



麝香接骨胶囊的HPLC特征图谱的研究及7种成分含量测定

余小翠, 王习文, 张贵英, 徐君伟, 祝雨薇, 胡丹

Study on the characteristic chromatogram of *Shexiang Jiegu* Capsule and determination of seven components by HPLC

YU Xiaocui, WANG Xiwen, ZHANG Guiying, XU Junwei, ZHU Yuwei, HU Dan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202307059>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于网络药理学与分子对接预测鸡骨草特征图谱研究

Prediction of characteristic chromatogram for Abri Herba based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2024, 42(8): 350-358 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202303048

血通胶囊提取工艺优化及质量控制研究

Extraction process optimization and quality control of Xuetong capsules

药学实践与服务. 2025, 43(2): 82-86, 91 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202409003

HPLC-MS/MS测定当归六黄汤中4种不同成分的含量

Determination of four different components in Danggui Liu Huang decoction by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(6): 248-252, 266 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305007

HPLC-MS/MS同时测定感冒安颗粒中5种黄酮成分的含量

Simultaneous determination of five flavonoids in Ganmao' an granules by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(9): 402-406 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202403030

大黄的HPLC指纹图谱及禁用农药的残留研究

HPLC fingerprint of Radix Rhubarb and forbidden pesticide residues

药学实践与服务. 2024, 42(7): 297-304, 314 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310057

中药青蒿抗氧化活性的谱效关系研究

Study on spectrum-effect relationship based on antioxidant activity of Artemisiae Annuae Herba

药学实践与服务. 2024, 42(5): 203-210, 216 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202211012



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

麝香接骨胶囊的 HPLC 特征图谱的研究及 7 种成分含量测定

余小翠, 王习文, 张贵英, 徐君伟, 祝雨薇, 胡 丹 (联勤保障部队药品仪器监督检验总站, 北京, 100166)

[摘要] **目的** 建立麝香接骨胶囊的特征图谱, 并测定麝香接骨胶囊中 7 种指标性成分(羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、藁本内酯、儿茶素、表儿茶素)的含量。**方法** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇-0.05% 磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 检测波长 245 nm, 流速 1.0 ml/min, 柱温: 30 ℃。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012)版》进行相似度评价, 并测定 7 种指标性成分的含量。**结果** 建立了麝香接骨胶囊的 HPLC 特征图谱, 15 批样品与对照指纹图谱的相似度在 0.893-0.992 之间。15 批样品的 7 种指标性成分的含量测定方法学考察结果均符合要求。**结论** 本研究建立的麝香接骨胶囊特征图谱专属性强, 含量测定方法学重复性好, 为其质量控制提供科学的依据。

[关键词] 麝香接骨胶囊; 特征图谱; 高效液相色谱法; 质量控制

[文章编号] 2097-2024(2025)00-0001-05 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202307059

Study on the characteristic chromatogram of Shexiang Jiegu Capsule and determination of seven components by HPLC

YU Xiaocui, WANG Xiwen, ZHANG Guiying, XU Junwei, ZHU Yuwei, HU Dan (Administration for Drug and Instrument Supervision and Inspection of JLSF, Beijing 100166, China)

[Abstract] **Objective** To establish the characteristic atlas of Shexiang Jiegu Capsule and determine the contents of seven active components (hydroxysafflor Yellow A, paeoniflorin, ferulic acid, naringin, ligustilide, catechin, epicatechin) in it. **Methods** Octadecyl silane bonded silica gel was used as the filling agent, the mobile phase was composed of methanol-0.05% phosphoric acid by gradient elution, the detection wavelength was 245 nm, flow rate was 1.0 ml/min, column temperature was 30 ℃. The similarity of the fifteen batches of sample was evaluated in line with the TCM Chromatographic Fingerprint (2012 edition), and the contents of seven active components were determined. **Results** The HPLC fingerprint of Shexiang Jiegu Capsules was established. The similarity of fingerprint between fifteen batches of samples and control fingerprint was between 0.893 and 0.992. The results of methodological investigation for the determination of seven active components in fifteen batches of samples all met the requirements. **Conclusion** The established characteristic atlas of Shexiang Jiegu Capsules had high specificity and good repeatability, which could provide scientific basis for quality control of Shexiang Jiegu Capsules.

[Key words] Shexiang Jiegu Capsules; characteristic chromatogram; HPLC; quality control

麝香接骨胶囊由赤芍、续断、没药(炒)、红花、当归、骨碎补(烫)、血竭、川芎、儿茶、桂枝、乳香(炙)、自然铜(煅)、苏木和人工麝香等共 22 味药材组成, 具有散瘀止痛, 续筋接骨的功效^[1]。现行标准年久未修订, 已无法全面真实判断产品质量优劣。且目前文献中, 均没有对麝香接骨胶囊的质量进行整体、全面的评估^[2-5]。

本研究依据《中国药典》(2020 年版一部), 按照君臣佐使的配伍原则, 选取对指标性成分有明确含量要求的(赤芍、川芎、当归、红花、骨碎补、儿

茶)6 味药材^[6]中 7 种成分, 采用 HPLC, 开展麝香接骨胶囊特征图谱的系统研究, 并测定含量, 为麝香接骨胶囊的质量标准提高提供科学的依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; METTLER TOLEDO PL303 电子天平; Sartorius Q-Stat 电子天平。

1.2 试药

对照品: 儿茶素(110877-202005, 95.1%)、表儿茶素(110878-201703, 99.7%, 置五氧化二磷干燥器中减压干燥 12 小时后使用)、羟基红花黄色素 A (111637-201810, 93.1%)、芍药苷(110736-202145)、阿魏酸(110773-201313, 99.6%, 置五氧化二磷干燥

[作者简介] 余小翠, 主管药师, 研究方向: 药品质量控制与研究。E-mail: 512530856@qq.com

[通信作者] 胡 丹, 副主任药师。研究方向: 中药质量标准研究。E-mail: hudan1006@sina.com

器中减压干燥 12 小时后使用)、柚皮苷(110722-202116, 93.5%)均购自中国食品药品检定研究院; 藁本内酯(2254739, 97.8%)购自上海安谱瑾世标准技术有限公司。甲醇、磷酸均为色谱纯。水为超纯水。

样品: 麝香接骨胶囊, 企业 A 至 O(批号依次为: 105210504、20210807、211205、20211201、210301、20210801、20211001、20210701、20210901、211201、20210806、211001、2105001、20211002、20210502)来源于 2022 年国家评价性抽验样品)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 资生堂 SPOLAR C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 A: 甲醇, 流动相 B: 0.05% 磷酸溶液; 梯度洗脱: 0~20 min, A 相 10%→20%; 20~29 min, A 相 20%→25%; 29~30 min, A 相 25%→26%; 30~35 min, A 相 26%→26%; 35~50 min, A 相 26%→35%; 50~75 min, A 相 35%→60%; 75~105 min, A 相 60%→90%; 流速: 1 ml/min; 检测波长: 245 nm, 进样体积: 10 μl; 柱温: 30 ℃。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称定羟基红花黄色素 A、儿茶素、表儿茶素、芍药苷、柚皮苷、藁本内酯、阿魏酸对照品适量, 加甲醇配制成浓度分别为 0.452、1.245、1.306、1.166、0.145、0.288、0.038 mg/ml 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品内容物约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 3% 磷酸-甲醇溶液 25 ml, 密塞, 称定重量, 超声 30 分钟(功率 250 W, 频率 40 kHz), 放冷, 再称定重量, 用 3% 磷酸-甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方量依“2.3”项下方法分别配制缺上述六味药材的溶液, 作为阴性对照溶液。

2.5 特征图谱的建立

2.5.1 特征图谱方法学考察

2.5.1.1 精密度

取企业 O(20210502)内容物 2 g, 按“2.3”项下条件配制供 1 份试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算主要色谱峰与参比峰表儿茶素(表儿茶素质量控制标准的主要成分之一, 其含量高且稳定性良好, 选择其为参照物)的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果表明, 样品溶液

各色谱峰相对保留时间 RSD 值和相对峰面积的 RSD 值均小于 2%, 说明仪器精密度良好。

2.5.1.2 重复性

取企业 O(20210502)内容物 2 g, 按“2.3”项下条件配制 6 份供试品溶液, 进样分析。结果表明, 样品溶液各色谱峰相对保留时间 RSD 值和相对峰面积的 RSD 值均小于 2%。

2.5.1.3 稳定性

取企业 O(20210502)内容物 2 g, 按“2.3”项下条件配制供试品溶液 1 份, 分别于 0、6、8、12、24 h 连续进样 6 次。结果表明, 样品溶液各色谱峰相对保留时间 RSD 值和相对峰面积的 RSD 值均小于 2%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.2 特征图谱的建立与分析

2.5.2.1 专属性

7 种指标性成分混合对照品溶液、阴性对照溶液及供试品溶液色谱图见图 1。

2.5.2.2 特征图谱的建立与分析

取 15 家企业麝香接骨胶囊, 制备供试品溶液, 记录色谱图, 进行相似度分析, 15 家企业 S1~S15 的 HPLC 特征图谱及对照指纹图谱 R, 见图 2。结果显示, 15 家企业样品与对照指纹图谱相似度在 0.893~0.992 之间, 结果见表 1。

2.6 含量测定

2.6.1 线性关系

将“2.2”项下的混合对照品分别稀释 0、3、6、12、24 倍, 按“2.1”项下色谱条件分析。以各成分的浓度(mg/ml)为横坐标(X), 以峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。结果见表 2。

2.6.2 精密度

取同一对照品溶液, 连续进样 5 次。结果各成分峰峰面积的 RSD 值均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.6.3 稳定性

取同一供试品溶液, 分别于 0、6、8、12、24 h 进样分析。结果各主成分峰峰面积的 RSD 值均小于 2%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.4 重复性

取企业 O(20210502)内容物 2 g, 平行制备供试品溶液 6 份, 测定其含量。结果: 儿茶素、表儿茶素、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、藁本内酯的平均含量分别为 3.63、3.76、0.94、7.49、0.17、0.10、1.96 mg/g, RSD 分别为 1.9%、1.3%、2.0%、1.8%、2.5%、1.8%、2.2%, 表明方法重复性较好。

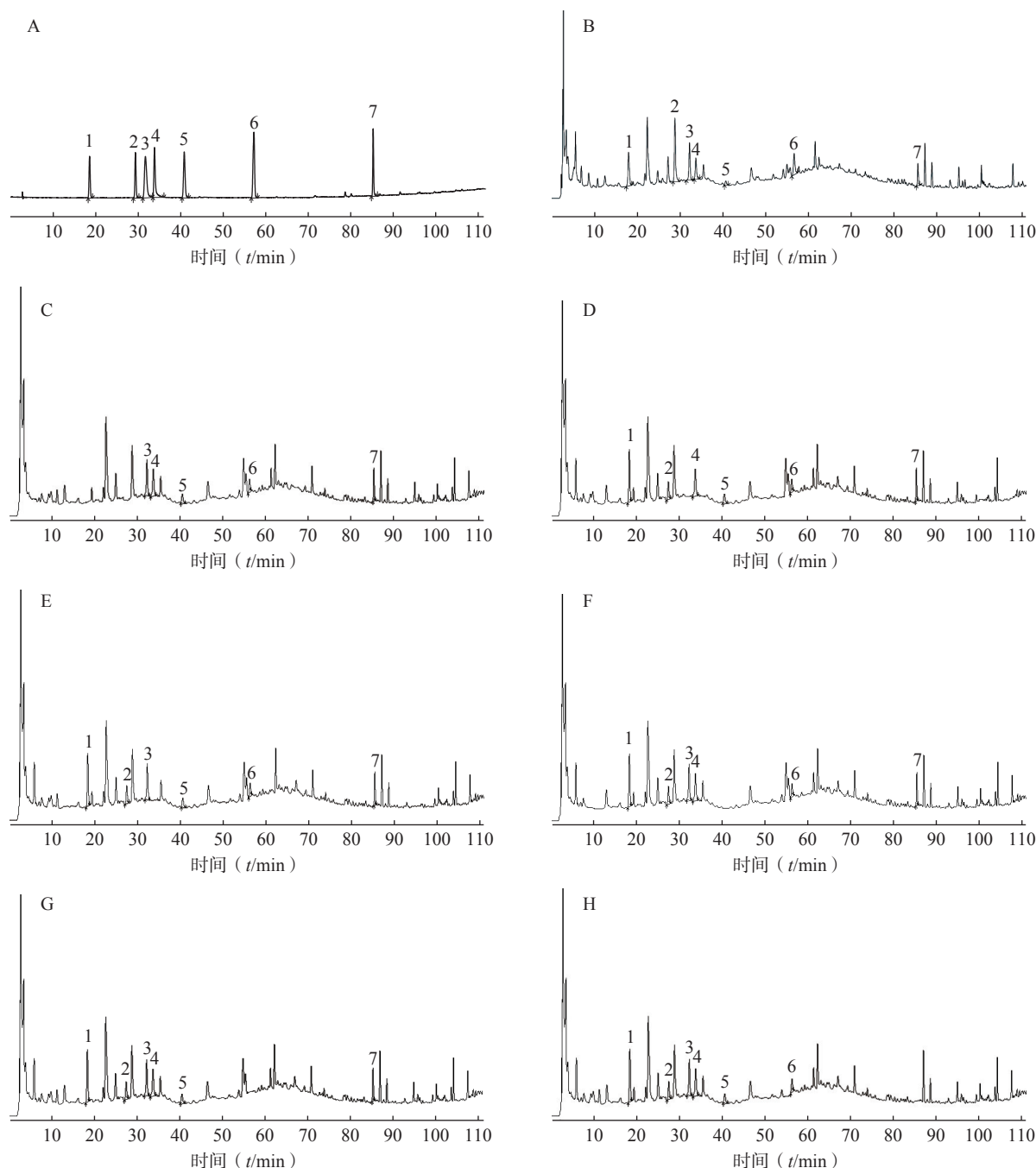


图 1 专属性试验 HPLC 图

A: 混合对照品溶液; B: 供试品溶液; C→H: 依次为分别缺儿茶、红花、赤芍、川芎、骨碎补、当归阴性对照溶液
1. 儿茶素; 2. 表儿茶素; 3. 羟基红花黄色素 A; 4. 芍药苷; 5. 阿魏酸; 6. 柚皮苷; 7. 藁本内酯

2.6.5 加标回收率

精密称定企业 O(20210502) 内容物 1 g, 精密加入混合对照品溶液 2 ml, 平行制备 6 份, 进样分析, 分别计算各成分的回收率。结果: 儿茶素、表儿茶素、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、藁本内酯的平均回收率分别为 101.2%、99.8%、98.8%、95.4%、94.8%、98.6%、97.5%, RSD 分别为 1.9%、1.8%、1.7%、2.5%、2.1%、1.9%、1.3%, 表明方法准确度较好。

2.6.6 样品含量测定

取样品 (S1 ~ S15), 平行制备供试品溶液各 2 份, 进样分析, 测定其含量。结果见表 3。

3 讨论

3.1 提取方式的选择

中药常用的提取方法有加热回流法和超声提取法, 实验中藁本内酯、羟基红花黄色素 A 不稳定, 对热敏感, 故采用超声提取法作为提取方式。

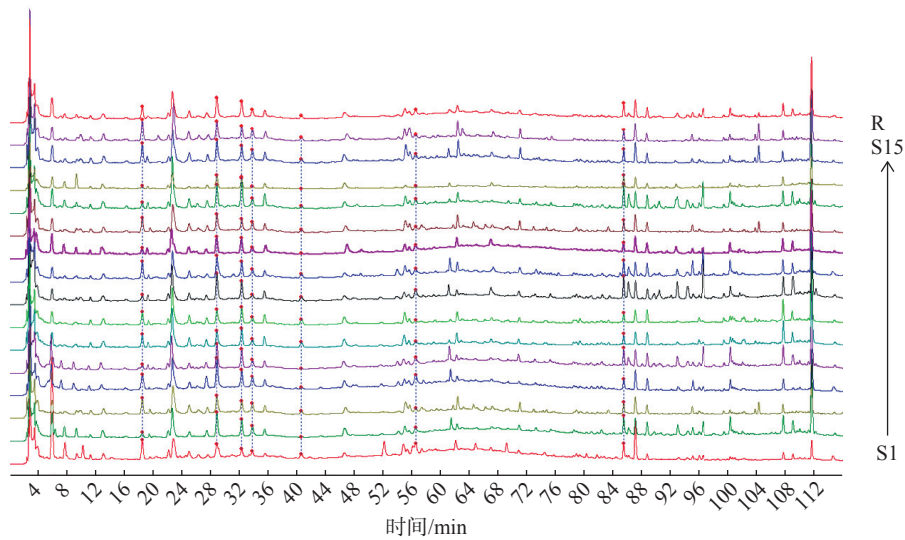


图 2 15 家企业麝香接骨胶囊的特征图谱
S1-S15: 依次为企业 A→O

表 1 相似度评价结果

样品号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	对照指纹图谱
S1	1.000	0.779	0.894	0.921	0.807	0.850	0.832	0.852	0.921	0.837	0.885	0.731	0.736	0.893	0.886	0.893
S2	0.779	1.000	0.882	0.930	0.985	0.910	0.902	0.967	0.930	0.966	0.918	0.941	0.970	0.909	0.857	0.960
S3	0.894	0.882	1.000	0.963	0.847	0.956	0.959	0.870	0.984	0.895	0.995	0.825	0.833	0.991	0.998	0.964
S4	0.921	0.930	0.963	1.000	0.930	0.945	0.928	0.930	0.986	0.955	0.973	0.862	0.878	0.974	0.953	0.982
S5	0.807	0.985	0.847	0.930	1.000	0.899	0.879	0.980	0.916	0.982	0.889	0.950	0.961	0.889	0.818	0.953
S6	0.850	0.910	0.956	0.945	0.899	1.000	0.996	0.923	0.972	0.954	0.975	0.925	0.887	0.982	0.945	0.978
S7	0.832	0.902	0.959	0.928	0.879	0.996	1.000	0.911	0.967	0.933	0.976	0.917	0.888	0.979	0.949	0.971
S8	0.852	0.967	0.870	0.930	0.980	0.923	0.911	1.000	0.940	0.966	0.908	0.944	0.966	0.906	0.842	0.965
S9	0.921	0.930	0.984	0.986	0.916	0.972	0.967	0.94	1.000	0.946	0.993	0.881	0.894	0.991	0.974	0.992
S10	0.837	0.966	0.895	0.955	0.982	0.954	0.933	0.966	0.946	1.000	0.931	0.965	0.939	0.939	0.873	0.977
S11	0.885	0.918	0.995	0.973	0.889	0.975	0.976	0.908	0.993	0.931	1.000	0.875	0.880	0.998	0.989	0.984
S12	0.731	0.941	0.825	0.862	0.950	0.925	0.917	0.944	0.881	0.965	0.875	1.000	0.957	0.883	0.798	0.931
S13	0.736	0.970	0.833	0.878	0.961	0.887	0.888	0.966	0.894	0.939	0.880	0.957	1.000	0.872	0.805	0.932
S14	0.893	0.909	0.991	0.974	0.889	0.982	0.979	0.906	0.991	0.939	0.998	0.883	0.872	1.000	0.986	0.984
S15	0.886	0.857	0.998	0.953	0.818	0.945	0.949	0.842	0.974	0.873	0.989	0.798	0.805	0.986	1.000	0.949
对照指纹图谱	0.893	0.960	0.964	0.982	0.953	0.978	0.971	0.965	0.992	0.977	0.984	0.931	0.932	0.984	0.949	1

表 2 各成分的线性方程、线性范围及相关系数

组分	线性方程	<i>r</i>	线性范围 (mg/ml)
儿茶素	$Y=3\ 090\ 363.74\ X+8\ 960.24$	0.999 9	0.051 9 ~ 1.245
表儿茶素	$Y=2\ 858\ 399.91\ X+28\ 094.09$	0.999 8	0.054 4 ~ 1.306
羟基红花黄色素A	$Y=8\ 489\ 620.24\ X+9\ 092.68$	0.999 9	0.018 8 ~ 0.452
芍药苷	$Y=411\ 248.67\ X-2\ 288.42$	0.999 8	0.048 5 ~ 1.166
阿魏酸	$Y=11\ 055\ 569.64\ X+1\ 995.86$	0.999 9	0.001 6 ~ 0.038
柚皮苷	$Y=7\ 105\ 084.83\ X-4\ 843.44$	0.999 8	0.006 0 ~ 0.145
藁本内酯	$Y=1\ 658\ 740.93\ X-3\ 266.64$	0.999 9	0.012 2 ~ 0.288

表 3 15 批麝香接骨胶囊中 7 种成分含量测定结果 (mg/g, n=2)

编号	儿茶素	表儿茶素	羟基红花黄色素A	芍药苷	阿魏酸	柚皮苷	藁本内酯
S1	6.96	2.66	0.43	2.05	0.28	0.10	2.59
S2	2.13	4.70	0.97	4.10	0.16	0.20	2.78
S3	6.59	3.13	0.57	5.53	0.27	0.14	2.13
S4	7.24	5.14	0.95	7.04	0.20	0.23	2.15
S5	1.98	4.53	1.03	5.81	0.11	0.19	2.50
S6	6.00	3.58	1.12	6.14	0.29	0.14	2.14
S7	5.94	3.57	1.24	5.08	0.10	0.09	2.12
S8	2.02	4.54	1.31	2.98	0.29	0.21	3.01
S9	6.22	4.64	1.25	3.62	0.28	0.19	2.18
S10	2.39	3.10	1.23	2.62	0.15	0.20	1.78
S11	5.73	3.22	0.49	5.45	0.18	0.10	2.06
S12	2.63	4.25	1.91	5.49	0.17	0.25	2.87
S13	1.09	2.76	0.54	1.26	0.10	0.07	2.08
S14	7.02	4.85	1.36	7.05	0.29	0.18	2.15
S15	3.63	3.76	0.94	7.49	0.17	0.10	1.96

3.2 提取时间的选择

以麝香接骨胶囊(企业 O, 批号: 20210502)作为考察对象。分别考察了供试品超声 20、30、40、60 min 后的提取结果。结果显示, 30 min 后峰面积不再增加, 最终选择超声 30 min 作为提取方法。

3.3 检测波长的选择

采用 DAD 检测器对混合对照品溶液、供试品溶液进行全波长扫描, 发现在 245 nm 波长下图谱的信息量较多、各峰吸收强度高, 故最终选择 245 nm 作为检测波长。

本研究首次建立了麝香接骨胶囊的特征图谱, 并测定 7 种指标性成分的含量。从特征图谱相似度情况分析, 15 家生产企业指纹图谱与对照指纹图谱相似度在 0.893 ~ 0.992 之间。含量测定方法具有较高的重现性、稳定性, 但各厂家之间 7 种指标性成分含量差异大, 也从一定程度上反映出不同厂家使用的药材质量参差不齐, 建议厂家严格控制药材质量, 以保证成品安全、有效、稳定。本研

究所建的特征图谱及指标性成分的含量测定方法为麝香接骨胶囊质量标准和质量控制提供有力的技术支持。

【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中国卫生部药品标准中药成方制剂: 第五册 [S]. 1999: 209.
[2] 单婷婷, 陈玉敏, 水彩红, 等. 高效液相色谱法测定麝香接骨胶囊中伪麻黄碱和麻黄碱的含量 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 94-95.
[3] 陈玉敏, 曹红, 邢俊波, 等. 麝香接骨胶囊中松香酸检测的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(9): 2982-2984.
[4] 罗士香. 麝香接骨胶囊质量标准的研究 [J]. 安徽医药, 2004, 8(6): 459.
[5] 单婷婷, 曹红, 邢俊波, 等. HPLC 法测定麝香接骨胶囊中四种生物碱的含量 [J]. 解放军药学学报, 2013, 29(5): 450-452.
[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典—一部: 2020 年版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 165, 42, 139, 157, 267, 10.

【收稿日期】 2023-07-22 【修回日期】 2024-04-23

【本文编辑】 费永和