

安胃疡胶囊化学成分鉴定及3种成分测定

王文亭¹, 卿德刚², 倪慧², 孙宇², 张娟^{2*}, 贾晓光²

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046; 2. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆乌鲁木齐 830002)

摘要: 目的 通过 HPLC 法鉴定安胃疡胶囊(甘草黄酮类化合物)的化学成分,并测定其中3种成分的含有量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Kinetex 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 2.6 μm);流动相乙腈-0.1% 甲酸,梯度洗脱;检测波长 280 nm(化学成分鉴定)、310 nm(甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B)、254 nm(甘草次酸);柱温 30 ℃;体积流量 1.0 mL/min。结果 安胃疡胶囊中有9种黄酮成分和1种三萜成分,其中甘草查耳酮甲的响应最高。甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B、甘草次酸在各自范围内均呈现良好的线性关系,平均加样回收率分别为 102.9%、96.4%、104.4%(RSD<2.01%)。结论 该方法准确可靠,重复性良好,可用于安胃疡胶囊质量评价。

关键词: 安胃疡胶囊;鉴定;甘草查耳酮甲;甘草黄酮 B;甘草次酸;HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)10-2176-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.016

Identification of chemical constituents in Anweiyang Capsules and determination of three components

WANG Wen-ting¹, QING De-gang², NI Hui², SUN Yu², ZHANG Juan^{2*}, JIA Xiao-guang²

(1. College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2. Xinjiang Uygur Autonomous Regional Institute of Chinese Materia Medica and Ethical Materia Medica, Urumqi 830002, China)

ABSTRACT: **AIM** To identify the chemical constituents in Anweiyang Capsules (a medication to relieve stomach ulcer, containing flavonoids from *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*) by HPLC and to determine the contents of three components. **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Kinetex column (150 mm×4.6 mm, 2.6 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% methanoic acid flowing at a rate of 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 280 nm for identification of chemical constituents, 310 nm for licochalcone A and licoflaven B, and 254 nm for glycyrrhetic acid. **RESULTS** There were nine flavonoids and one triterpenoid in Anweiyang Capsules, among which licochalcone A got the highest response value. Licochalcone A, licoflaven B and glycyrrhetic acid showed good linear relationships within their own ranges, whose average recoveries were 102.9%, 96.4% and 104.4% (RSD<2.01%), respectively. **CONCLUSION** With good reproducibility, this accurate and reliable method can be used for the quality control of Anweiyang Capsules.

KEY WORDS: Anweiyang Capsules; identification; licochalcone A; licoflaven B; glycyrrhetic acid; HPLC

安胃疡胶囊为国家二类新药,其主要成分为甘草黄酮类化合物,具有补中益气、解毒生肌的功效,主要用于胃及十二指肠球部溃疡的治疗。但《中国药典》2010、2015年版均没有收载该药物的

收稿日期: 2015-12-13

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技支撑计划项目(201333102)

作者简介: 王文亭(1989—),女,硕士生,研究方向为食品科学。Tel:(0991)8855334, E-mail: 786055475@qq.com

*通信作者: 张娟(1983—),女,硕士,副研究员,从事天然药物分析及相关制剂研究。Tel:(0991)8855334, E-mail: 372627151@

qq.com

质量控制标准^[1-2]，仅采用碱提酸沉的重量法进行含有量测定^[3]，不仅无法明确其主要成分及含有量，而在一定程度上会导致其质量的不确定性，尤其是甘草来源的复杂性和原料品质的较大差异更加剧了这一现象。查阅文献发现，有关安胃疡胶囊化学成分的整体系统分析控制研究和实际应用也鲜有报道^[4-5]。

安胃疡胶囊主要成分为甘草黄酮类化合物，其中甘草苷、甘草素等是已知的重要黄酮成分，具有抗溃疡、抗炎、解痉、镇痛等作用。但成分分析表明，该药物中并不含有甘草苷，而是以甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B、甘草查耳酮 C、 $\alpha, 2', 4, 4'$ -四羟基查耳酮醇、光甘草酮等为主，同时甘草酸铵的响应很低，但含有另一种抗炎、抗溃疡的三萜类成分——甘草次酸，故建立质量控制方法前首先需明确其化学成分。本实验以前期研究结果^[6-10]为基础，对安胃疡胶囊中的化学成分进行指认，并在双波长条件下测定其中甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B 和甘草次酸的含有量，以期为该药物的质量控制提供有效方法。

1 仪器与材料

Waters e2695 高效液相色谱仪，配置 Waters 2998PDA 检测器（美国 Waters 公司）；JY92-2D 超声波清洗仪（昆山市超声仪器有限公司）；Mettler AE163 电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。乙腈、甲醇为色谱纯；水为超纯水；其他试剂均为分析纯。 $\alpha, 2', 4, 4'$ -四羟基查耳酮醇、刺甘草查耳酮、芒柄花素、 $2', 4, 4'$ -三羟基查耳酮、甘草黄酮 C、甘草查耳酮 C、甘草查耳酮甲、光甘草酮、甘草黄酮 B（自制，其中甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B 含有量 > 98%）；甘草苷（批号 111610-201106）、甘草次酸（批号 1063-050327）、甘草酸铵（批号 110731-201317）对照品（中国食品药品检定研究院）。安胃疡胶囊（批号 20120901、20140603、20140506、20150403、2150404，新疆全安药业有限公司；批号 150501、150 502、150503，九惠制药股份有限公司）。

2 方法

2.1 色谱条件 Kinetex 色谱柱（150 mm × 4.6 mm，2.6 μm ）；流动相乙腈-0.1% 甲酸，梯度洗脱（程序见表 1）；检测波长 280 nm（化学成分鉴定）、310 nm（甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B）、254 nm（甘草次酸）；柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ ；体积流量 1.0 mL/min。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

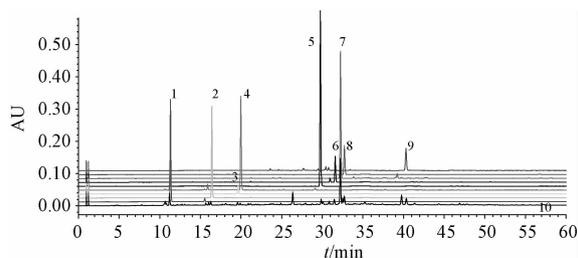
时间/min	乙腈/%	0.1% 甲酸/%
0	15	85
34	47	53
36	47	53
60	60	40

2.2 供试品溶液的制备 精密称取安胃疡胶囊内容物适量，甲醇溶解并定容至 25 mL，过滤，取续滤液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取 $\alpha, 2', 4, 4'$ -四羟基查耳酮醇、刺甘草查耳酮、芒柄花素、 $2', 4, 4'$ -三羟基查耳酮、甘草黄酮 C、甘草查耳酮 C、甘草查耳酮甲、光甘草酮、甘草黄酮 B、甘草苷、甘草酸铵、甘草次酸适量，分别配制成 0.130、0.190、0.043、0.310、0.180、0.135、0.282、0.300、0.193、0.021、0.208 5、0.062 8 mg/mL 对照品贮备液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

3 结果

3.1 化学成分鉴定 280 nm 波长下能更全面地反映安胃疡胶囊中各种成分。与相应对照品比对后，确认其中含有 $\alpha, 2', 4, 4'$ -四羟基查耳酮醇、刺甘草查耳酮、芒柄花素、 $2', 4, 4'$ -三羟基查耳酮、甘草黄酮 C、甘草查耳酮 C、甘草查耳酮甲、光甘草酮、甘草黄酮 B 这 9 种黄酮成分（图 1），其中甘草查耳酮甲的响应最高。



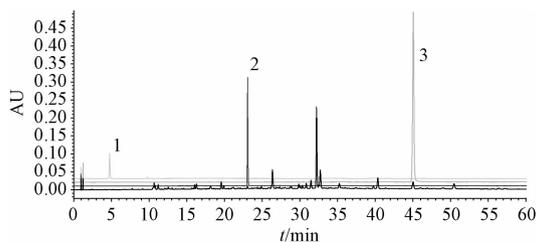
- 1. $\alpha, 2', 4, 4'$ -四羟基查耳酮醇 2. 刺甘草查耳酮 3. 芒柄花素
- 4. $2', 4, 4'$ -三羟基查耳酮 5. 甘草黄酮 C 6. 甘草查耳酮 C
- 7. 甘草查耳酮甲 8. 光甘草酮 9. 甘草黄酮 B 10. 安胃疡胶囊

图 1 HPLC 色谱图 (280 nm)

Fig. 1 HPLC chromatogram (280 nm)

在 254 nm 波长下发现，安胃疡胶囊中还含有抗炎、抗溃疡三萜类成分——甘草次酸，但在 280、254 nm 波长下均未发现甘草中的指标成分甘

草苷^[2], 甘草酸铵的响应也很低(图2)。因此, 本实验以响应高、分离效果好的甘草查耳酮甲、甘草黄酮B、甘草次酸为指标, 进行了含有量测定。



1. 甘草苷 2. 甘草酸铵 3. 甘草次酸
1. liquiritin 2. ammonium glycyrrhizinate 3. glycyrrhetic acid

图2 HPLC 色谱图 (254 nm)

Fig. 2 HPLC chromatogram (254 nm)

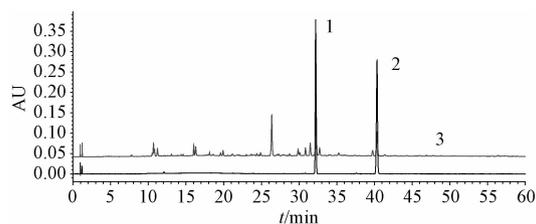
3.2 方法学考察

3.2.1 线性关系 精密吸取 0.282、0.193、0.062 8 mg/mL 甘草查耳酮甲、甘草黄酮B、甘草次酸对照品溶液 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 μ L, 以进样量为纵坐标 (Y), 峰面积为横坐标 (X) 绘制标准曲线。结果见表2、图3~4。

表2 3种成分的线性关系

Tab. 2 Linear relationships of three constituents

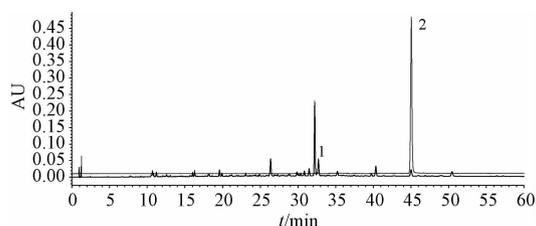
成分	标准曲线	线性范围/ μ g	r
甘草查耳酮甲	$Y = 6 \times 10^{-7}X + 0.0425$	0.5527 ~ 2.2109	0.9998
甘草黄酮B	$Y = 4 \times 10^{-7}X + 0.069$	0.1891 ~ 1.5131	0.9990
甘草次酸	$Y = 7 \times 10^{-7}X + 0.0753$	0.1231 ~ 0.6154	0.9991



1. 甘草查耳酮甲 2. 甘草黄酮B 3. 安胃疡胶囊
1. licochalcone A 2. licoflavone B 3. Anweiyang Capsules

图3 HPLC 色谱图 (310 nm)

Fig. 3 HPLC chromatogram (310 nm)



1. 安胃疡胶囊 2. 甘草次酸
1. Anweiyang Capsules 2. glycyrrhetic acid

图4 HPLC 色谱图 (254 nm)

Fig. 4 HPLC chromatogram (254 nm)

3.2.2 精密度试验 取安胃疡胶囊(批号20120901), 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下连续测定5次, 测得3种成分含有量RSD分别为2.36%、0.72%、1.69%, 表明仪器精密度良好。

3.2.3 重复性试验 取安胃疡胶囊(批号20120901)6份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 测得3种成分含有量RSD分别为2.15%、2.67%、3.47%, 表明该方法重复性良好。

3.2.4 稳定性试验 取安胃疡胶囊(批号20120901), 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 放置0、3、6、10、15、24 h后进行测定, 测得3种成分含有量RSD分别为2.08%、2.25%、3.40%, 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

3.2.5 加样回收率试验 精密称取甘草查耳酮甲、甘草黄酮B、甘草次酸含有量已知的安胃疡胶囊(批号20120901)6份, 加入“2.3”项下对照品溶液1 mL(甘草查耳酮甲0.282 mg/mL、甘草黄酮B0.193 mg/mL、甘草次酸0.062 8 mg/mL), 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 计算加样回收率, 结果见表3。

表3 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 3 Results of recovery tests (n=6)

成分	称样量/原有量/加入量/测得量/回收率/平均回收率/%					
	mg	mg	mg	mg	%	
甘草查耳酮甲	4.37	0.5685	0.2820	0.8565	102.13	102.90 (2.01)
	4.41	0.5737	0.2820	0.8534	99.18	
	4.27	0.5555	0.2820	0.8504	104.57	
	2.19	0.2849	0.2820	0.5785	104.11	
	2.23	0.2901	0.2820	0.5800	102.80	
	2.14	0.2784	0.2820	0.5733	104.57	
甘草黄酮B	13.43	0.3734	0.1930	0.5572	95.23	96.40 (1.11)
	14.02	0.3898	0.1930	0.5731	94.97	
	13.97	0.3884	0.1930	0.5756	96.99	
	7.21	0.2004	0.1930	0.3884	97.41	
	7.09	0.1971	0.1930	0.3832	96.42	
	7.11	0.1977	0.1930	0.3856	97.36	
甘草次酸	5.47	0.1236	0.0628	0.1896	105.10	104.40 (1.78)
	5.54	0.1252	0.0628	0.1909	104.62	
	5.30	0.1198	0.0628	0.1865	106.21	
	2.87	0.0648	0.0628	0.1307	104.94	
	2.73	0.0627	0.0628	0.1260	100.80	
	2.73	0.0627	0.0628	0.1285	104.78	

3.2.6 含有量测定 结果见表4。

4 结论

本实验鉴定了安胃疡胶囊中9种黄酮成分及1

表 4 含有量测定结果

Tab. 4 Results of content determination

批号(新疆全安药业 有限公司)	甘草查耳 酮甲/%	甘草黄酮 B/ %	甘草次酸/ %
20120901	13.01	2.78	2.26
20140506	13.02	2.50	2.65
20140603	14.64	2.53	2.12
20150403	12.13	2.09	2.81
20150404	11.91	2.18	2.47
平均值	12.94	2.42	2.43
批号(九惠制药股份 有限公司)	甘草查耳 酮甲/%	甘草黄 酮 B/%	甘草次酸/ %
150501	10.93	2.33	2.28
150502	12.21	1.97	1.99
150503	11.97	2.01	2.41
平均值	11.70	2.10	2.23

种三萜类成分,其主要黄酮成分为甘草查耳酮甲,同时含有抗炎、抗溃疡三萜类成分——甘草次酸,但 HPLC 分析显示不含有甘草苷这一甘草中的指标成分^[2]。已有专利报道^[5],20 批安胃疡胶囊中仅有 2009 年产的 10 批检出甘草苷,其余均为痕量检出或未检出,故将甘草苷定义为非共有峰,与本实验结论相符,该专利以甘草查耳酮甲、芒柄花素、甘草酸为共有峰进行指纹图谱分析,而本实验发现,甘草酸铵、芒柄花素响应都很小,故未进行检测,而是选择响应较大、分离效果较好的甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B、甘草次酸进行含有量测定。

安胃疡胶囊是由水提取过的甘草浸膏和甘草酸粉残留的药渣制备而得^[5],水煮过程中甘草苷和甘草酸被提走,故未检出或痕量检出两者,也与制备工艺相符。该专利检测了 2008 年(3 批)、2009 年(14 批)、2010 年(3 批)生产的安胃疡胶囊,而本实验检测了 2012 年后的生产样品,这种结果

的差异是否由原料、生产工艺或其他因素所带来的还有待确认,同时这也进一步证明了建立更具针对性的安胃疡胶囊质量控制方法的必要性。

本实验建立了同时测定甘草查耳酮甲、甘草黄酮 B、甘草次酸含有量的方法,方法学研究表明,其准确可靠,可行性及重复性良好。本文检测了两个厂家生产的 8 批安胃疡胶囊,选择指标具有一定代表性,可为该药物质量控制的建立提供依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版二部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 80-81.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版二部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 86-87.

[3] 国家药典委员会. 国家药品标准(新药转正标准): 第 16 至 26 册[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 22-27.

[4] 唐素芳, 彭一峰, 杨应梅. 指纹图谱技术在安胃疡及其制剂中的应用探讨[J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(16): 19.

[5] 新疆全安药业有限公司. 安胃疡胶囊指纹图谱的建立方法: 中国, 201210156974. X[P]. 2012-09-19.

[6] 李 宁, 刘 芬, 倪 慧, 等. 新疆胀果甘草化学成分的分 离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(5): 368-370.

[7] 刘 芬, 倪 慧, 卿德刚, 等. 甘草药渣化学成分的分 离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2011, 21(4): 312-314.

[8] 张 娟, 刘 芬, 李 宁, 等. UPLC-TOF-MS 鉴定胀果甘 草药渣中的黄酮类成分[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 593-596.

[9] 张 娟, 倪 慧, 卿德刚, 等. HPLC 法指认甘草废渣中 黄酮类成分及含量测定[J]. 中国中医药科技, 2012, 19(3): 233-234.

[10] 吴 涛, 卿德刚, 倪 慧, 等. HPLC 检测甘草渣中黄酮 含量[J]. 新疆中医药, 2009, 27(3): 42-43.