

[质 量]

## HPLC法同时测定前列消胶囊中9种成分

焦 健<sup>1</sup>, 董 伟<sup>1</sup>, 赵善冬<sup>1</sup>, 任维鑫<sup>1</sup>, 张 超<sup>2\*</sup>

(1. 济南市人民医院, 山东 济南 271199; 2. 山东中医药大学中药学院, 山东 济南 250355)

**摘要:** **目的** 建立HPLC法同时测定前列消胶囊(虎杖、土茯苓、泽泻等)中虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B的含有量。**方法** 该药物60%乙醇提取液的分析采用Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1%冰醋酸, 梯度洗脱; 体积流量1.0 mL/min; 柱温30 ℃; 检测波长208、291 nm。**结果** 9种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.999 2$ ), 平均加样回收率96.94%~100.09%, RSD 0.77%~1.42%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于前列消胶囊的质量控制。

**关键词:** 前列消胶囊; 化学成分; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2566-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.005

## Simultaneous determination of nine constituents in Qianliexiao Capsules by HPLC

JIAO Jian<sup>1</sup>, DONG Wei<sup>1</sup>, ZHAO Shan-dong<sup>1</sup>, REN Wei-xin<sup>1</sup>, ZHANG Chao<sup>2\*</sup>

(1. Jinan Municipal People's Hospital, Jinan 271199, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of polydatin, astilbin, taxifolin, engeletin, alisol F, alisol A, 24-acetate alisol A, alisol G and 23-acetate alisol B in Qianliexiao Capsules (*Polygoni cuspidati Rhizoma et Radix, Smilacis glabrae Rhizoma, Alismatis Rhizoma, etc.*). **METHODS**

The analysis of 60% ethanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% glacial acetic acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 208, 291 nm. **RESULTS** Nine constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.999 2$ ), whose average recoveries were 96.94%-100.09% with the RSDs of 0.77%–1.42%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Qianliexiao Capsules.

**KEY WORDS:** Qianliexiao Capsules; chemical constituents; HPLC

前列消胶囊由虎杖、土茯苓、泽泻、鹿茸、金樱子等11味药材加工而成, 临床上主要用于尿频、尿急、尿涩痛、小便淋漓不尽、腰膝酸软等前列腺炎属下焦湿热证的治疗<sup>[1]</sup>, 可明显缓解慢性前列腺炎患者临床症状, 疗效显著<sup>[2]</sup>。但该制剂现行质量标准仅对大黄酸进行定量分析, 而该成分来源广泛, 专属性不强, 难以全面控制质量。

中药及其制剂组成多样, 作用机理复杂, 通过

多种成分之间的协同作用来达到临床疗效, 故多指标成分检测模式近年来已逐步应用于其质量控制中。虎杖苷为虎杖特征成分, 具有保护心血管系统、抗氧化、提高机体免疫力的作用<sup>[3-4]</sup>; 落新妇苷、花旗松素、黄杞苷等黄酮为土茯苓主要成分, 具有利尿、镇痛、抗炎、抗氧化、免疫抑制、抗肿瘤等作用<sup>[5-6]</sup>; 泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B等三萜为泽泻

收稿日期: 2020-04-13

作者简介: 焦 健(1983—), 男, 主管药师, 从事中药质量控制等医院药学研究。Tel: 13563408505

\* 通信作者: 张 超(1982—), 男, 博士, 副教授, 从事中药学研究。Tel: (0531) 89628590, E-mail: tougaotcm@126.com

药效成分,具有利尿、降脂、降糖、降血压等药理作用<sup>[7-8]</sup>。本实验参考中药质量标志物确定原则,采用HPLC法测定前列消胶囊中君药虎杖特征成分虎杖苷,臣药土茯苓主要活性成分落新妇苷、花旗松素、黄杞苷,佐药泽泻代表性成分泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B的含有量,以期为全面评价该制剂质量提供依据。

### 1 材料

1.1 仪器 UltiMate3000型高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);XPR205D5/AC型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);SB-800DT型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 试剂与药物 23-乙酰泽泻醇B(批号111846-201705,纯度99.7%)、落新妇苷(批号111798-201805,纯度93.6%)、花旗松素(批号111816-201102,纯度98.9%)、黄杞苷(批号111906-201102,纯度93.7%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;虎杖苷(批号PRF8071241,纯度98.8%)、泽泻醇A(批号14112903,纯度98.5%)、24-乙酰泽泻醇A(批号PRF8050342,纯度99.6%)对照品均购自成都普瑞法科技开发有限公司;泽泻醇F(批号CFS201701,纯度98.0%)、泽泻醇G(批号CFS201702,纯度98.0%)对照品均购自武汉天植生物技术有限公司。前列消胶囊(每粒装0.3g,批号20190107、20190302、20190405)购自吉林省德商药业股份有限公司。乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B对照品适量,60%乙醇制成各成分质量浓度分别为1.568、3.092、0.476、1.318、0.132、0.354、0.182、

0.116、1.172 mg/mL的贮备液,各精密吸取2.5 mL,置于同一50 mL量瓶中,60%乙醇定容至刻度,即得(各成分质量浓度分别为78.4、154.6、23.8、65.9、6.6、17.7、9.1、5.8、58.6 μg/mL)。

2.2 供试品溶液制备 取胶囊数粒,倾出内容物后研成细粉,精密称取2.0 g,精密加入25 mL 60%乙醇,称定质量,超声提取30 min,放冷,60%乙醇补足减失的质量,滤过,即得。

2.3 阴性样品溶液 按胶囊处方工艺,分别制备缺虎杖、缺土茯苓、缺泽泻的阴性样品,按“2.2”项下方法制备,即得。

2.4 色谱条件 Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1%冰醋酸(B),梯度洗脱(0~12.0 min, 20.0% A; 12.0~18.0 min, 20.0%~25.0% A; 18.0~34.0 min, 25.0%~30.0% A; 34.0~39.0 min, 30.0%~55.0% A; 39.0~58.0 min, 55.0%~80.0% A; 58.0~65.0 min, 80.0%~20.0% A);体积流量1.0 mL/min;柱温30℃;0~34.0 min在291 nm波长处检测虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷<sup>[9-10]</sup>,34.0~65.0 min在208 nm波长处检测泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B<sup>[11-12]</sup>;进样量10 μL。

### 2.5 方法学考察

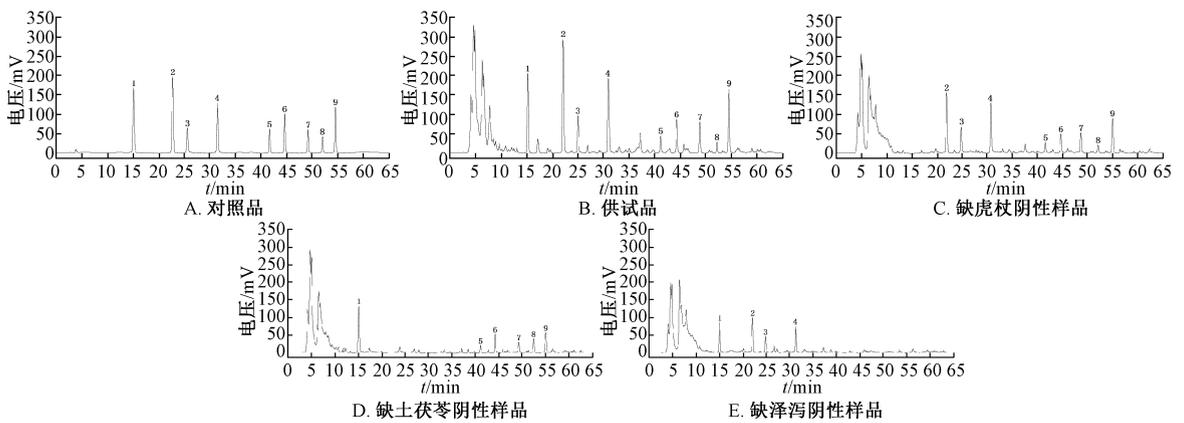
2.5.1 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量,在“2.4”项色谱条件下进样测定,结果见图1。由此可知,各成分色谱峰峰形对称,与相邻峰均能有效分离,分离度均大于1.5,理论塔板数按各成分计均不小于4 000,阴性无干扰。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取“2.1”项下贮备液2.0 mL,60%乙醇定容至20 mL,精密吸取适量,60%乙醇依次稀释2、5、10、15、20倍,在“2.4”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表1,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
虎杖苷	$Y = 8.398 \times 10^5 X + 466.7$	0.999 5	7.84~156.80
落新妇苷	$Y = 6.142 \times 10^5 X - 571.4$	0.999 8	15.46~309.20
花旗松素	$Y = 1.021 \times 10^6 X + 886.2$	0.999 4	2.38~47.60
黄杞苷	$Y = 8.159 \times 10^5 X + 423.9$	0.999 7	6.59~131.80
泽泻醇F	$Y = 7.024 \times 10^5 X + 625.7$	0.999 2	0.66~13.20
泽泻醇A	$Y = 6.981 \times 10^5 X - 226.8$	0.999 9	1.77~35.40
24-乙酰泽泻醇A	$Y = 8.334 \times 10^5 X + 382.5$	0.999 3	0.91~18.20
泽泻醇G	$Y = 5.967 \times 10^5 X - 477.1$	0.999 6	0.58~11.60
23-乙酰泽泻醇B	$Y = 6.308 \times 10^5 X + 370.3$	0.999 8	5.86~117.20



1. 虎杖苷 2. 落新妇苷 3. 花旗松素 4. 黄杞苷 5. 泽泻醇 F 6. 泽泻醇 A 7. 24-乙酰泽泻醇 A 8. 泽泻醇 G 9. 23-乙酰泽泻醇 B  
1. polydatin 2. astilbin 3. taxifolin 4. engeletin 5. alisol F 6. alisol A 7. 24-acetate alisol A 8. alisol G 9. 23-acetate alisol B

图1 各成分HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.5.3 精密度试验 精密吸取“2.1”项下对照品溶液，在“2.4”项色谱条件下进样测定6次，测得虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇 F、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 G、23-乙酰泽泻醇 B 峰面积 RSD 分别为 0.63%、0.57%、0.92%、0.69%、1.20%、0.99%、1.07%、1.15%、0.76%，表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 取同一批胶囊，按“2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.4”项色谱条件下进样测定，测得虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇 F、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 G、23-乙酰泽泻醇含有量 RSD 分别为 1.07%、0.96%、1.53%、1.11%、0.61%、1.36%、1.42%、0.79%、1.23%，表明该方法重复性良好。

2.5.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液，于0、2、4、6、12、24 h 在“2.4”项色谱条件下进样测定，测得虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇 F、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 G、23-乙酰泽泻醇峰面积 RSD 分别为 0.65%、0.59%、0.89%、0.71%、1.18%、1.01%、1.06%、1.14%、0.78%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 取各成分含有量已知的

同一批胶囊数粒，倾出内容物，研成细粉，精密称取9份，每份1.0 g，每3份为1组，按2015年版《中国药典》四部要求精密加入对照品溶液（虎杖苷 1.152 mg/mL、落新妇苷 2.298 mg/mL、花旗松素 0.316 mg/mL、黄杞苷 0.978 mg/mL、泽泻醇 F 0.092 mg/mL、泽泻醇 A 0.226 mg/mL、24-乙酰泽泻醇 A 0.138 mg/mL、泽泻醇 G 0.082 mg/mL、23-乙酰泽泻醇 B 0.848 mg/mL）0.5、1.0、1.5 mL，使待测成分加入量分别约为样品含有量的 50%、100%、150%，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇 F、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 G、23-乙酰泽泻醇平均加样回收率分别为 99.58%、100.09%、97.88%、99.73%、96.94%、98.93%、98.77%、97.81%、99.98%，RSD 分别为 1.03%、0.77%、1.42%、0.99%、1.21%、1.14%、1.28%、1.39%、0.87%。

2.6 样品含有量测定 取3批胶囊，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，每批平行3份，在“2.3”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表2。

表2 各成分含有量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab. 2 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=3)

批号	虎杖苷	落新妇苷	花旗松素	黄杞苷	泽泻醇 F	泽泻醇 A	24-乙酰泽泻醇 A	泽泻醇 G	23-乙酰泽泻醇 B
20190107	1.157	2.326	0.319	0.982	0.093	0.224	0.138	0.081	0.854
20190302	1.049	2.440	0.287	0.886	0.105	0.255	0.119	0.092	0.918
20190405	1.254	2.215	0.346	1.069	0.081	0.203	0.156	0.070	0.774

### 3 讨论

3.1 提取方法筛选 本实验比较了提取溶剂(甲醇<sup>[13]</sup>、95%乙醇、60%甲醇、60%乙醇<sup>[9-10,14]</sup>)、提取方式(超声<sup>[9-13]</sup>、加热回流<sup>[14]</sup>)、提取时间(15、30、45 min)对各成分综合提取率的影响,发现60%乙醇超声提取30 min时最高,而且杂质干扰较小。

3.2 洗脱系统筛选 本实验首先考察了乙腈-水<sup>[9,11-12,14]</sup>流动相,发现色谱图基线有漂移,虎杖苷、落新妇苷、黄杞苷色谱峰峰形不理想,存在拖尾现象。再考察了乙腈-0.1%冰醋酸<sup>[10,13]</sup>、乙腈-0.1%甲酸<sup>[8]</sup>,发现以乙腈-0.1%冰醋酸洗脱时色谱图基线平稳,各成分峰形对称,与相邻峰分离效果良好。

3.3 含有量分析 表2显示,不同批次前列消胶囊中各成分含有量存在一定差异,以24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G更明显,可能与原药材产地、采收季节等因素有关。

### 4 结论

本实验采用HPLC法同时测定前列消胶囊中虎杖苷、落新妇苷、花旗松素、黄杞苷、泽泻醇F、泽泻醇A、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇G、23-乙酰泽泻醇B的含有量,该方法操作便捷,结果准确,可为该制剂质量控制提供依据,并有助于生产企业完善原药材质量标准,降低批次间差异,从而达到产品质量的稳定性和临床疗效的一致性。

#### 参考文献:

[1] WS-10019(ZD-0019)-2002-2011Z, 国家药品标准[S].  
[2] 崔雨, 祖雄兵. 前列消胶囊治疗慢性前列腺炎临床观察研

究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(55): 164; 167.  
[3] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 317-321.  
[4] 王亚运, 张琪. 虎杖苷的药理作用研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(5): 989-991; 996.  
[5] 徐硕, 尚明英, 刘广学, 等. 高效液相色谱法测定土茯苓药材中7种活性成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 469-479.  
[6] 范九梅, 马卓. 土茯苓药理学研究概述[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(8): 36-37; 57.  
[7] 金立阳, 汪英俊, 叶淑青, 等. 不同产地泽泻 HPLC 指纹图谱建立及模式识别[J]. 中成药, 2020, 42(1): 139-144.  
[8] 邵艳妮, 吴献, 樊李明, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定泽泻药材中16个成分[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1337-1350.  
[9] 张清峰, 付莹娟, 陈继光, 等. 高效液相色谱法同时测定虎杖中五种活性成分[J]. 现代食品科技, 2014, 30(3): 216-219.  
[10] 张清峰, 张汉扬, 上官新晨, 等. 高效液相法同时测定土茯苓中五种多酚成分[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2275-2278.  
[11] 赵万里, 黄小强, 许文, 等. RP-HPLC-DAD 同时测定泽泻中11个三萜类成分[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2933-2937.  
[12] 曹柳, 李青苗, 方清茂, 等. 3种炮制方法对泽泻中4种三萜类成分的影响[J]. 中成药, 2016, 38(9): 1994-1998.  
[13] 张永贵, 赵力, 杨小英. 土茯苓药材 HPLC 指纹图谱研究及主成分的含量测定[J]. 中国药房, 2016, 27(36): 5143-5146.  
[14] 杨航, 尹春梅, 焦连庆, 等. 虎杖药材的 HPLC-DAD-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2015, 46(12): 1830-1835.