



## 高效液相色谱法同时测定纯阳正气胶囊中3种成分的含量

文艺, 蒙露露, 王宝艺, 韦飞雪, 邓鹏, 柳荣英

### Simultaneous determination of three constituents in Chunyang Zhengqi capsules by HPLC

WEN Yi, MENG Lulu, WANG Baoyi, WEI Feixue, DENG Peng, LIU Rongying

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202201059>

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

#### 用HPLC法同时测定自制复方特比萘酚软膏中3个主药成分的含量

Simultaneous determination of three components in pharmacy compounded terbinafine ointment by HPLC method  
药学实践与服务. 2021, 39(3): 267-269, 279 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202007109

#### 用HPLC法测定百蕊草中3个黄酮苷的含量

Determination of three flavonoid glycosides in *Thesium chinensis* Turcz by HPLC method  
药学实践与服务. 2019, 37(5): 460-463 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.014

#### 高效液相色谱法测定鼻炎灵胶囊中黄芩苷含量

Determination of baicalin in Biyanling capsule by HPLC  
药学实践与服务. 2017, 35(1): 64-66 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.015

#### UHILIC-MS/MS法同时测定复方三维右旋泛酸钙糖浆中5种维生素的含量

Simultaneous determination of 5 B-vitamins in compound trivitamin and calcium pantothenate syrup by UHILIC-MS/MS  
药学实践与服务. 2018, 36(6): 512-517, 528 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.008

#### HPLC法同时测定多效防护霜中盐酸苯海拉明、甲氧基肉桂酸辛酯和水杨酸辛酯的含量

Simultaneous determination of diphenhydramine hydrochloride, octyl methoxycinnamate and octyl salicylate in multi-effect protective cream by HPLC  
药学实践与服务. 2019, 37(6): 508-511 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.06.007

#### 高效液相色谱法测定降脂护肝胶囊中葛根素的含量

Determination of puerarin in Jiangzhi Hupan capsule by HPLC  
药学实践与服务. 2017, 35(3): 259-261 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.016



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

## · 论著 ·

## 高效液相色谱法同时测定纯阳正气胶囊中3种成分的含量

文艺<sup>1</sup>, 蒙露露<sup>2</sup>, 王宝艺<sup>1</sup>, 韦飞雪<sup>1</sup>, 邓鹏<sup>1</sup>, 柳荣英<sup>3</sup> (1. 八加一药业股份有限公司, 广西 桂林 541000; 2. 桂林市食品药品检验所, 广西 桂林 541012; 3. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541000)

**[摘要]** 目的 采用高效液相色谱法建立同时测定纯阳正气胶囊中橙皮苷、桂皮醛和丁香酚含量的方法。方法 色谱柱为 Agilent Poroshe II 120 EC-C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 4 μm), 以乙腈-水为流动相梯度洗脱, 柱温 35℃, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 284 nm。结果 方法学验证表明, 橙皮苷、桂皮醛和丁香酚 3 种成分线性关系良好 ( $r \geq 0.9999$ ), 精密度小于 2.0%, 平均加样回收率在 98.0%~101.9% 之间, 稳定性和重复性的 RSD 均 < 3.0%, 符合方法学要求。结论 该方法简便、稳定、重复性好、准确可靠, 可用于纯阳正气胶囊的质量控制。

**[关键词]** 纯阳正气胶囊; 橙皮苷; 桂皮醛; 丁香酚; 含量测定

**[文章编号]** 2097-2024(2024)02-0078-04

**[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202201059

## Simultaneous determination of three constituents in Chunyang Zhengqi capsules by HPLC

WEN Yi<sup>1</sup>, MENG Lulu<sup>2</sup>, WANG Baoyi<sup>1</sup>, WEI Feixue<sup>1</sup>, DENG Peng<sup>1</sup>, LIU Rongying<sup>3</sup> (1. Eight Plus One Pharmaceutical Co., Ltd, Guilin 541000, China; 2. Guilin Food and Drug Control Institute, Guilin 541012, China; 3. School of Pharmacy, Guilin Medical College, Guilin 541000, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish method for simultaneous determination of hesperidin, cinnamaldehyde and eugenol in Chunyang Zhengqi capsules by high performance liquid chromatography. **Methods** The column was Agilent Poroshe II 120 EC-C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 4 μm). The mobile phase was acetonitrile-water with gradient elution. The column temperature was 35℃. The flow rate was 1.0 ml/min, and the detection wavelength was 284 nm. **Results** The methodological verification showed that hesperidin, cinnamaldehyde and eugenol had a good linearity ( $r \geq 0.9999$ ). The precisions were less than 2.0%. The average recovery was between 98.0% and 101.9%. The stability and repeatability of RSD were also less than 3.0%, which met the requirements of method validation. **Conclusion** The method is simple, stable, reproducible and accurate, which could be used to the quality control of Chunyang Zhengqi capsules.

**[Key words]** Chunyang Zhengqi capsules; hesperidin; cinnamaldehyde; eugenol; content determination

纯阳正气胶囊是由广藿香、姜半夏、土木香、陈皮、丁香、肉桂、苍术、白术、茯苓等十七味中药制成的胶囊剂, 主要用于治疗暑天感寒受湿、腹痛吐泻、胸膈胀痛、头痛恶寒、肢体酸重。纯阳正气胶囊是药典中收录的纯阳正气丸<sup>[1]</sup>的改良剂型, 现代医学多用于改善肠胃功能、止泻等急性肠胃炎症状, 其处方来源于晚清医书《饲鹤亭集方》, 其中的陈皮理气健脾, 活性成分橙皮苷可调节肠道菌群<sup>[2]</sup>、抑制肠道炎症<sup>[3]</sup>; 肉桂能改善消化系统, 活性成分桂

皮醛抗溃疡、抗菌<sup>[4]</sup>; 丁香温中、暖肾、降逆, 活性成分丁香酚抑菌、镇痛<sup>[5]</sup>; 各处方药材药性相辅相成。纯阳正气胶囊参照纯阳正气丸在质量标准的含量测定项下均只有橙皮苷的测定, 不能全面评价该制剂的质量。多组分的定量分析已成为中成药质量控制的有效手段<sup>[6-7]</sup>。本研究采用高效液相色谱法(HPLC)同时对纯阳正气胶囊中的橙皮苷、桂皮醛和丁香酚这3个活性成分进行测定, 完善其质量控制方法, 为纯阳正气胶囊质量标准的提升提供了依据。

### 1 仪器和试剂

#### 1.1 仪器

Agilent1260 Infinity 型高效液相色谱仪、DAD 检测器 (Agilent Technologies 公司); XS205DU 型

**[基金项目]** 广西科技重大专项 (桂科 AA17292009); 桂林市“1020”创新驱动计划重大攻关(20170205)

**[作者简介]** 文艺, 本科, 工程师, 研究方向: 药物制剂研发与质量控制, Email: 37719169@qq.com

**[通信作者]** 蒙露露, 本科, 药师, 研究方向: 药物分析, Email: 564728582@qq.com; 王宝艺, 本科, 工程师, 研究方向: 药物制剂研发与质量控制, Email: wangby.81@pharm81.com

电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-600E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

## 1.2 试药

纯阳正气胶囊(批号:200901、201201、210201、211001,八加一药业股份有限公司);橙皮苷对照品(批号:110721-202019)、桂皮醛对照品(批号:110710-201821)、丁香酚对照品(批号:110725-201917)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯,Merck公司);其他试剂均为分析纯;水为去离子水。

## 2 方法和结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为Agilent Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm,4 μm);流动相为乙腈-水,梯度洗脱程序为0~5 min,15%乙腈;5~10 min,15%~25%乙腈;10~12 min,25%~50%乙腈;12~16 min,50%~15%乙腈;柱温为35℃;检测波长为284 nm;流速为1.0 ml/min,进样量为10 μl。

### 2.2 对照品溶液的制备

取橙皮苷、桂皮醛和丁香酚对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成浓度为1125、510、991 μg/ml的标准储备液。精密吸取橙皮苷储备液5 ml、桂皮醛储备液1.25 ml、丁香酚储备液4 ml置于同一25 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,制成混合对照品储备液。精密吸取上述混合对照品储备液适量,加甲醇稀释制成含橙皮苷36 μg/ml、桂皮醛4.08 μg/ml和丁香酚25.37 μg/ml的混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

取本品10粒内容物研磨均匀,取粉末约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,密塞,称定重量,超声20 min,放冷至室温,用甲醇补足减失重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.4 阴性对照溶液的制备

按纯阳正气胶囊处方及制剂工艺,分别制成缺陈皮、缺肉桂和缺丁香的阴性样品,取阴性样品按“2.3”项下供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

### 2.5 专属性及系统适用性考察

分别取混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按“2.1”项下的色谱条件进样,记录色谱图及相关参数。橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的保留时间依次为6.983、10.399、11.729 min,分离度均大于1.5,理论塔板数按橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的峰计

算分别为54733、59111和83997,且阴性样品在对照品相应位置没有吸收峰,表明其他成分对测定无干扰,结果见图1。

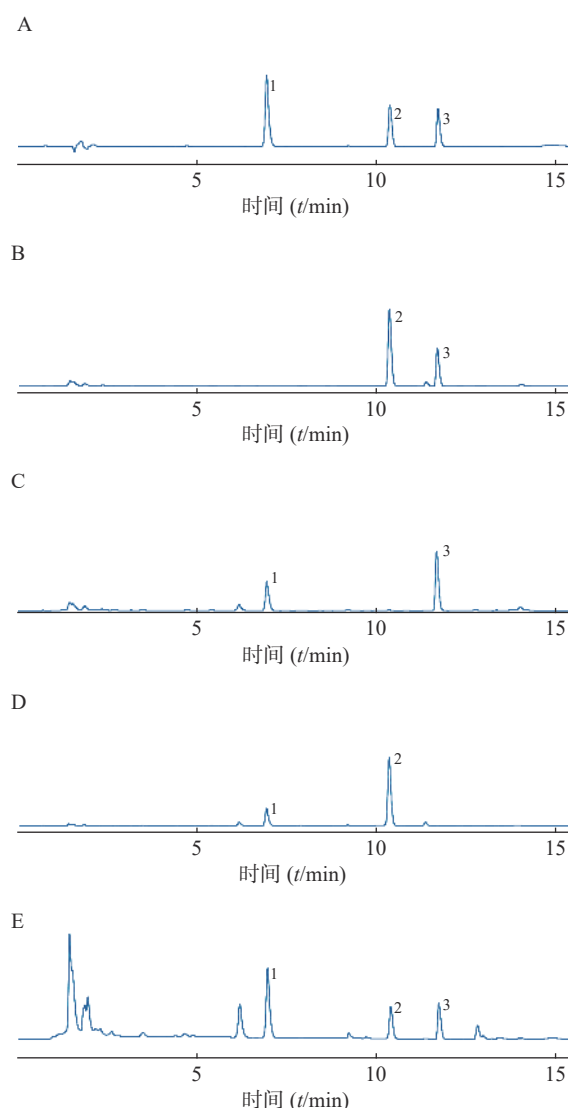


图1 纯阳正气胶囊 HPLC 图

A.混合对照品;B.缺陈皮阴性对照;C.缺肉桂阴性对照;D.缺丁香阴性对照;E.供试品;1.橙皮苷;2.桂皮醛;3.丁香酚

### 2.6 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下的混合对照品储备液0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 ml,置10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,按“2.1”项下的色谱条件进行测定。以峰面积Y对浓度X(μg/ml)进行线性回归,结果见表1。

表1 线性关系考察结果

成分	回归方程	相关系数r	浓度范围(μg/ml)
橙皮苷	$Y=17.995X-8.5625$	0.9999	9.00~144.00
桂皮醛	$Y=85.799X-4.5451$	0.9999	1.02~16.32
丁香酚	$Y=11.864X-8.1321$	0.9999	6.34~101.48

### 2.7 精密度试验

取“2.2”项下制备的混合对照品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的峰面积RSD分别为1.21%、1.14%、0.96%( $n=6$ ),表明该方法精密度良好。

### 2.8 稳定性试验

取“2.3”项下制备的供试品溶液(批号:210201),分别于0、2、4、6、8、12、24 h按“2.1”项下的色谱条件测定,记录峰面积。结果橙皮苷、桂皮醛和丁香酚峰面积的RSD分别为1.28%、1.38%、2.77%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

### 2.9 重复性试验

取同一批次的纯阳正气胶囊(批号:210201)6份,按“2.3”项制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定,记录色谱峰面积并计算含量。结果橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的平均含量分别为4.14、0.45、3.06 mg/g, RSD分别为1.43%、1.71%、1.63% ( $n=6$ ),表明该方法的重复性良好。

### 2.10 加样回收率试验

取已知含量的同一批次的纯阳正气胶囊9份(批号:210201),每份约0.1 g,分别精密加入混合对照品储备液适量,配制成低、中、高3个不同浓度的回收率溶液,每个浓度3份,按“2.3”项下供试品溶液的制备方法操作,按“2.1”项下的色谱条件测定,记录峰面积并计算回收率。结果显示,橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的平均回收率分别为101.9%、98.0%、101.2%,RSD值分别为2.3%、1.6%、2.3% ( $n=9$ )。

### 2.11 样品含量测定

取4批样品,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱峰面积并计算含量,结果见表2。

表2 4批次样品含量测定结果(mg/g,  $n=3$ )

批号	橙皮苷	桂皮醛	丁香酚
200901	5.04	0.63	3.62
201201	6.30	0.88	3.33
210201	4.14	0.45	3.06
211001	4.56	0.81	3.74

## 3 讨论

### 3.1 色谱条件的选择

对于流动相的选择,本实验参考相关研究分别考察了乙腈-0.5%磷酸溶液<sup>[8]</sup>、甲醇-水<sup>[9]</sup>、乙腈-水<sup>[10]</sup>作为流动相时对橙皮苷、桂皮醛、丁香酚色谱峰的

影响。其中,乙腈-0.5%磷酸流动相无法使3种成分分离;甲醇-水流动相峰形矮且不尖锐,基线不平稳;乙腈-水流动相效果最佳,3种成分分离度均大于1.5,峰形良好。对于检测波长的选择,DAD检测器全波长扫描显示橙皮苷、桂皮醛、丁香酚分别在282、290、284 nm波长处有最大吸收,3种成分最大吸收波长相近,故选择284 nm作为检测波长,不影响3种成分的吸收。

### 3.2 提取条件的考察

纯阳正气丸对橙皮苷的含量测定采用了加热回流的方法,因此本实验分别考察了回流和超声两种提取方式。加热回流提取时桂皮醛含量的RSD较大,回收率差,考虑桂皮醛属于易挥发性物质<sup>[11]</sup>,受温度影响大,文献<sup>[12]</sup>报道也多以超声提取为主,最终选择以超声作为提取方式,分别考察了超声时间和提取溶剂。分别比较20、30、40 min超声的提取效果,20 min为最佳提取时间;考虑橙皮苷、桂皮醛和丁香酚在溶剂中的溶解度,分别比较了甲醇、乙醇、稀乙醇和50%乙醇的提取效果,结果显示甲醇提取时指标成分含量较高,且无峰干扰,提取效果好。最后确定以甲醇作为提取溶剂,超声提取20 min的提取方法,简单便捷、结果准确。

### 3.3 含量测定结果分析

对4批纯阳正气胶囊中橙皮苷、桂皮醛和丁香酚的含量进行分析,结果显示不同批次样品橙皮苷和桂皮醛的含量差异较大,丁香酚的含量波动较小,这有可能与不同来源和不同批次药材的质量有关,这提示我们在制订含量限度的时候除了要控制工艺,还要充分考虑药材对终产品的影响,本次试验只测定了4批不同批次的纯阳正气胶囊样品,后续将增加更多不同批次的样品进行测定研究,提升纯阳正气胶囊的质量标准。

### 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版)一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1094.
- [2] 张蔚. 二氢黄酮苷及异黄酮苷与人体肠道细菌的相互作用研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [3] 张恒, 饶坤林, 向韩. 橙皮苷药理活性研究进展[J]. 中南药学, 2016, 14(10): 1097-1100.
- [4] 张利青, 张占刚, 付岩, 等. 桂皮醛药理作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4568-4572.
- [5] 孔晓军, 刘希望, 李剑勇, 等. 丁香酚的药理学作用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(3): 508-511.
- [6] 吴博, 王铁柱, 拜年, 等. 用反相高效液相色谱法同时测定复

- 方酮康唑软膏中三组分的含量[J]. 药学实践杂志, 2021, 39(2): 152-156.
- [7] 徐阳, 单柏宇, 徐伟男, 等. HPLC-DAD法同时测定宁泌泰胶囊中5个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 1042-1047.
- [8] 李柯, 杨蕾, 孟令嘉, 等. RP-HPLC法同时测定五味清浊散中3种成分的含量[J]. 实用药物与临床, 2020, 23(8): 744-747.
- [9] 王也, 裘国丽, 黄华. 高效液相色谱法测定丁桂儿脐贴中丁香酚和桂皮醛含量[J]. 中国药业, 2011, 20(10): 43-44.
- [10] 刘光斌, 毛和平, 姜芳宁, 等. HPLC法测定和胃散中桂皮醛的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 67-68.
- [11] 冯有龙, 房方, 尚姝, 等. HPLC法测定泽桂癯爽胶囊中桂皮醛含量[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 55-57.
- [12] 石燕飞. HPLC法测定纯阳正气胶囊中橙皮苷和桂皮醛的含量[J]. 解放军药学学报, 2014, 30(5): 412-415.
- [收稿日期] 2022-01-17 [修回日期] 2022-06-21  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第77页)

- [8] 李廷廷, 张娜. 纳米金的表面修饰及其在抗肿瘤中的应用[J]. 药物生物技术, 2015, 22(2): 160-164.
- [9] KIM H S, YOON S, SON Y J, et al. High-yield clicking and dissociation of doxorubicin nanoclusters exhibiting differential cellular uptakes and imaging[J]. *J Control Release*, 2015, 217: 64-73.
- [10] 胡瑞省, 刘善堂, 朱涛, 等. 金纳米粒子通过形成 Au-S 键的组装[J]. 物理化学学报, 1999, 15(11): 961-965.
- [11] RUAN S B, YUAN M Q, ZHANG L, et al. Tumor microenvironment sensitive doxorubicin delivery and release to glioma using angiopep-2 decorated gold nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2015, 37: 425-435.
- [12] SUN G Y, DU Y C, CUI Y X, et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase-catalyzed preparation of pH-responsive DNA nanocarriers for tumor-targeted drug delivery and therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(16): 14684-14692.
- [13] CUN X L, CHEN J T, RUAN S B, et al. A novel strategy through combining iRGD peptide with tumor-microenvironment-responsive and multistage nanoparticles for deep tumor penetration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(49): 27458-27466.
- [14] SUARASAN S, CRACIUN A M, LICARETE E, et al. Intracellular dynamic disentangling of doxorubicin release from luminescent nanogold carriers by fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) under two-photon excitation[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(8): 7812-7822.
- [15] ZHANG Z M, GAO P C, WANG Z F, et al. DNA-caged gold nanoparticles for controlled release of doxorubicin triggered by a DNA enzyme and pH[J]. *Chem Commun*, 2015, 51(65): 12996-12999.
- [16] HE H, MENG S, LI H M, et al. Nanoplatfrom based on GSH-responsive mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy and mitochondrial targeted imaging[J]. *Mikrochim Acta*, 2021, 188(5): 154.
- [17] COELHO S C, REIS D P, PEREIRA M C, et al. Doxorubicin and varlitinib delivery by functionalized gold nanoparticles against human pancreatic adenocarcinoma[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(11): 551.
- [收稿日期] 2023-08-21 [修回日期] 2023-10-19  
[本文编辑] 陈盛新