

表 2 薄层图像扫描定量(HPTLC)及高效液相色谱(HPLC)法测定黄连提取物的结果比较

Table 2 Comparison of the four alkaloids contents determined by HPTLC and HPLC

检测方法	巴马汀 /%	小檗碱 /%	表小檗碱 /%	黄连碱 /%
HPTLC 法(n=4)	4.19	16.51	2.33	3.83
HPLC 法	4.18	15.93	2.23	3.80
RSD/%	0.17	2.53	3.10	0.56

的浓度。展开后挥干板面残存的展开剂，将薄层板放置在五氧化二磷真空干燥箱中干燥 1 h 以上，保证薄层板的干燥。应保持板面的干净无灰尘、纤维等，以免干扰下一步的测定。薄层色谱图像的影像的质量应尽量调整到与肉眼观察的实际情况一致。显然获得质量上乘的薄层色谱是最基本的保证。

处理过的图像用自编软件“digisacan”数码扫描图谱。得到扫描数据，于“Origin Pro 7.5”中绘图并积分，数据用 Excel 表格处理并计算结果。初步实验证明本文介绍的方法可行，并着手进一步编写一站式软件。

综上所述，利用薄层色谱拍摄的影像通过相关软件进行数码扫描，积分及外标法测定黄连提取物中巴马汀、小檗碱、表小檗碱、黄连碱的含量，经方法学验证符合含量测定的要求。所得结果与 HPLC 所测的结果极为接近，RSD 分别 0.17 % ~ 3.10 %。此方法

简便、低成本，不需要薄层色谱扫描仪，灵敏度高，色谱影像分析检验不受时间地点限制，适合生产过程检测、新药研发过程检验及市场商品的快速检验。

致谢：薄层色谱扫描软件“Digiscan”由杜若骞工程师开发。

参考文献：

[1] 钟国跃, 黄小平, 马开森, 等. 我国黄连(味连)质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(7): 495-497.

[2] Yan D, Jin C, Xiao XH, et al. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2008, 70(6): 845-849.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 285-286.

[4] 李信炯, 胡晓林, 杨世华, 等. 黄连薄层鉴别及其生物碱扫描测定[J]. 中成药, 1987, 9(1): 12.

[5] 叶玉兰, 赵苹苹, 罗泽澜. 黄连及其炮制品中 5 种生物碱含量测定[J]. 中成药, 1996, 18(3): 16.

[6] 刘法锦, 孙冬梅, 鲁佳慧, 等. 薄层色谱扫描法测定黄连吴茱萸药对中黄连生物碱的含量[J]. 中成药, 2010, 32(1): 75-79.

[7] 于玥, 张考飞, 李军, 等. 保健食品中添加小檗碱的检测方法研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 36(9): 1551-1554.

[8] 李威, 肖轶雯, 邱细敏, 等. 2D - HPLC 结合捕集柱同时测定黄连药材中 6 个生物碱[J]. 药物分析杂志, 2014, 37(4): 654-658.

[9] 胡俊辉. 干姜黄芩黄连人参汤中 11 种药效成分的 RP-HPLC 测定[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 77-81.

(编辑：邓响潮)

陈皮姜软胶囊质量标准研究

韩 亮, 刘昌辉, 宓穗卿, 王宁生(广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405)

摘要：目的 建立中药复方制剂陈皮姜软胶囊的质量标准。方法 采用 TLC 法鉴别陈皮姜软胶囊中干姜；用高效液相色谱法对制剂中 6-姜酚进行定量分析。结果 定性鉴别分离度好，专属性强；6-姜酚的含量测定线性范围为 42.08 ~ 420.8 μg·mL⁻¹(r=0.9998, n=6)，平均回收率为 100.80 % (RSD=1.33, n=6)。结论 所建立之方法准确可靠、灵敏度高、专属性强，可有效控制陈皮姜软胶囊的质量。

关键词：陈皮姜软胶囊；质量标准；高效液相色谱；6-姜酚

中图分类号：R284.1 文献标志码：A 文章编号：1003-9783(2015)01-0095-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.023

收稿日期：2014-10-22

作者简介：韩亮, 男, 博士研究生, 研究方向：中药有效性及安全性评价和药物代谢动力学研究。Email: hanliang72@126.com. 通讯作者：王宁生, 教授, 博士生导师, 研究方向：中药有效性及安全性评价和药物代谢动力学研究。Email: nswang@gzucm.edu.cn.

基金项目：国家自然科学基金项目(81403179)；广东省教育厅育苗工程资助项目(2013LYM_0046)。

Study on Quality Standard for *Chenpijiang* Soft Capsule

HAN Liang, LIU Changhui, MI Suiqing, WANG Ningsheng (Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish the quality standard for *Chenpijiang* soft capsule. **Methods** Rhizoma Zingiberis of *Chenpijiang* soft capsule was identified by thin layer chromatography (TLC), 6-gingerol in the soft capsule was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The characteristic identification by TLC was distinct and highly specific. The quantitative evaluation of 6-gingerol had the linear range of 42.08 ~ 420.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$, $n=6$), and the average recovery was 100.80 % (RSD=1.33, $n=6$). **Conclusion** The established method is reliable, accurate and specific, and it can be used for quality control of *Chenpijiang* soft capsule.

Keywords: *Chenpijiang* soft capsule; Quality standard; High performance liquid chromatography; 6-Gingerol

陈皮姜软胶囊是对经典药对进行二次开发, 与现代制剂技术相结合研制而成的中药复方新制剂。原方出自《金贵要略》橘皮汤, 由橘皮(四两)、生姜(半斤)组成, 功能散寒理气、和胃降逆, 主治寒邪客胃之呃逆及寒邪客胃之阳气被遏不能达于四肢而致手足厥冷病症。现代药理研究^[1]表明, 陈皮干姜油可部分改善疲劳大鼠血液生化、血气分析指标, 促进运动后疲劳恢复; 对大鼠心肌缺血具有显著的保护作用, 其机制可能与抑制脂质过氧化反应有关^[2]。为了有效的控制制剂的质量, 参考相关文献^[3-9], 我们对陈皮姜软胶囊制剂中的干姜进行了鉴别, 采用 HPLC 法对制剂中的主要成分 6-姜酚进行定量分析, 建立了准确、可靠、专属性强的质量控制方法。

1 仪器与试药

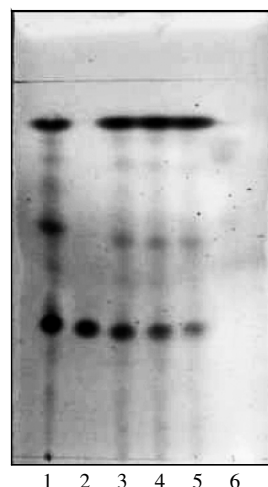
1.1 仪器 Dionex 高效液相色谱系统、680 HPLC 泵、ASI-100 自动进样器、TCC-100 柱温箱、PDA-100 紫外检测器、Chromeleon 色谱工作站, 美国戴安公司; AUW220D 型分析天平 (十万分之一), 美国 SHIMADZU 公司; DL-360A 超声波清洗器 (频率 45 kHz, 功率 240 W), 上海之信仪器有限公司。

1.2 药品及试剂 样品陈皮姜软胶囊自制, 批号为: 20120726、20120728、20120730; 6-姜酚对照品, 纯度 $\geq 98\%$, Aladdin-阿拉丁试剂(上海)有限公司, 批号: 2013-118; 薄层层析硅胶 G, 青岛海洋生物制品厂; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 结果

2.1 定性鉴别 取本品 2 粒, 剪开, 倾出内容物, 混匀, 取约 0.2 g, 加甲醇 10 mL 超声处理 10 min, 滤

过, 取滤液作为供试品溶液; 按配方除去干姜提取物配制成干姜阴性样品, 取干姜阴性样品 0.2 g, 按供试品溶液的制备方法制备作为阴性样品溶液; 取干姜药材粉末(过 30 目筛)约 1.0 g, 置具塞三角瓶中, 加入 20 mL 石油醚, 超声 20 min, 滤过, 浓缩至约 2 mL, 即得干姜对照药材溶液; 另取 6-姜酚对照品, 加甲醇溶解制成每 1 mL 约含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验, 吸取上述溶液各 5, 5, 2, 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚-乙酸乙酯-冰乙酸(8:3:0.2)为展开剂, 预饱和 15 min, 展开 15 cm 以上, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上显相同斑点, 而阴性液在此相应的位置上未有斑点显示, 故阴性液对鉴别无干扰。结果见图 1。



1.干姜对照药材; 2. 6-姜酚对照品; 3~5. 供试品; 6. 肉桂阴性样品
图 1 干姜鉴别 TLC 图

Figure 1 TLC chromatogram of Rhizoma Zingiberis

2.2 6-姜酚含量测定

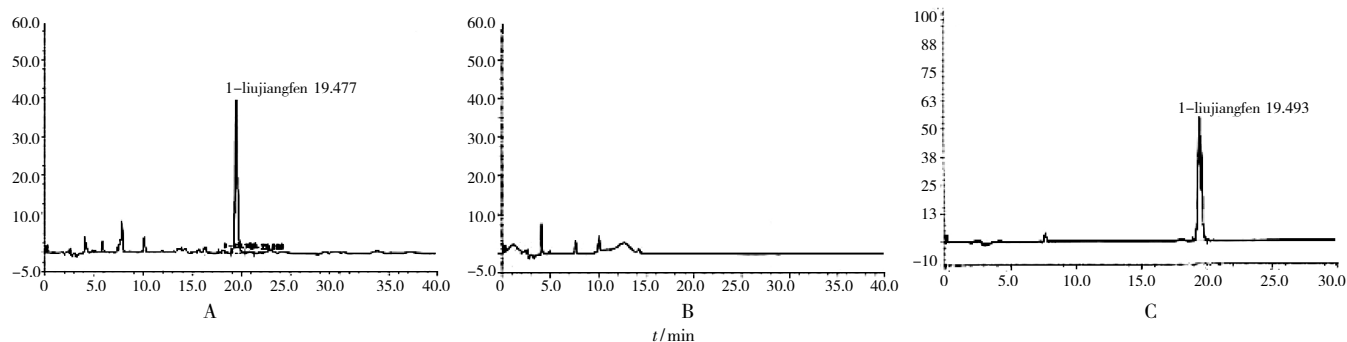
2.2.1 色谱条件 色谱柱 Phenomenex luna C₁₈ 柱, (5 μm , 250 mm $\times$ 4.60 mm); 流动相: 乙腈-甲醇-水(40:5:55); 流速: 1 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长: 280 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μL 。理论塔板数以 6-姜酚计不得小于 5000, 待测组分与其他峰的分离度良好。

2.2.2 溶液制备

2.2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 6-姜酚标准品约 10.52 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为 6-姜酚对照品储备液。精密量取 6-姜酚对照品储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成 6-姜酚对照品溶液 (210.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物适量, 混匀, 取约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)10 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方项下取各药材提取物(缺干姜), 按制法项下制备空白样品, 并按 2.2.2.2 项下制备阴性样品溶液。分别吸取对照品溶液和供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定。结果表明, 阴性样品溶液在与对照品相对应的保留时间处, 无峰出现, 表明方中其余各药味对待测组分测定无干扰。结果见图 2。



A. 样品; B. 缺干姜阴性样品; C. 6-姜酚对照品

图2 陈皮姜软胶囊的高效液相色谱图

Figure 2 HPLC chromatogram of Chenpi Jiang Soft Capsule

2.2.3 线性关系考察 分别精密吸取浓度为 1.052 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 6-姜酚对照品溶液 0.4, 1.2, 2, 2.4, 4 mL 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得浓度为 42.08, 126.24, 210.4, 252.48, 336.64, 420.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准系列溶液, 取 10 μL 进样。以峰面积对浓度回归, 结果 $y=0.086x-0.0497$ ($r=0.9998$), 表明 6-姜酚在 42.08 ~ 420.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.4 超声时间考察 精密称取同一批号 4 份本品内容物(批号: 20120726), 按供试品溶液的制备方法处理, 超声时间依次为 0, 10, 20, 30 min, 依法测定。考察超声时间不同对测定结果的影响, 结果样品在超声 0 ~ 30 min 时间内, 被测组分含量基本无变化, 相对标准偏差(RSD) $<3\%$, 说明超声时间 10 min 以上即可。故将样品处理的超声时间定为 10 min。

2.2.5 精密度实验 取 6-姜酚对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次。测得 6-姜酚峰面积 RSD 为 0.68 $\% < 3\%$ ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性实验 取同一批号(批号: 20120726)样品, 平行制备 6 份供试液, 分别取 10 μL 进样, 注入液相色谱仪, 进行含量测定, 结果 6-姜酚含量的 RSD 为 2.53 $\% < 3\%$ ($n=6$), 表明本法重复性良好。

2.2.7 稳定性实验 取同一供试品溶液(批号: 20120726), 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样, 按上述色谱条件测定, 计算含量。结果 6-姜酚含量 RSD=2.18 $\% < 3\%$ ($n=7$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率实验 精密称取同一批号(批号: 20120726) 6 份本品内容物约 50 mg, 各加入 1.052 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 6-姜酚对照品溶液 1.5 mL, 按上述供试品溶液的制备方法处理。取 10 μL 进样。测定 6-姜酚含量, 分别计算加样回收率。结果见表 1。加样回收率在 95 $\% \sim 105\%$ 之内, 符合方法学要求。

2.2.9 样品含量测定 分别对 3 批样品按上述含量测定方法进行测定, 结果见表 2。

以上 3 批样品中, 每粒陈皮姜软胶囊中 6-姜酚

表 1 6-姜酚加样回收率试验结果

Table 1 Results of recovery test of 6-gingerol

序号	称样量 /mg	样品含量 /mg	对照品加 入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/ %
1	49.49	1.78	1.578	3.378	100.60	100.80	1.33
2	51.29	1.84	1.578	3.454	101.05		
3	49.54	1.78	1.578	3.362	100.12		
4	52.02	1.87	1.578	3.428	99.42		
5	51.25	1.84	1.578	3.428	100.29		
6	52.40	1.88	1.578	3.572	103.30		

表 2 每粒陈皮姜软胶囊中 6-姜酚含量测定结果

Table 2 Results of 6-gingerol determinationg

样品批号	6-姜酚 /%	6-姜酚 /mg
20120726	3.63	14.52
20120728	3.56	14.22
20120730	3.55	14.18
平均值	3.58	14.31
RSD/%	1.22	1.30

平均含量为 14.31 mg，以平均含量的 80 %作为含量下限，则规定每粒胶囊中 6-姜酚含量不低于 11.45 mg。

3 讨论

在对制剂中陈皮进行 TLC 鉴别研究时发现，以陈皮药材和陈皮挥发油为阳性对照，分别采用石油醚-乙醚、石油醚-乙酸乙酯、石油醚-乙醚-乙酸乙酯等为展开系统，采用 5 %香草醛硫酸溶液加热或碘缸中显色，均未发现制剂中陈皮的特征性斑点。

在 6-姜酚含量测定试验中，曾选用不同比例的甲醇-水、乙腈-甲醇-水等系统为流动相做了系

统的比较，结果表明，以乙腈-甲醇-水(40：5：55)作为流动相时，6-姜酚的分离度更好，且阴性无干扰。另外对样品的超声处理时间进行了考察，最终确定超声 10 min 以上即可。另外陈皮药材中的主要成分如橙皮苷、川陈皮素等在制剂 HPLC 色谱图未发现，这可能与陈皮的提取方法有关。

本实验建立了该制剂的鉴别和含量测定项目。含量测定项选择干姜的主要有效成分 6-姜酚作为指标成分，建立了可靠准确、专属性强的测定方法，为本制剂的质量控制提供了依据。

参考文献：

[1] 李伟荣, 赵威, 杨蕾, 等. 陈皮干姜油对疲劳大鼠血液生化、血气分析及肌糖元的影响[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1): 57-59.

[2] 欧立娟, 孙晓萍, 刘启德, 等. 干姜、陈皮提取物对大鼠心肌缺血的影响[J]. 中药材, 2009, 32(11): 1723-1726.

[3] 付小六. HPLC 测定妇炎康片中盐酸小檗碱的含量[J]. 中成药, 2007, 29(2): 298-299.

[4] 徐晓梅, 谭本仁, 朱兴保, 等. 复方叶下珠滴丸质量标准及稳定性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 483-487.

[5] 吕渭升, 徐美丽, 刘昌辉, 等. 双丹胶囊质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 55-61.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (I 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70.

[7] 王航宇, 李国玉, 张珂, 等. HPLC 法测定干姜经微波炮制后 6-姜酚的含量[J]. 中国药师, 2013, 16(1): 17-19.

[8] 王健英, 杨骏, 张彤, 等. 陈皮挥发油的质量控制方法研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(1): 139-141.

[9] 聂继红, 王萍, 刘兆龙, 等. 益气强心胶囊的质量标准研究[J]. 中国药房, 2014, 25(7): 644-646.

(编辑：邓响潮)

HPLC 法测定溪黄草不同部位中 5 个二萜的含量

吴 冲，林朝展，祝晨蒨(广州中医药大学临床药理研究所，广东 广州 510405)

摘要：目的 建立反相高效液相层析(RP-HPLC)法同时测定溪黄草不同部位中 5 个对映-贝壳杉烷型二萜类延命素[enmein, (1)], 黄花香茶菜甲素[sculponeatin A, (2)], 诺多星[nodosin, (3)], 毛果青茶菜素[isodocarpin, (4)]和毛柞利素[lasiokaurin, (5)]含量的方法，并进行多批次药材成分分析，为溪黄草质量评价提供依据。**方法** 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)，流动相为甲醇-0.1 %甲酸，梯度洗脱，流速 0.7 mL·min⁻¹，检测波长 254 nm。**结果** 5 个二萜的标准曲线及线性范围依次为：(1)Y=5246.4X+13.86(0.075 ~ 1.50 μg，

收稿日期：2014-10-24
作者简介：吴冲，女，硕士研究生，研究方向：中药与天然药物化学成分及质量评价研究。Email: 1021387636@qq.com。通讯作者：林朝展，博士，副教授，研究方向：中药有效成分及质量评价研究。Email: linceaozhan@sina.com；祝晨蒨，博士，研究员，研究方向：中药与天然药物化学成分及质量评价和作用机制研究。Email: 976392178@qq.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目(81173535)。