、99.09% (1.46%)、100.11% (1.03%)、97.87% (0.80%)、98.59% (1.19%)、96.89% (1.34%)、99.38% (0.58%)、98.50% (1.22%)、99.71% (0.85%)。10 批次供试品中 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素量分别为 0.282~0.344、2.099~2.445、3.628~4.225、0.758~0.913、0.241~0.286、0.217~0.266、1.077~1.291、1.386~1.623、1.137~1.434 mg/片。结论 建立的 HPLC-DVD 法同时测定越鞠片中的 9 种成分, 方法操作简便、快速、准确, 可为越鞠片质量控制提供科学依据。

关键词: HPLC-DVD 法; 越鞠片; α -香附酮; 京尼平龙胆二糖苷; 栀子苷; 西红花苷 I; 洋川芎内酯 H; 洋川芎内酯 I; 洋川芎内酯 A; 藁本内酯; 苍术素

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3092-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.012

Quantitative study of nine main components in Yueju Tablets by HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method

JIANG Hong-yu^{1,2,3}, LIU Yi-lin¹, JIANG Rong-na¹, LUO Xiao-fang^{1,2,3}, WANG Zong-cheng^{1,2,3}

1. College of Chemical and Biological Engineering, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China

2. Hunan Provincial Engineering Research Center for Ginkgo Biloba, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China

3. Hunan Key Laboratory of Comprehensive Utilization of Advantage Plants Resources of Southern Hunan, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China

Abstract: Objective To establish HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method (HPLC-DVD) for simultaneous determination of nine main components (α -cyperone, genipin-1- β -D-gentiobioside, geniposide, crocin I, senkyunolide H,

收稿日期: 2017-04-28

基金项目: 湖南省高校科技创新团队支持计划资助 (2012-318); 湖南科技学院湘南优势植物资源综合利用湖南省重点实验室开放基金资助 (XNZW16C03); 永州市科技计划项目 [永科发 (2016) 27 号-8]; 湖南科技学院生物工程重点学科资助

作者简介: 姜红宇 (1971—), 男, 湖南汨罗人, 博士, 讲师, 主要从事天然产物开发、药物合成等研究工作。Tel: (0746)6381164

***通信作者** 王宗成 (1983—), 男, 湖南长沙人, 硕士, 讲师, 主要从事药物质量分析、药物合成及开发等研究工作。

Tel: (0746)6381164 E-mail: wangzongche@163.com

senkyunolide I, senkyunolide A, ligustilide, and atracylodin) in Yueju Tablets. **Methods** The chromatographic separation was achieved on Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with methanol-acetonitrile (2 : 1) (A)-0.2% glacial acetic acid solution (B) as mobile phases for gradient elution, at the flow rate of 0.9 mL/min; The detection wavelength was set at 240 nm for α-cyperone, genipin-1-β-D-gentiobioside and geniposide, 440 nm for crocin I, 280 nm for senkyunolide H, senkyunolide I, senkyunolide A and ligustilide, and 340 nm for atracylodin. The volume of sample injection was 10 μL. **Results** The nine active components were well separated and showed good linearity, such as α-cyperone 2.58—51.60 μg/mL ($r = 0.999\ 4$), genipin-1-β-D-gentiobioside 11.99—239.80 μg/mL ($r = 0.999\ 9$), geniposide 17.96—359.20 μg/mL ($r = 0.999\ 6$), crocin-I 3.98—79.60 μg/mL ($r = 0.999\ 7$), senkyunolide H 2.82—56.40 μg/mL ($r = 0.999\ 9$), senkyunolide I 2.38—47.60 μg/mL ($r = 0.999\ 9$), senkyunolide A 6.04—120.80 μg/mL ($r = 0.999\ 5$), ligustilide 7.98—159.60 μg/mL ($r = 0.999\ 3$), and atracylodin 6.51—130.20 μg/mL ($r = 0.999\ 2$). The precision was good, and RSD was not more than 1.22%. The repeatability was good, and RSD was not more than 1.75%. The stability was good in 18 h, and RSD was not more than 1.37%. The average recoveries and corresponding RSD values were 97.64% (0.98%), 99.09% (1.46%), 100.11% (1.03%), 97.87% (0.80%), 98.59% (1.19%), 96.89% (1.34%), 99.38% (0.58%), 98.50% (1.22%), and 99.71% (0.85%), respectively. The contents of 10 batches of α-cyperone, genipin-1-β-D-gentiobioside, geniposide, crocin I, senkyunolide, H, senkyunolide I, senkyunolide A, ligustilide and atracylodin were 0.282—0.344, 2.099—2.445, 3.628—4.225, 0.758—0.913, 0.241—0.286, 0.217—0.266, 1.077—1.291, 1.386—1.623, and 1.137—1.434 mg/tablet. **Conclusion** HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method has been established for simultaneous determination of nine components in Yueju Tablets. The method is simple, quick, accurate, and it can be used for content determination and quality control of Yueju Tablets. **Key words:** HPLC-DVD; Yueju Tablets; α-cyperone; genipin-1-β-D-gentiobioside; geniposide; crocin I; senkyunolide H; senkyunolide I; senkyunolide A; ligustilide; atracylodin

越鞠片(Yueju Tablets)处方源于《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第七册,由香附(醋制)、川芎、苍术(炒)、栀子(炒)和六神曲(炒)5味中药材加工而成,临床上主要用于胸脘痞闷、腹中胀满、饮食停滞、暖气吞酸等病症的治疗^[1]。六郁为气、血、湿、火、痰、食等六种郁症的合称,由肝脾郁滞所致。肝气郁结、气郁而致血行不畅,郁而化火,导致气、血、火三郁;肝病及脾,脾失健运,聚湿成痰,导致湿、痰、食三郁,气、血、火三郁责之于肝,湿、痰、食三郁责之于脾,而六郁之中,气郁是导致其他五郁的基本原因,故治六郁必先行气解郁^[2-3]。

方中香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,辛温芳香、气中之血药、气病之总司,行气疏肝解郁^[4],为君药。川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,辛温走窜、活血祛瘀,针对血郁而施,血中之气药,可助香附行气之功^[5];苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 或北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎,燥湿健脾、芳香行气^[6],共为臣药。栀子苦寒,清热泻火,以治火郁^[7];神曲消食导滞,以消食郁,共为佐使。诸药共奏,共达理气解郁、宽中除满之功效^[8-10]。

越鞠片现行质量标准中未对方中任何成分进行

定量测定,文献报道中也仅检索对该制剂中栀子苷进行定量测定研究^[11],而单一成分难以有效控制多组分中成药的质量和疗效^[12]。按照中药质量标志物(Q-Marker)的概念^[12-13],挥发油为香附的主要活性成分,包括单萜、倍半萜及其氧化物,其中 α-香附酮为其主要成分^[14];川芎的主要药效成分包括内酯类化合物、总生物碱、阿魏酸、挥发油和酚性成分等物质,其内酯类化合物主要有洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、藁本内酯、丁基酞内酯、丁烯基酞内酯等^[5,15-16];聚乙炔类成分是苍术类药材中的特征性成分,共轭双键和三键为其活性基团,苍术聚乙炔类成分主要有苍术素、苍术素醇和(4E,6E,12E)-十四癸三烯-8,10-二炔-1,3-二乙酸酯等^[6,17-18];栀子主要含环烯醚萜、二萜(西红花苷)、有机酸、黄酮、香豆素、挥发油、皂苷、木脂素、多糖等,其中具有较强药理活性者主要为环烯醚萜类(京尼平龙胆二糖苷、栀子苷等)及西红花苷类(西红花苷 I、西红花苷 II 等)^[7,19-20]。越鞠片由 5 味中药组成,多指标的定量测定方法更有利于客观评价该药的质量,本实验采用波长切换联合梯度洗脱法(HPLC-DVD 法)对越鞠片中的 α-香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素进行同时测定,为越鞠片质量标准的提高提供数据支持,以确保临床用药安全有效。

1 仪器与试药

Agilent 1200 系列四元梯度泵高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; AUW220D 型电子天平, 精确至 0.01 mg, 日本岛津公司; KQ-250DE 型超声波清洗器, 江苏昆山超声波仪器有限公司。

对照品 α -香附酮 (110748-201714, 质量分数 99.4%)、栀子苷 (110749-201316, 质量分数 97.5%)、西红花苷 I (111588-201303, 质量分数 92.6%)、藁本内酯 (111737-201608, 质量分数 100.0%) 和苍术素 (111924-201605, 质量分数 99.8%) 均来源于中国食品药品检定研究院; 京尼平龙胆二糖苷 (29307-60-6, 质量分数 98.0%)、洋川芎内酯 H (94596-27-7, 质量分数 97.0%)、洋川芎内酯 I (94596-28-8, 质量分数 97.0%)、洋川芎内酯 A (62006-39-7, 质量分数 97.0%) 均来源于上海纯优生物科技有限公司; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯; 10 批越鞠片, 规格: 每片质量为 0.43 g, 批号分别为 16040017、16060025、16080029、16090032、16100017、16110033、16110037、16110038、17010002、17010003, 均来源于太极集团重庆桐君阁药厂有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流动相 A 为甲醇-乙腈 (2:1), 流动相 B 为 0.2% 冰醋酸水溶液, 梯度洗脱: 0~14 min, 25.0% A; 14~25 min, 25.0%~56.0% A; 25~42 min, 56.0%~72.0% A; 42~47 min, 72.0%~80.0% A; 47~55 min, 80.0%~25.0% A; 0~21 min 在 240 nm^[21] 波长下检测 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷和栀子苷, 21~25 min 在 440 nm^[21] 波长下检测西红花苷 I, 25~42 min 时在 280 nm^[22] 波长下检测洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A 和藁本内酯, 42~55 min 在 340 nm^[9] 波长下检测苍术素; 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量为 10 μ L。理论塔板数按所测各成分色谱峰计算均不得低于 4 000。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素对照品各适量, 加 70% 甲醇溶解并定容, 制成质量浓度分别为 α -香附酮 0.516 mg/mL、京尼平龙胆二糖苷 2.398 mg/mL、栀子苷 3.592 mg/mL、西红花苷 I 0.796

mg/mL、洋川芎内酯 H 0.564 mg/mL、洋川芎内酯 I 0.476 mg/mL、洋川芎内酯 A 1.208 mg/mL、藁本内酯 1.596 mg/mL、苍术素 1.302 mg/mL 单一成分的对照品储备液。再分别精密吸取上述对照品储备液 2.5、5.0、5.0、5.0、2.5、2.5、5.0、5.0、5.0 mL, 置同一 100 mL 量瓶中, 用 70% 甲醇定容, 制成质量浓度分别为 α -香附酮 12.9 μ g/mL、京尼平龙胆二糖苷 119.9 μ g/mL、栀子苷 179.6 μ g/mL、西红花苷 I 39.8 μ g/mL、洋川芎内酯 H 14.1 μ g/mL、洋川芎内酯 I 11.9 μ g/mL、洋川芎内酯 A 60.4 μ g/mL、藁本内酯 79.8 μ g/mL、苍术素 65.1 μ g/mL 混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取越鞠片适量, 研细, 取约 1.0 g, 精密称定, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 密塞, 精密称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 再次精密称定质量, 以 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 制得越鞠片供试品溶液。

2.4 阴性样品溶液的制备

按越鞠片处方比例和制备工艺分别制备缺香附 (醋制)、缺川芎、缺苍术 (炒)、缺栀子 (炒) 的阴性样品, 再分别按照“2.3”项下制备方法操作, 制得缺香附阴性样品溶液、缺川芎阴性样品溶液、缺苍术阴性样品溶液和缺栀子阴性样品溶液。

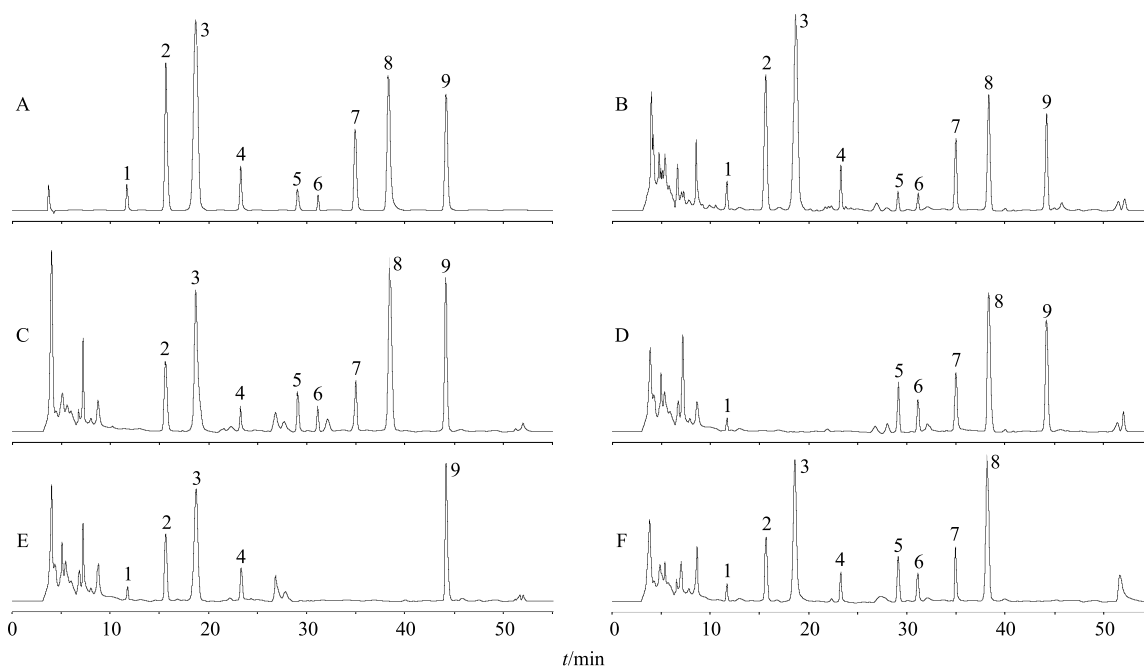
2.5 专属性试验

精密吸取上述“2.2~2.4”项下的各溶液适量, 依法进样测定, 结果如图 1 所示, 供试品溶液中所测成分 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯、苍术素与其他峰分离度良好, 均符合《中国药典》2015 年版规定, 各阴性样品溶液在所测成分相应位置处未见色谱峰, 说明阴性对各成分测定无干扰。

2.6 线性关系考察

精密量取“2.2”项下 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素对照品储备液各 5.0 mL, 用 70% 甲醇定容至 50 mL, 摇匀, 作为线性关系考察混合对照品溶液 I, 再分别取线性关系考察混合对照品溶液 I 各适量, 用 70% 甲醇分别稀释至 75%、50%、25%、10%、5%, 依次制得线性关系考察混合对照品溶液 II、III、IV、V、VI。

按照“2.1”项下色谱条件进行测定, 采用质量



1- α -香附酮 2-京尼平龙胆二糖苷 3-栀子苷 4-西红花苷-I 5-洋川芎内酯 H 6-洋川芎内酯 I 7-洋川芎内酯 A 8-藁本内酯 9-苍术素
1- α -cyperone 2-genipin-1- β -D-gentiobioside 3-geniposide 4-crocin-I 5-senkyunolide H 6-senkyunolide I 7-senkyunolide A 8-ligustilide
9-atractylodin

图 1 混合对照品 (A)、越鞠片样品 (B)、缺香附阴性样品 (C)、缺栀子阴性样品 (D)、缺川芎阴性样品 (E)、缺苍术阴性样品 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substance (A), Yueju Tablets sample (B), blank sample without *Cyperi Rhizoma* (C), blank sample without *Gardeniae Fructus* (D), blank sample without *Chuanxiong Rhizoma* (E), and blank sample without *Atractylodis Rhizoma* (F)

浓度为横坐标 (X), α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素的峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 得回归方程 α -香附酮 $Y=5.9582 \times 10^5 X + 273.6$, $r=0.9994$, 线性范围 $2.58 \sim 51.60 \mu\text{g/mL}$; 京尼平龙胆二糖苷 $Y=7.9581 \times 10^5 X - 471.0$, $r=0.9999$, 线性范围 $11.99 \sim 239.80 \mu\text{g/mL}$; 栀子苷 $Y=9.1943 \times 10^6 X + 359.2$, $r=0.9996$, 线性范围 $17.96 \sim 359.20 \mu\text{g/mL}$; 西红花苷 I $Y=4.3175 \times 10^5 X + 169.7$, $r=0.9997$, 线性范围 $3.98 \sim 79.60 \mu\text{g/mL}$; 洋川芎内酯 H $Y=4.6927 \times 10^5 X - 225.8$, $r=0.9999$, 线性范围 $2.82 \sim 56.40 \mu\text{g/mL}$; 洋川芎内酯 I $Y=3.1648 \times 10^5 X + 328.6$, $r=0.9999$, 线性范围 $2.38 \sim 47.60 \mu\text{g/mL}$; 洋川芎内酯 A $Y=6.3864 \times 10^5 X + 195.4$, $r=0.9995$, 线性范围 $6.04 \sim 120.80 \mu\text{g/mL}$; 藁本内酯 $Y=1.1057 \times 10^6 X + 435.2$, $r=0.9993$, 线性范围 $7.98 \sim 159.60 \mu\text{g/mL}$; 苍术素 $Y=9.6741 \times 10^5 X - 183.7$, $r=0.9992$, 线性范围 $6.51 \sim 130.20 \mu\text{g/mL}$ 。

2.7 精密度试验

取“2.2”项下的混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 依法进样测定所测各成分峰面积, 结果显示 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素峰面积的 RSD 分别为 1.02%、0.65%、0.52%、1.01%、1.15%、1.22%、0.80%、0.72%、0.93%。

2.8 重复性试验

取同一批越鞠片样品 (批号 16040017) 6 份, 按“2.3”项下方法制备越鞠片供试品溶液, 依法进样测定, 结果显示 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素质量分数的 RSD 依次为 1.42%、1.11%、1.06%、0.87%、1.53%、0.75%、1.27%、1.18%、1.33%。

2.9 稳定性试验

取同一批样品 (批号 16040017) 的同一供试品溶液, 在室温下于 0、2、4、8、12、18 h 依法进样

测定 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素的峰面积。结果显示越鞠片供试品溶液室温下 18 h 内稳定, 所测各成分 RSD 分别为 1.09%、0.77%、0.67%、1.08%、0.51%、1.37%、1.04%、1.18%、0.76%。

2.10 加样回收率试验

取已测定各成分量 (α -香附酮 0.726 mg/g、京尼平龙胆二糖苷 5.419 mg/g、栀子苷 9.371 mg/g、西红花苷 I 1.953 mg/g、洋川芎内酯 H 0.608 mg/g、洋川芎内酯 I 0.537 mg/g、洋川芎内酯 A 2.615 mg/g、藁本内酯 3.488 mg/g、苍术素 2.916 mg/g) 批号为 16040017 的越鞠片 6 份, 研细, 每份 0.5 g, 精密称定, 精密加入 0.361 mg/mL α -香附酮对照品溶液 1.0 mL、0.543 mg/mL 京尼平龙胆二糖苷对照品溶液 5.0 mL、0.939 mg/mL 栀子苷对照品溶液 5.0 mL、0.977 mg/mL 西红花苷 I 对照品溶液 1.0 mL、0.305 mg/mL 洋川芎内酯 H 对照品溶液 1.0 mL、0.267 mg/mL 洋川芎内酯 I 对照品溶液 1.0 mL、0.656 mg/mL 洋川芎内酯 A 对照品溶液 2.0 mL、0.869 mg/mL 藁本内

酯对照品溶液 2.0 mL、0.731 mg/mL 苍术素对照品溶液 2.0 mL、70% 甲醇 30 mL, 再按照“2.3”项下方法制备加样回收率样品溶液。依法进样测定各成分量, 结果所测 9 个成分的平均加样回收率及 RSD 值分别为 97.64% (0.98%)、99.09% (1.46%)、100.11% (1.03%)、97.87% (0.80%)、98.59% (1.19%)、96.89% (1.34%)、99.38% (0.58%)、98.50% (1.22%)、99.71% (0.85%)。

2.11 样品定量测定

取 10 批次越鞠片样品, 每批 3 份, 按照“2.3”项方法制备越鞠片供试品溶液, 依法进样测定, 采用外标法计算样品中 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素量, 结果见表 1。10 批次供试品中 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素量分别为 0.282~0.344、2.099~2.445、3.628~4.225、0.758~0.913、0.241~0.286、0.217~0.266、1.077~1.291、1.386~1.623、1.137~1.434 mg/片。

表 1 10 批样品中 9 个成分的定量测定结果 ($n=3$)

Table 1 Results of content determination ($n=3$)

批号	含量/(mg·片 ⁻¹)								
	α -香附酮	京尼平龙胆二糖苷	栀子苷	西红花苷 I	洋川芎内酯 H	洋川芎内酯 I	洋川芎内酯 A	藁本内酯	苍术素
16040017	0.312	2.330	4.030	0.840	0.261	0.231	1.124	1.500	1.254
16060025	0.297	2.099	3.628	0.758	0.286	0.266	1.291	1.623	1.137
16080029	0.344	2.445	4.225	0.913	0.249	0.221	1.098	1.386	1.434
16090032	0.282	2.237	3.926	0.857	0.241	0.217	1.159	1.481	1.386
16100017	0.296	2.229	3.872	0.819	0.276	0.235	1.137	1.397	1.317
16110033	0.289	2.305	3.901	0.796	0.282	0.242	1.092	1.405	1.194
16110037	0.305	2.386	4.117	0.831	0.269	0.256	1.189	1.442	1.283
16110038	0.311	2.401	3.959	0.894	0.277	0.249	1.077	1.536	1.338
17010002	0.292	2.257	4.213	0.905	0.253	0.238	1.204	1.483	1.296
17010003	0.327	2.318	4.116	0.864	0.264	0.224	1.153	1.601	1.304

3 讨论

3.1 流动相的选择

在流动相选择时, 首先考察了甲醇-水^[23-24]、乙腈-水^[25]、甲醇-乙腈 (2:1) 与水^[26]流动相体系, 对比结果显示甲醇-乙腈 (2:1) 与水流动相体系在峰形和分离度等方面均优于甲醇-水流动相体系和乙腈-水流动相体系, 但存在部分所测成分分离效果不佳, 峰形拖尾的现象; 在此基础上, 本课题组在

流动相中加入一定浓度的酸, 对比考察了磷酸体系^[19]、冰醋酸体系^[26]及甲酸体系^[21-22], 优选冰醋酸体系; 进一步对冰醋酸浓度进行了考察, 确定最佳的冰醋酸浓度为 0.2%; 同时根据所测成分 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素的出峰时间、分离效果以及色谱峰基线平稳情况, 对流动相梯度洗脱比例进行了摸索,

最终确定了“2.1”项下的色谱条件。

3.2 供试品溶液的处理方式

在确定供试品溶液制备方法时,以所测各成分 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素的提取率为指标,同时考虑操作的便捷性和时效性,分别对提取方式(加热回流提取、超声提取)、提取溶剂(甲醇、70%甲醇、30%甲醇、乙醇)、提取时间(15、30、60 min)进行了考察,优选最佳的供试品溶液制备方法为 70%甲醇超声提取 30 min。

3.3 实验结果分析

实验结果表明,在本实验建立的色谱条件下,采用 HPLC-DVD 法同时测定越鞠片中 α -香附酮、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、藁本内酯和苍术素量,所测成分色谱峰与其他成分分离良好,阴性无干扰,各项方法学验证均符合要求,测定结果准确,该检测方法全面、快捷,为越鞠片的质量控制提供了数据支持。通过对 10 批次样品的测定,所测各成分量批间有一定差异,但差异不显著,可能与该制剂生产所使用的原药材中相关成分的量差异有关,同时各批次药品在生产、储藏和运输过程中也会存在一定的差别,因此中成药制剂生产一定要严格控制所用原药材的质量,按照批准的工艺要求操作,保证产品质量的稳定可控,从而确保临床用药安全有效。

参考文献

- [1] 卫生部颁药品标准(中药成方制剂第七册)[S]. 1993.
- [2] 官文芳,苏亮.越鞠丸的核心药组结构之浅论[J]. 中医临床研究,2015,7(28): 17-18.
- [3] 任愉嫒,蒋燕,屈乐,等.《丹溪治法心要》六郁证探析[J]. 国医论坛,2017,32(2): 18-21.
- [4] 胡栋宝,陆卓东,伍贤学.中药香附子化学成分及药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药,2017,28(2): 430-432.
- [5] 张翠英,章洪,戚琼华.川芎的有效成分及药理研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2014,45(10): 2264-2266.
- [6] 张明发,沈雅琴.苍术及其有效成分消化系统药理作用的研究进展[J]. 药物评价研究,2017,40(3): 411-419.
- [7] 王亨.中药栀子有效成分及药理作用的研究进展[J]. 中国药师,2015,18(10): 1782-1784.
- [8] 赵宇昊,王秀娟,谢鸣.越鞠丸方名渊源与临床加减

运用[J]. 北京中医药大学学报,2004,27(4): 13-15.

- [9] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [10] 桂明泰,徐立思,符德玉,等.越鞠丸在心血管疾病中的应用进展[J]. 人民军医,2016,60(5): 506-507.
- [11] 苏晶,杨惠莲,冉海琳,等.反相高效液相色谱法测定越鞠片中栀子苷含量[J]. 中国药业,2008,17(22): 31-32.
- [12] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药,2016,47(9): 1443-1457.
- [13] 周秀娟,李燕芳,陈莹,等.基于 UPLC-Q Exactive 四级杆-轨道阱液质联用法快速建立清热灵颗粒中潜在中药质量标志物(Q-Marker)成分库[J]. 中草药,2017,48(1): 67-74.
- [14] 徐晓婷,邓志鹏,仲浩,等.香附化学成分及药理作用研究进展[J]. 齐鲁药事,2012,31(8): 473-475.
- [15] 曹建敏,王宗花,丁明玉,等.反相高效液相色谱法同时测定川芎中的四种内酯类化合物[J]. 色谱,2005,23(5): 531-533.
- [16] 曾志,谢润乾,张涛,等.川芎中内酯类化合物的质谱学规律[J]. 质谱学报,2011,32(5): 293-300.
- [17] 赵森淼,王瑞,俞桂新,等.苍术的定性定量分析方法研究[J]. 药物分析杂志,2010,30(5): 954-958.
- [18] 张明发,沈雅琴.苍术抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展[J]. 药物评价研究,2016,39(5): 885-890.
- [19] 钱琨,石燕红,陈绍成,等.UPLC 法测定栀子中的 4 种成分[J]. 中成药,2016,38(3): 708-711.
- [20] 闫光军,李守信,刘武占,等.栀子总苷缓释片多组分体外释放度研究[J]. 现代药物与临床,2014,29(5): 485-488.
- [21] 徐燕,曹进,王义明,等.多波长高效液相色谱法同时测定栀子中的三类成分[J]. 药科学,2003,38(7): 543-546.
- [22] 田璐,闫海霞,傅欣彤,等.一测多评法同时测定川芎、当归饮片中多种化学成分的含量[J]. 药物分析杂志,2014,34(5): 848-854.
- [23] 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,2013,44(1): 28-29.
- [24] 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.
- [25] 南洋,贾凌云,李倩,等.RP-HPLC 法同时测定苍术中苍术素和白术内酯 II 的含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(1): 17-20.
- [26] 刘金亮,范巧佳,郑顺林,等.HPLC 测定不同采收期川芎药材中 5 种药效成分的含量[J]. 中国中药杂志,2014,39(9): 1650-1655.