

HPLC-DAD 变波长法同时测定博尔宁胶囊中 12 种指标成分

孙立伟¹, 陈博年^{1#}, 姜 镅^{1*}, 周 慧², 李金铎¹, 王 斌¹, 马春华¹, 吕 远¹, 穆 宁¹

1. 天津市环湖医院, 天津 300350

2. 天津医科大学药学院, 天津 300070

摘 要: 目的 建立 HPLC-DAD 波长切换联合梯度洗脱法同时测定博尔宁胶囊中 12 种指标成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素的量。方法 采用 HPLC-DAD 法, Atlantis T3 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 乙腈-甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相, 体积流量 0.8 mL/min, 梯度洗脱; 变波长扫描; 进样量为 20 μL。结果 12 种指标成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素分别在 1.97~19.70 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、1.022~10.220 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、0.982~9.820 μg/mL ($r=0.999\ 1$)、1.1~11.0 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、1.154~11.540 μg/mL ($r=0.999\ 8$)、1.114~11.140 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、1.102~11.020 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、2.768~27.680 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、3.04~30.40 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、3.379~33.790 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、3.286~32.860 μg/mL ($r=0.999\ 4$)、3.507~35.070 μg/mL ($r=0.999\ 7$) 质量浓度与峰面积具有较好的线性关系; 精密度、重复性良好, RSD 均小于 2.0%; 平均加样回收率和相应的 RSD 分别为 100.08%、1.27%; 98.11%、1.15%; 99.68%、1.13%; 101.38%、0.87%; 101.87%、0.95%; 100.53%、0.74%; 98.52%、0.83%; 99.52%、0.88%; 97.84%、1.33%; 98.31%、0.71%; 99.66%、0.57%; 101.73%、1.41%。12 批次供试品中 12 种指标成分质量分数分别为 0.085~0.118 mg/g、0.065~0.085 mg/g、0.051~0.075 mg/g、1.822~1.888 mg/g、1.532~1.599 mg/g、1.027~1.148 mg/g、2.420~2.621 mg/g、6.428~6.937 mg/g、0.258~0.289 mg/g、0.122~0.143 mg/g、0.159~0.184 mg/g、0.222~0.273 mg/g。结论 建立的 HPLC-DAD 波长切换联合梯度洗脱法同时测定博尔宁胶囊中的 12 种成分, 方法操作简便、快速、准确, 可作为博尔宁胶囊全面可靠的质量控制方法。

关键词: HPLC-DAD; 变波长法; 博尔宁胶囊; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 澳洲茄碱; 澳洲茄边碱; 重楼皂苷 VII; 重楼皂苷 VI; 重楼皂苷 II; 重楼皂苷 I; 特女贞苷; 迷迭香酸; 大黄酸; 大黄酚; 大黄素

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3098-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.013

Determination of 12 kinds of index components in Boerning Capsules by HPLC-DAD variable wavelength method

SUN Li-wei¹, CHEN Bo-nian¹, JIANG Rong¹, ZHOU Hui², LI Jin-duo¹, WANG Bin¹, MA Chun-hua¹, LV Yuan¹, MU Ning¹

1. Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China

2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To develop an HPLC-DAD wavelength switching combined with gradient elution method for the determination of the contents of calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, solasonine, solamargine, chonglou saponin I, chonglou saponin II, chonglou saponin VI, chonglou saponin VII, specnuezhenide, rosmarinic acid, rhein, chrysophanol, and emodin in Boerning Capsules (BC) simultaneously. **Methods** The chromatographic separation was achieved on an Atlantis T3 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-methanol (A)-0.1% formic acid solution (B) as mobile phase at the flow rate of 0.8 mL/min for gradient elution; variable wavelength method; sample quantity was 20 μL. **Results** The 12 active components were well separated and showed good linearity, such as calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, solasonine, solamargine, polyphyllin I, polyphyllin II, polyphyllin VI, polyphyllin VII,

收稿日期: 2017-01-09

作者简介: 孙立伟 (1981—), 男, 主治医师, 研究方向为肿瘤学。Tel: 13502135838 E-mail: daerduoni2005@163.com

*通信作者 姜 镅 (1961—), 女, 主任医师, 研究方向为肿瘤学。Tel: 15902296269 E-mail: jiangrong1989@sina.com

#并列第一作者 陈博年 (1981—), 男, 主治医师, 研究方向为卫生统计学。Tel: 13920680682 E-mail: tjchenbonian@sohu.com

specnuezhenide, rosmarinic acid, rhein, chrysophanol, and emod 1.97—19.70 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 2$), 1.022—10.220 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), 0.982—9.820 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 1$), 1.102—11.020 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), 1.114—11.140 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), 1.154—11.540 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 8$), 1.114—11.140 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), 2.768—27.680 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), 3.04—30.40 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 3.379—33.790 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), 3.286—32.860 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), and 3.507—35.070 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 7$). The precision and repeatability were good, and RSD values were less than 2.0%. The average recoveries and the corresponding RSD values were 100.08% (1.27%), 98.11% (1.15%), 99.68% (1.13%), 101.38% (0.87%), 101.87% (0.95%), 100.53% (0.74%), 98.52% (0.83%), 99.52% (0.88%), 97.84% (1.33%), 98.31% (0.71%), 99.66% (0.57%), and 101.73% (1.41%), respectively. The contents of 12 batches of the twelve active components were 0.085—0.118, 0.065—0.085, 0.051—0.075, 1.822—1.888, 1.532—1.599, 1.027—1.148, 2.420—2.621, 6.428—6.937, 0.258—0.289, 0.122—0.143, 0.159—0.184, and 0.222—0.273 mg/g. **Conclusion** An HPLC wavelength switching combined with gradient elution method has been successfully established for simultaneous determination of 12 components in BC. The method is simple, quick, accurate, and helpful for the quality control of BC.

Key words: HPLC-DAD; wavelength; method; Boerning Capsules; calycosin; 7-*O*- β -D-glucopyranoside; solasonine; solamargine; polyphyllin I; polyphyllin II; polyphyllin VI; polyphyllin VII; specnuezhenide; rosmarinic acid; rhein; chrysophanol; emodin

博尔宁胶囊的功效是扶正祛邪、益气活血、软坚散结、消肿止痛。临床上为癌症辅助治疗药物，可配合化疗使用，有一定的减毒、增效作用^[1]，对于肺癌、结肠癌和胃癌等都具有治疗作用^[2-9]。该中成药是由炙黄芪、女贞子（酒制）、光慈菇、马齿苋、重楼、龙葵、紫苏子（炒）、鸡内金（炒）、大黄、冰片、僵蚕（炒）11 味中药材加工而成的复方制剂，现行标准 [国家食品药品监督管理局标准（试行）YBZ14212005] 仅规定了对其中大黄素进行定量测定，有关该品种定量测定的文献报道较少^[10]。

文献报道黄芪中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷^[11]，女贞子中的特女贞苷^[12]，重楼中的重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VI 与重楼皂苷 VII^[13-14]，龙葵中的澳洲茄碱与澳洲茄边碱^[15-19]，紫苏子中的迷迭香酸^[20]，大黄中的大黄酸、大黄素与大黄酚^[21]都具有抗肿瘤的活性。以上 12 种成分所具有的抗肿瘤活性均与本方主治功能相符。本实验采用 HPLC-DAD 波长切换联合梯度洗脱法^[22]，首次建立了 HPLC-DAD 同时测定博尔宁胶囊中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素 12 种指标成分的方法，该方法简便、快速，结果准确、重现性好，为提高博尔宁胶囊质量标准提供有效依据。

1 仪器与材料

Waters 1525 高效液相色谱仪，包括 2998 二极管阵列检测器，Empower 2 化学工作站等，美国 Waters 公司；CPA324S 型电子天平，德国赛多利斯公司。毛蕊异黄酮葡萄糖苷（批号 111920-201505，质量分数 97.1%）、重楼皂苷 I（批号 111590-201604，

质量分数 93.6%）、重楼皂苷 II（批号 111591-201604，质量分数 96.7%）、重楼皂苷 VII（批号 111593-201303，质量分数 92.5%）、特女贞苷（批号 111926-201605，质量分数 97.3%）、迷迭香酸（批号 111871-201505，质量分数 98.5%）、大黄酚（批号 110796-201520，质量分数 99.2%）、大黄酸（批号 110757-201607，质量分数 97.5%）、大黄素（批号 110756-201512，质量分数 98.7%），均购于中国食品药品检定研究院；澳洲茄碱（批号 MUST-150406，质量分数 99.1%）、澳洲茄边碱（批号 MUST-150406，质量分数 98.2%）、重楼皂苷 VI（批号 MUST-150406，质量分数 99.5%），均购于成都曼斯特生物科技有限公司。乙腈、甲醇（色谱纯），甲酸、乙醇（分析纯），水（重蒸馏水）。

黄芪 *Astragali Radix*、女贞子 *Ligustri Lucidi Fructus*、光慈菇 *Bulbus Tulipae*、马齿苋 *Portulacae Herba*、重楼 *Paridis Rhizoma*、龙葵 *Solani Nigri Herba*、紫苏子 *Perillae Fructus*、鸡内金 *Galli Gigerii Endothelium Corneum*、大黄 *Rhei Radix et Rhizoma*、冰片（合成龙脑）*Borneolum Syntheticum*、僵蚕 *Bombyx Batryticatus* 均购自天津市环湖医院药剂科，经天津中医药大学李伟副教授鉴定均为正品，其基原植物黄芪为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge. 的干燥根，女贞子为木犀科女贞属植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实，光慈菇为百合科郁金香属植物老鸦瓣 *Tulipa edulis* Bak. 的干燥鳞茎，马齿苋为马齿苋科马齿苋属植物马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的干燥地上部分，重楼为百合科重楼属植物七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara

的干燥根茎,龙葵为茄科茄属植物龙葵 *Solanum nigrum* L. 的干燥全草,紫苏子为唇形科紫苏属植物紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britt. 的干燥成熟果实,鸡内金为雉科原鸡属动物家鸡 *Gallus gallus domesticus* Brisson 的干燥沙囊内壁,大黄为蓼科大黄属植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根和根茎,僵蚕为蚕蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4~5 龄的幼虫感染(或人工接种)白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillant 而致死的干燥体。

博尔宁胶囊,每粒装 0.15 g,石家庄东方药业有限公司生产,批号分别为 150407、150524、150611、150614、151107、151223;丽珠集团丽珠制药厂生产,批号分别为 150707、150801、150909、150922、151011、151028。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取博尔宁胶囊内容物适量,研磨成细粉,取 0.5 g,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,精密加入 75%乙醇溶液 100 mL,密塞,称定质量,加热回流提取 45 min,用 75%乙醇补充缺失的质量,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得博尔宁胶囊的供试品溶液。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素对照品,用 75%乙醇溶液分别溶解并稀释,制成含毛蕊异黄酮葡萄糖苷 0.985 mg/mL、澳洲茄碱 0.511 mg/mL、澳洲茄边碱 0.491 mg/mL、重楼皂苷 VII 0.688 mg/mL、重楼皂苷 VI 0.721 mg/mL、重楼皂苷 II 0.696 mg/mL、重楼皂苷 I 0.689 mg/mL、特女贞苷 0.692 mg/mL、迷迭香酸 0.304 mg/mL、大黄酸 2.112 mg/mL、大黄酚 2.054 mg/mL 和大黄素 2.192 mg/mL 的 12 种对照品储备溶液。

再分别依次量取 12 种对照品储备液 5.0、5.0、5.0、4.0、4.0、4.0、4.0、10.0、25.0、4.0、4.0、4.0 mL,置同一 100 mL 量瓶中,加 75%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,即得含毛蕊异黄酮葡萄糖苷 49.25 μg/mL、澳洲茄碱 25.55 μg/mL、澳洲茄边碱 24.55 μg/mL、重楼皂苷 VII 27.52 μg/mL、重楼皂苷 VI 28.84 μg/mL、重楼皂苷 II 27.84 μg/mL、重楼皂苷 I 27.56 μg/mL、特女贞苷 69.2 μg/mL、迷迭香酸 76.0 μg/mL、大黄酸 84.48 μg/mL、大黄酚 82.16 μg/mL

和大黄素 87.68 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 阴性对照溶液的制备

按处方比例及制备工艺分别制备不含重楼、大黄、女贞子、黄芪、紫苏子、龙葵的阴性样品,分别按“2.1”项下方法操作,即得缺各味药材的各阴性对照溶液。

2.4 色谱条件

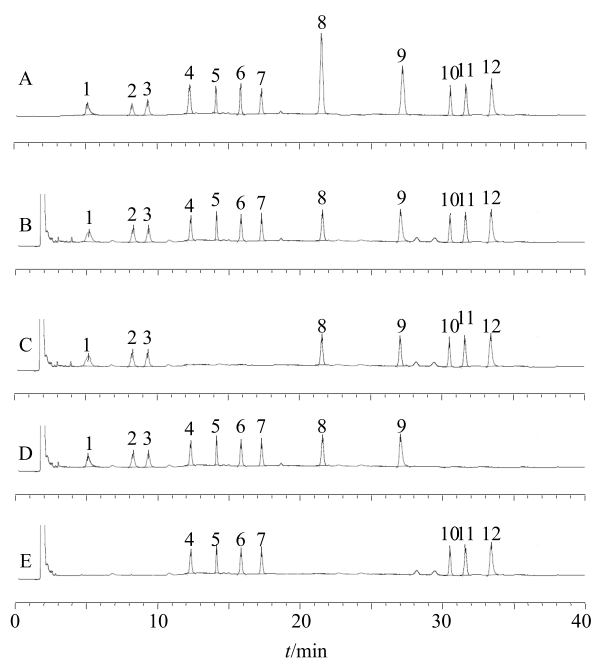
采用 Atlantis T3 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;体积流量 0.8 mL/min;柱温 35 ℃;进样量为 20 μL;流动相为乙腈-甲醇(1:1, A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱:0~7 min, 12% A;7~20 min, 12%~32% A;20~28 min, 32% A;28~35 min, 32%~70% A;35~40 min, 12% A;检测波长:0~7 min,在 260 nm 波长下检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷;7~20 min,在 203 nm 波长下检测澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I;20~25 min,在 224 nm 波长下检测特女贞苷;25~30 min,在 330 nm 波长下检测迷迭香酸;30~40 min,在 254 nm 波长下检测大黄酸、大黄酚、大黄素。

2.5 专属性考察

根据该色谱条件,分别取“2.1”项下供试品溶液、“2.2”项下混合对照品溶液和“2.3”项下 3 种阴性对照溶液,在“2.4”项色谱条件下依法进行测定。结果显示,在与上述 12 种对照品色谱峰相应的保留时间处,阴性对照溶液中没有对应的色谱峰,说明阴性样品对 12 种待测成分的测定无干扰,色谱图见图 1。

2.6 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下的 12 种对照品储备液各 1、2、2.5、5、10 mL,将其置于 25 mL 量瓶中并用 75%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,即得到 5 个质量浓度的混合对照品溶液,按照上述测定方法进行测定,以质量浓度作为横坐标(X),峰面积作为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算得线性回归方程、相关系数(r)及线性范围,结果分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 $Y=4\ 356 X+23.75$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 1.97~19.70 μg/mL;澳洲茄碱 $Y=654 X+2.836$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 1.022~10.220 μg/mL;澳洲茄边碱 $Y=78.24 X+6.357$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 0.982~9.820 μg/mL;重楼皂苷 VII $Y=7.281 X+46.92$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 1.1~11.0 μg/mL;重楼皂苷 VI $Y=55.94 X-8.362$, $r=0.999\ 8$, 线性



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 2-澳洲茄碱 3-澳洲茄边碱 4-重楼皂苷 VII 5-重楼皂苷 VI 6-重楼皂苷 II 7-重楼皂苷 I 8-特女贞苷 9-迷迭香酸 10-大黄酸 11-大黄酚 12-大黄素
1-calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside 2-solasonine 3-solamargine 4-polyphyllin VII 5-polyphyllin VI 6-polyphyllin II 7-polyphyllin I 8-specnuezhenide 9-rosmarinic acid 10-rhein 11-chrysophanol 12-emodin

图 1 混合对照品 (A)、博尔宁样品 (B)、缺重楼 (C)、缺大黄 (D) 及缺黄芪、龙葵、女贞子、紫苏子 (E) 阴性样品的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), samples (B), negative sample without *Paridis Rhizoma* (C), negative sample without *Rhei Radix et Rhizoma* (D), and negative sample without *Astragali Radix*, *Solani Nigri Herba*, *Ligustri Lucidi Fructus*, *Perillae Fructus* (E)

范围 1.154~11.540 μg/mL; 重楼皂苷 II $Y=83.84X-22.63$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 1.114~11.140 μg/mL; 重楼皂苷 I $Y=5.822X+12.58$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 1.102~11.020 μg/mL; 特女贞苷 $Y=3\ 726X+4.382$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 2.768~27.680 μg/mL; 迷迭香酸 $Y=3.668X+44.82$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 3.04~30.40 μg/mL; 大黄酸 $Y=5.987X-66.38$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 3.379~33.790 μg/mL; 大黄酚 $Y=732.5X+435.1$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 3.286~32.860 μg/mL; 大黄素 $Y=72.61X+22.84$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 3.507~35.070 μg/mL。

2.7 精密度试验

取“2.2”项下的混合对照品溶液,按“2.4”项

下色谱条件重复进样 6 次,记录毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素的峰面积,分别计算 12 个组分峰面积的 RSD 值,结果这 12 个组分峰面积的 RSD 依次为 1.11%、1.22%、0.97%、0.57%、0.82%、0.49%、0.59%、0.91%、1.03%、0.73%、1.37%、1.25%,结果显示仪器精密性良好。

2.8 重复性试验

取博尔宁胶囊(批号为 150407)适量,按“2.1”项方法制备 6 份供试品溶液,按“2.4”项色谱条件进行测定,分别计算博尔宁胶囊中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素的量,并计算这 12 个组分质量分数的 RSD 依次为 1.48%、1.24%、1.31%、1.07%、0.66%、0.74%、1.01%、0.83%、0.62%、1.13%、1.06%、0.96%。结果表明本方法重复性良好。

2.9 稳定性试验

取博尔宁胶囊(批号为 150407)同一份供试品溶液,在室温下放置 0、4、8、12、16、24 h,按“2.4”项色谱条件测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素的峰面积值,计算 12 种组分的峰面积的 RSD 依次为 1.26%、1.41%、1.43%、1.16%、0.97%、0.86%、1.22%、0.48%、0.53%、1.04%、1.14%、0.99%,表明供试样品溶液在制备后 24 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验

取博尔宁胶囊(批号为 150407)适量,称取 6 份,每份 0.3 g,置于圆底烧瓶中,分别加入各对照品适量,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,定容至 25 mL,作为加样回收样品试液。按照“2.4”项色谱条件测定,计算这 12 个组分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素的回收率分别为 100.08%、98.11%、99.68%、101.38%、101.87%、100.53%、98.52%、99.52%、97.84%、98.31%、99.66%、101.73%,RSD 分别为 1.27%、1.15%、1.13%、0.87%、0.95%、0.74%、0.83%、0.88%、1.33%、0.71%、0.57%、1.41%。

2.11 耐用性考察

取博尔宁胶囊(批号为 150407)适量,照“2.1”项下供试品溶液制备方法配制,按“2.4”项下色谱条件进行分析,记录色谱图。考察柱温(34、35、36 ℃)、体积流量(0.7、0.8、0.9 mL/min)变化及不同批号色谱柱变化对测定的影响。结果显示,柱温、体积流量与流动相比比例的微小变化对样品的测定无明显影响,表明耐用性良好。

2.12 供试品的测定

取 12 个批次的博尔宁胶囊,按“2.1”项制备方法制备供试品溶液,按“2.4”项的色谱条件进样测定,结果见表 1。从所测得的实验结果可以看出,

12 批博尔宁胶囊中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷、迷迭香酸、大黄酸、大黄酚和大黄素质量分数分别在 0.085~0.118 mg/g、0.065~0.085 mg/g、0.051~0.075 mg/g、1.822~1.888 mg/g、1.532~1.599 mg/g、1.027~1.148 mg/g、2.420~2.621 mg/g、6.428~6.937 mg/g、0.258~0.289 mg/g、0.122~0.143 mg/g、0.159~0.184 mg/g、0.222~0.273 mg/g。各个成分批与批之间的数据差异较小,其中重楼皂苷 VII、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、重楼皂苷 I、特女贞苷的量比较高,可以作为该中成药的主要指标成分。

表 1 12 批博尔宁胶囊定量测定结果

Table 1 Quantitative determination of 12 batches of Boerning Capsules

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	澳洲茄碱	澳洲茄边碱	重楼皂苷 VII	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II
150407	0.111	0.075	0.058	1.853	1.548	1.052
150524	0.099	0.069	0.060	1.888	1.532	1.049
150611	0.095	0.069	0.061	1.846	1.533	1.123
150614	0.101	0.068	0.062	1.837	1.537	1.148
151107	0.113	0.079	0.065	1.859	1.563	1.137
151223	0.118	0.081	0.054	1.866	1.554	1.027
150707	0.094	0.077	0.068	1.873	1.572	1.044
150801	0.105	0.067	0.071	1.822	1.555	1.048
150909	0.103	0.073	0.072	1.858	1.568	1.045
150922	0.116	0.085	0.075	1.849	1.539	1.089
151011	0.096	0.072	0.054	1.846	1.599	1.096
151028	0.085	0.065	0.051	1.880	1.544	1.145
批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	重楼皂苷 I	特女贞苷	迷迭香酸	大黄酸	大黄酚	大黄素
150407	2.541	6.824	0.276	0.137	0.166	0.233
150524	2.422	6.835	0.258	0.126	0.169	0.247
150611	2.426	6.542	0.285	0.122	0.175	0.239
150614	2.429	6.638	0.289	0.138	0.177	0.222
151107	2.420	6.428	0.278	0.143	0.159	0.252
151223	2.563	7.043	0.287	0.125	0.175	0.273
150707	2.555	6.935	0.283	0.140	0.178	0.248
150801	2.604	6.937	0.264	0.142	0.184	0.254
150909	2.621	6.777	0.258	0.127	0.162	0.228
150922	2.425	6.573	0.282	0.124	0.168	0.253
151011	2.584	6.451	0.259	0.134	0.171	0.264
151028	2.537	6.527	0.274	0.141	0.181	0.257

3 讨论

首次建立 HPLC 同时测定博尔宁胶囊中 12 种成分的方法,方法快速、结果准确,可作为博尔宁胶囊多指标定量测定方法,可用于博尔宁胶囊的质量控制。

分别考察超声和水浴回流提取对提取率的影响,发现水浴回流提取的效率更高;提取溶剂考察了甲醇、乙醇、50%乙醇、75%乙醇,发现 75%乙醇的提取效率更好;同时对提取时间也进行了考察。最终确定 75%乙醇,水浴回流提取 45 min 的提取条件。在流动相的选择过程中,分别考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水、甲醇-乙腈-磷酸水、甲醇-乙腈-甲酸水体系。采用甲醇-水系统时,12 种指标成分的峰形较差;采用乙腈-水系统时,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、澳洲茄碱、澳洲茄边碱 3 种指标成分出峰时间太快,空白溶剂有干扰;通过对甲醇-乙腈-甲酸水体系的优化,最终确定乙腈-甲醇-0.1%甲酸的梯度洗脱方法。

参考文献

- [1] 国家药品标准新药转正标准: 第 70 册 [S]. 2008.
- [2] 杨 静, 杨 乐, 张王刚. 博尔宁胶囊治疗 32 例非小细胞肺癌疗效观察 [J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(5): 1053-1055.
- [3] 李士坤, 陈克河, 任庆梅. 博尔宁胶囊联合 FOLFOX 方案治疗晚期胃癌 68 例疗效观察 [J]. 中国医药指南, 2012, 10(12): 264-265.
- [4] 孙彦峰. 博尔宁胶囊配合化疗治疗胃癌的临床疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2016, 11(16): 222-223.
- [5] 秦冬莉, 宋软凡. 博尔宁胶囊联合 FOLFOX4 方案治疗结肠癌的临床分析 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(27): 214-215.
- [6] 何 洁, 张大鹏, 何 静. 博尔宁胶囊配合化疗治疗胃癌的临床疗效观察 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2012, 12(11): 1016-1017.
- [7] 高艳伟. 博尔宁胶囊联合化疗治疗晚期胃癌的临床研究 [J]. 内蒙古中医药, 2015, 31(4): 65-66.
- [8] 裴 磊, 岳 晓, 丁 健. 博尔宁胶囊联合 FOLFOX4 方案与单纯 FOLFOX4 方案治疗结肠癌的临床疗效对比 [J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(16): 121-123.
- [9] 王秀萍, 张莹雯. 博尔宁抑制 S-180 肉瘤细胞增殖抗癌作用机制研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(1): 11-14.
- [10] 朱艳华, 马灵珍, 付 平. HPLC 法同时测定博尔宁胶囊中 5 种成分 [J]. 中成药, 2016, 38(9): 1952-1955.
- [11] 张冬梅. 毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bcl-2/Bax 表达的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1498-1502.
- [12] 胡冬梅, 陆 杨, 房敏峰, 等. 特女贞苷对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1260-1263.
- [13] 武珊珊, 高文远, 段宏泉, 等. 重楼化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 344-347.
- [14] 卢 伟, 潘 梦, 杨光义, 等. 重楼皂苷抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国药师, 2016, 18(9): 304-307.
- [15] 李明慧, 丁 岗, 孟兆青, 等. 龙葵药材中澳洲茄碱、澳洲茄边碱的含量测定 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 360-362.
- [16] 袁海建, 安益强, 陈 彦, 等. 高效液相色谱法测定龙葵中澳洲茄碱的含量 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 5(1): 96-97.
- [17] 单会娇, 张建逵, 许 亮, 等. 24 个产地龙葵中澳洲茄碱的含量测定 [J]. 中成药, 2011, 33(3): 483-485.
- [18] 刘林凤, 高宝益, 高淑红, 等. 龙葵药材质量标准 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 77-79.
- [19] 陈 来, 胡 珺, 李珊珊, 等. 澳洲茄碱对黑色素瘤细胞的抑制作用 [J]. 江西中医药, 2014, 45(12): 29-30.
- [20] 黄幼霞, 黄荣桂, 郑兴中, 等. 迷迭香酸药理作用的研究进展 [J]. 海峡药学, 2010, 22(5): 17-20.
- [21] 刘 凯, 郑海生, 李应东. 大黄酸的药理作用研究述略 [J]. 中医药学刊, 2004, 22(9): 1732-1734.
- [22] 谢 意, 郑礼胜, 雷勇胜. HPLC 法同时测定拨云退翳丸中 10 种指标成分 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3039-3043.