

## 穿心莲药材或其制剂的检测方法

### 技术领域

5 本发明属于中药的检测方法，涉及一种方便、快速的穿心莲药材或其制剂的检测方法。

### 背景技术

10 目前，穿心莲药材质量评价研究中最常用的方法是单一指标或主要指标成分的中药质量优劣控制，穿心莲药材中成分的复杂性导致这种方法不能代表对药材的质量控制，也不能保证药材的质量（王红,张学东.穿心莲药材及穿心莲片的质量标准探讨[J].西北药学杂志,2002,17(2):63-64.）。而中药指纹图谱能够比较全面地反映中药所含物质群的种类和数量，可以提供更多与中药内在质量相关的信息，但应该看到，指纹图谱的模糊性和不可量化等因素同样限制了质量标准的科学性，尚存在许多关键问题（蒋珍藕,饶伟源.穿心莲药材的 HPLC 指纹图谱研究[J].中国实验方剂杂志学, 15 2008, 14(3):6-7）。多指标定量控制的模式必需有大量的中药化学对照品，由于这些化学对照品在分离纯化上困难、或不稳定、供应价格高、市场机制不健全等因素，致使中药化学对照品的供应严重不足，因此，目前该模式很大程度上也仅限于科研用，难以应用到实际的质量监督和评价上。

20 一测多评的基本设计思想通过中药有效成分间存在的内在函数关系和比例关系,仅测定 1 个成分(对照品可以得到者),来实现多个成分(对照品没有或难以供应)的同步监控。据文献调研，一测多评模式在木通、人参、黄连、淫羊藿、大黄、黄芩等多种药材的多成分同步测定得到了良好的应用。

25

### 发明内容

30 鉴于针对多指标质量控制中对照品供应不足问题，本发明的目的是通过采用“一测多评”的质量评价模式，只需要穿心莲内酯这一种对照品实现同步测定穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的含量。

在缺乏新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元对照品的情况下，本发明的穿心莲药材或其制剂的检测方法可以作为多指标含量测定方法用于中药的质量评价。

除非另外说明,在本发明中,提取溶剂百分比以及色谱条件中各流动相百分比均为体积比。

本发明提供穿心莲药材或其制剂的检测方法,包括采用高效液相色谱法建立穿心莲药材或其制剂的色谱图,以穿心莲内酯为内标,运用新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元各自与所述穿心莲内酯的相对校正因子计算得出新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元中一种以上成分的含量。

优选地,在本发明穿心莲药材或其制剂的检测方法中,所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯或新穿心莲内酯苷元的含量的计算公式如下:

$$\text{含量(mg/g)} = (C_S/W) \times (A_U/A_S) \times V \times D \times F$$

$C_S$  穿心莲对照品的浓度 (mg/mL);

$W$  样品取样量(g);

$A_U$  样品中其他内酯类成分的峰面积;

15  $A_S$  穿心莲内酯对照品的峰面积;

$V$  提取溶剂的体积(mL);

$D$  稀释倍数;

$F$  相对校正因子;

其中相对校正因子  $F$  的计算公式如下:

$$20 \quad F = \frac{f_S}{f_K} = \frac{W_K \times A_S}{W_S \times A_K}$$

式中,  $A_S$  为穿心莲内酯对照品的峰面积,  $W_S$  为穿心莲内酯对照品的浓度或质量,  $A_K$  为某待测成分的峰面积;  $W_K$  为某待测成分的浓度或质量。

优选地,在本发明穿心莲药材或其制剂的检测方法中,所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子范围分别为 0.5-15、0.5-15、0.1-5、0.5-15。

优选地,所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子分别为  $1.150 \pm 0.30$ 、 $0.779 \pm 0.30$ 、 $0.721 \pm 0.30$ 、 $2.41 \pm 0.30$ 。

特别优选地,所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子分别为  $1.150 \pm 0.15$ 、 $0.779 \pm 0.15$ 、 $0.721 \pm 0.15$ 、 $2.41 \pm 0.15$ 。

优选地,在本发明穿心莲药材或其制剂的检测方法中,样品测定时,

穿心莲药材或其制剂用甲醇或乙醇的水溶液浸泡 0-1 小时，超声处理 0-1 小时，定容，过滤，取滤液，然后进行高效液相色谱分析。

优选地，所述甲醇或乙醇的水溶液为 10-100%v/v 甲醇或乙醇水溶液。

优选地，所述超声处理为 0-0.5 小时。

5 优选地，所述高效液相色谱的色谱条件为：

十八烷基键合硅胶为固定相；

连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为水或稀酸水溶液；0min 时，流动相 A 为 10-40%，流动相 B 为 90-60%；40-70min 时，流动相 A 为 20-60%，流动相 B 为 80-40%；70min 以后，流动相 A 为 60-100%，流  
10 动相 B 为 40-0%；

流动相流速为 0.5-2mL/min；

检测波长为 190-400nm；

柱温为 0-50℃。

优选地，所述高效液相色谱的色谱条件为：

15 十八烷基键合硅胶为固定相；

连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为水或稀酸水溶液；0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；50-60min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；65-75min 时，流动相 A 为 65%，流动相 B 为 35%；

流动相流速为 1mL/min；

20 检测波长为 200-230nm；

柱温为 0-30℃。

优选地，所述的流动相 B 的稀酸水溶液包括甲酸水溶液、磷酸水溶液和冰醋酸水溶液；优选所述稀酸水溶液浓度为 0.05-0.5%v/v；更为优选所述磷酸水溶液浓度为 0.2%v/v。

25 特别优选地，所述高效液相色谱的色谱条件为：

十八烷基键合硅胶为固定相；

连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为水；0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；55min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；70min 时，流动相 A 为 65%，流动相 B 为 35%；

30 流动相流速为 1mL/min；

检测波长为 200-210nm 或 220-230nm；

柱温为 10℃。

更为优选地，上述检测波长为 205nm 或 225nm。

优选地，在本发明穿心莲药材或其制剂的检测方法中，所述制剂包括固体制剂、半固体制剂和液体制剂。

优选地，所述制剂选自片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、注射剂、软膏剂。

- 5 本发明采用穿心莲内酯一个对照品实现同步测定穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的含量，重复性高，稳定性好，操作简单方便，且科学有据，能有效的控制穿心莲药材及其制剂的质量。本发明穿心莲药材或其制剂的检测方法，能为穿心莲药材和制剂的多成分质量评价提供低成本的、可操作性强的质量评价方法，能保证穿心莲药材和制剂的质量可靠稳定，降低检测成本，提高检测效率等。
- 10

### 附图的简要说明

以下，结合附图来详细说明本发明的实施方案，其中：

- 15 图 1.穿心莲对照品 HPLC 图；  
图 2.穿心莲药材的 HPLC 图（图中 1：穿心莲内酯、2：新穿心莲内酯、3：去氧穿心莲内酯、4：脱水穿心莲内酯、5：新穿心莲内酯苷元）；  
图 3.消炎利胆片的 HPLC 图；  
图 4.穿心莲胶囊的 HPLC 图；  
20 图 5.穿心莲丸的 HPLC 图；  
图 6.穿心莲注射液的 HPLC 图。

### 实施发明的最佳方式

下面结合如下实施例对本发明做更进一步的详细说明。

- 25 仪器：高效液相色谱仪（DIONEX SUMMIT P680 高效液相色谱仪，美国戴安公司），十八烷基键合硅胶柱（250 mm×4.6 mm, 5μm）；中性氧化铝柱（200～300 目，5g，内径 1.5cm）。

- 样品：穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品（购于中国药品生物制品检定所）；新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯对照品（购于南京替斯艾么中  
30 药技术研究所，纯度≥98%）；新穿心莲内酯苷元对照品（购于 ChromaDex 公司，纯度≥98%）；穿心莲药材（广州白云山和记黄埔中药有限公司）；消炎利胆片（广州白云山和记黄埔中药有限公司）；穿心莲胶囊（天津美伦医药集团有限公司）；穿心莲丸剂（广西玉林制药有限责任公司）；穿

心莲注射液（海南制药厂有限公司）。

除非另外说明，在下列实施例中，提取溶剂百分比以及色谱条件中各流动相百分比均为体积比。

### 实施例 1

- 5 取穿心莲药材粉末（过四号筛）约 0.5g，精密称定，置于具塞锥形瓶，精密加入 40% 甲醇 50mL，称定重量，浸泡 1 小时，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用 40% 甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取滤液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取滤液 10 $\mu$ L 进样。

- 10 取穿心莲内酯对照品适量，精密称定，置于容量瓶中，加甲醇制成每 1mL 含有 0.1mg 的对照品溶液，取对照品溶液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取续滤液 10 $\mu$ L 进样。

高效液相色谱法的色谱条件是：采用十八烷基键合硅胶为固定相：用连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为水；连续梯度洗脱程序如下：

- 0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；  
15 55min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；  
70min 时，流动相 A 为 65%，流动相 B 为 35%；

流速为 1mL/min；检测波长为 205nm；柱温为 10℃。分别得到穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的峰面积。

- 20 按以下公式计算药材中穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的含量。

公式：含量(mg/g) =  $(C_S/W) \times (A_U/A_S) \times 50F$

$C_S$  穿心莲对照品的浓度 (mg/mL)；

$W$  样品取样量(g)；

- 25  $A_U$  样品中其他内酯类成分的峰面积；

$A_S$  穿心莲内酯对照品的峰面积；

$F$  相对校正因子（穿心莲内酯 1、新穿心莲内酯 1.150、去氧穿心莲内酯 0.779、脱水穿心莲内酯 0.721、新穿心莲内酯苷元 2.41）。

穿心莲混合对照品和穿心莲药材的 HPLC 结果如图 1 和 2 所示。

- 30 取 10 批穿心莲药材样品分别测定了 10 次，结果见表 1，误差均在 10% 以内的范围。

表 1 10 批穿心莲药材含量测定结果比较

| 编号 | 穿心莲内酯      | 新穿心莲内酯     |          |         | 去氧穿心莲内酯    |          |         | 脱水穿心莲内酯    |          |         | 新穿心莲内酯苷元   |          |         |
|----|------------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|
|    | 含量<br>mg/g | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% |
| 1  | 12.23      | 2.40       | 2.47     | 3.1     | 0.83       | 0.82     | -1.2    | 2.78       | 2.72     | -2.1    | 0.42       | 0.40     | 5.7     |
| 2  | 18.36      | 2.98       | 3.09     | 3.5     | 3.80       | 4.00     | 5.1     | 3.25       | 3.20     | -1.5    | 0.70       | 0.69     | 2.1     |
| 3  | 4.36       | 5.10       | 5.40     | 5.9     | 2.46       | 2.60     | 5.5     | 5.85       | 5.96     | 1.8     | 0.55       | 0.50     | 8.8     |
| 4  | 9.61       | 3.62       | 3.78     | 4.3     | 3.00       | 3.15     | 5.0     | 4.48       | 4.49     | 0.1     | 0.46       | 0.44     | 5.1     |
| 5  | 8.37       | 7.14       | 7.52     | 5.4     | 1.61       | 1.66     | 3.1     | 5.69       | 5.74     | 0.9     | 0.52       | 0.53     | -1.8    |
| 6  | 13.65      | 3.78       | 3.94     | 4.1     | 5.80       | 6.14     | 5.9     | 1.53       | 1.44     | -6.2    | 0.54       | 0.57     | -4.6    |
| 7  | 10.33      | 8.32       | 8.77     | 5.3     | 2.02       | 2.10     | 3.8     | 6.98       | 7.06     | 1.2     | 0.68       | 0.71     | -4.4    |
| 8  | 9.75       | 8.29       | 8.73     | 5.4     | 1.94       | 2.01     | 3.7     | 6.63       | 6.71     | 1.1     | 0.77       | 0.75     | 2.1     |
| 9  | 8.57       | 7.64       | 8.05     | 5.4     | 1.79       | 1.85     | 3.6     | 5.47       | 5.52     | 0.8     | 0.79       | 0.83     | -5.2    |
| 10 | 11.44      | 3.55       | 3.70     | 4.1     | 4.39       | 4.64     | 5.6     | 3.41       | 3.38     | -1.1    | 1.14       | 1.13     | 1.2     |

### 实施例 2

取消炎利胆片 10 片，除去包衣，精密称定，研细，取约 0.4g，精密称定，置 10mL 容量瓶中，精密加入 70% 甲醇至刻度，密塞，称定重量，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用 70% 甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取滤液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取滤液 10 $\mu$ L 进样。

取穿心莲内酯对照品适量，精密称定，置于容量瓶中，加甲醇制成每 1mL 含有 0.1mg 的对照品溶液，取对照品溶液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取续滤液 10 $\mu$ L 进样。

高效液相色谱法的色谱条件是：采用十八烷基键合硅胶为固定相：用连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为 0.2%v/v 磷酸溶液；连续梯度洗脱程序如下：

0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；  
55min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；  
70min 时，流动相 A 为 85%，流动相 B 为 15%；

流速为 1mL/min；检测波长为 205nm；柱温为室温。分别得到穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的峰面积。

按以下公式计算药材中穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量。

公式：含量(mg/g) =  $(C_s/W) \times (A_U/A_S) \times 10F$

$C_s$  穿心莲对照品的浓度 (mg/mL)；

W 样品取样量(g);

A<sub>U</sub> 样品中其他内酯类成分的峰面积;

A<sub>S</sub> 穿心莲内酯对照品的峰面积;

F 相对校正因子 (穿心莲内酯 1、新穿心莲内酯 1.150、去氧穿心莲内酯 0.779、脱水穿心莲内酯 0.721)。

取 10 批消炎利胆片样品分别测定了 10 次, 结果见表 2, 误差均在 10% 以内的范围。

表 2 10 批消炎利胆片含量测定结果比较

| 编号 | 穿心莲内酯      | 新穿心莲内酯     |          |         | 去氧穿心莲内酯    |          |         | 脱水穿心莲内酯    |          |         |
|----|------------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|
|    | 含量<br>mg/g | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% |
| 1  | 1.08       | 5.81       | 6.22     | 7.0     | 3.43       | 3.70     | 7.9     | 10.47      | 10.88    | 4.0     |
| 2  | 3.74       | 5.50       | 5.81     | 5.6     | 2.97       | 3.16     | 6.4     | 8.50       | 8.72     | 2.6     |
| 3  | 2.50       | 5.88       | 6.23     | 5.9     | 4.09       | 4.37     | 6.8     | 11.37      | 11.70    | 2.9     |
| 4  | 1.85       | 4.24       | 4.50     | 6.1     | 2.95       | 3.15     | 7.0     | 8.90       | 9.18     | 3.1     |
| 5  | 1.06       | 5.44       | 5.82     | 7.0     | 3.19       | 3.44     | 7.9     | 9.87       | 10.26    | 4.0     |
| 6  | 2.84       | 5.02       | 5.31     | 5.8     | 2.83       | 3.02     | 6.5     | 8.55       | 8.79     | 2.7     |
| 7  | 2.96       | 4.94       | 5.22     | 5.7     | 3.74       | 3.99     | 6.7     | 9.70       | 9.96     | 2.8     |
| 8  | 1.11       | 4.42       | 4.73     | 6.9     | 4.00       | 4.31     | 7.9     | 9.76       | 10.14    | 3.9     |
| 9  | 1.71       | 4.36       | 4.63     | 6.2     | 2.91       | 3.11     | 7.1     | 8.04       | 8.30     | 3.2     |
| 10 | 3.27       | 5.23       | 5.52     | 5.7     | 3.03       | 3.23     | 6.5     | 8.86       | 9.09     | 2.7     |

### 10 实施例 3

取穿心莲胶囊装量差异项下的内容物, 研细, 取约 0.5g, 精密称定, 置 25mL 容量瓶中, 精密加入 40% 甲醇至刻度, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 40% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取滤液过 0.45μm 滤膜, 取滤液 10μL 进样。

15 取穿心莲内酯对照品适量, 精密称定, 置于容量瓶中, 加甲醇制成每 1mL 含有 0.1mg 的对照品溶液, 取对照品溶液过 0.45μm 滤膜, 取续滤液 10μL 进样。

高效液相色谱法的色谱条件是: 采用十八烷基键合硅胶为固定相: 用连续梯度洗脱, 流动相 A 为乙腈; 流动相 B 为 0.2%v/v 磷酸溶液; 连续梯度洗脱程序如下:

0min 时, 流动相 A 为 20%, 流动相 B 为 80%;

55min 时, 流动相 A 为 40%, 流动相 B 为 60%;

70min 时, 流动相 A 为 85%, 流动相 B 为 15%;

流速为 1mL/min; 检测波长为 205nm; 柱温为室温。分别得到穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的峰面积。

按以下公式计算药材中穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量。

5        公式: 含量(mg/g) = (C<sub>S</sub>/W) × (A<sub>U</sub>/A<sub>S</sub>) × 25F

C<sub>S</sub> 穿心莲对照品的浓度 (mg/mL);

W 样品取样量(g);

A<sub>U</sub> 样品中其他内酯类成分的峰面积;

A<sub>S</sub> 穿心莲内酯对照品的峰面积;

10        F 相对校正因子 (穿心莲内酯 1、新穿心莲内酯 1.150、去氧穿心莲内酯 0.779、脱水穿心莲内酯 0.721)。

取 10 批穿心莲胶囊样品分别测定了 10 次, 结果见表 3, 误差均在 10% 以内的范围。

表 3    10 批穿心莲胶囊含量测定结果比较

| 编号 | 穿心莲内酯      | 新穿心莲内酯     |          |         | 去氧穿心莲内酯    |          |         | 脱水穿心莲内酯    |          |         |
|----|------------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|
|    | 含量<br>mg/g | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% |
| 1  | 2.46       | 1.28       | 1.36     | 6.3     | 2.97       | 3.07     | 3.4     | 12.42      | 13.02    | 4.8     |
| 2  | 1.02       | 3.26       | 3.17     | -2.8    | 5.34       | 5.59     | 4.7     | 9.76       | 9.54     | -2.3    |
| 3  | 3.05       | 4.55       | 4.56     | 0.2     | 3.17       | 3.07     | -3.2    | 10.73      | 10.67    | -0.6    |
| 4  | 1.77       | 3.19       | 3.25     | 1.9     | 2.48       | 2.35     | -5.2    | 11.59      | 12.14    | 4.7     |
| 5  | 2.86       | 2.62       | 2.78     | 6.1     | 3.05       | 3.14     | 3.0     | 14.32      | 14.57    | 1.7     |
| 6  | 2.32       | 2.49       | 2.46     | -1.2    | 2.13       | 2.19     | 2.8     | 12.86      | 13.08    | 1.7     |
| 7  | 1.98       | 4.38       | 4.21     | -3.9    | 2.34       | 2.44     | 4.3     | 12.74      | 12.62    | -0.9    |
| 8  | 1.81       | 3.05       | 2.87     | -5.9    | 2.61       | 2.57     | -1.5    | 12.08      | 11.67    | -3.4    |
| 9  | 4.73       | 2.81       | 2.93     | 4.3     | 2.88       | 2.79     | -3.1    | 12.96      | 12.35    | -4.7    |
| 10 | 3.29       | 2.57       | 2.52     | -1.9    | 1.62       | 1.70     | 4.9     | 13.04      | 12.94    | -0.8    |

15        **实施例 4**

取穿心莲丸剂适量, 粉碎, 取约 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60%乙醇 25mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 60%乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取滤液过 0.45μm 滤膜, 取滤液 10μL 进样。

20        取穿心莲内酯对照品适量, 精密称定, 置于容量瓶中, 加甲醇制成每 1mL 含有 0.1mg 的对照品溶液, 取对照品溶液过 0.45μm 滤膜, 取续滤液 10μL 进样。

高效液相色谱法的色谱条件是：采用十八烷基键合硅胶为固定相：用连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为水；连续梯度洗脱程序如下：

0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；

55min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；

5 70min 时，流动相 A 为 65%，流动相 B 为 35%；

流速为 1mL/min；检测波长为 205nm；柱温为 10℃。分别得到穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的峰面积。

按以下公式计算药材中穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量。

10 公式：含量(mg/g) = (C<sub>S</sub>/W) × (A<sub>U</sub>/A<sub>S</sub>) × 25F

C<sub>S</sub> 穿心莲对照品的浓度 (mg/mL)；

W 样品取样量(g)；

A<sub>U</sub> 样品中其他内酯类成分的峰面积；

A<sub>S</sub> 穿心莲内酯对照品的峰面积；

15 F 相对校正因子（穿心莲内酯 1、新穿心莲内酯 1.150、去氧穿心莲内酯 0.779、脱水穿心莲内酯 0.721）。

取 10 批穿心莲丸剂样品分别测定了 10 次，结果见表 4，误差均在 10% 以内的范围。

表 4 10 批穿心莲丸剂含量测定结果比较

| 编号 | 穿心莲内酯      | 新穿心莲内酯     |          |         | 去氧穿心莲内酯    |          |         | 脱水穿心莲内酯    |          |         |
|----|------------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|
|    | 含量<br>mg/g | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% |
| 1  | 3.23       | 0.54       | 0.55     | 1.9     | 2.29       | 2.26     | -1.1    | 10.23      | 10.14    | -0.8    |
| 2  | 5.08       | 1.37       | 1.34     | -2.2    | 2.70       | 2.81     | 3.9     | 9.91       | 10.30    | 3.9     |
| 3  | 1.87       | 1.68       | 1.71     | 1.8     | 2.40       | 2.47     | 3.1     | 8.12       | 8.37     | 3.2     |
| 4  | 2.69       | 2.61       | 2.59     | -0.8    | 2.98       | 3.09     | 3.5     | 8.86       | 9.09     | 2.7     |
| 5  | 4.65       | 1.95       | 1.89     | -3.1    | 2.15       | 2.23     | 3.7     | 8.79       | 8.69     | -1.1    |
| 6  | 3.53       | 3.57       | 3.64     | 2.0     | 3.78       | 3.95     | 4.3     | 7.60       | 8.09     | 6.4     |
| 7  | 6.79       | 4.67       | 4.57     | -2.1    | 3.85       | 4.07     | 5.5     | 8.71       | 8.99     | 3.2     |
| 8  | 2.16       | 3.47       | 3.58     | 3.2     | 4.52       | 4.75     | 5.1     | 10.93      | 11.32    | 3.6     |
| 9  | 3.82       | 2.94       | 2.88     | -2.0    | 3.62       | 3.78     | 4.3     | 11.85      | 11.69    | -1.4    |
| 10 | 1.47       | 2.93       | 2.94     | 0.3     | 1.20       | 1.21     | 1.5     | 7.93       | 8.14     | 2.5     |

20 实施例 5

精密量取穿心莲注射液 2.00mL，置中性氧化铝柱(200~300 目，5g，内径 1.5cm)上，用甲醇 80mL 洗脱，收集洗脱液于 100mL 量瓶中，加甲醇

稀释至刻度，摇匀，滤过，精密量取续滤液 5mL 于 50mL 量瓶中，加甲醇至刻度（即稀释倍数为 10 倍），摇匀，滤过，取滤液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取滤液 10 $\mu$ L 进样。

取穿心莲内酯对照品适量，精密称定，置于容量瓶中，加甲醇制成每 5 1mL 含有 0.1mg 的对照品溶液，取对照品溶液过 0.45 $\mu$ m 滤膜，取续滤液 10 $\mu$ L 进样。

高效液相色谱法的色谱条件是：采用十八烷基键合硅胶为固定相：用连续梯度洗脱，流动相 A 为乙腈；流动相 B 为 0.2%v/v 磷酸溶液；连续梯度洗脱程序如下：

10 0min 时，流动相 A 为 20%，流动相 B 为 80%；  
55min 时，流动相 A 为 40%，流动相 B 为 60%；  
70min 时，流动相 A 为 65%，流动相 B 为 35%；

流速为 1mL/min；检测波长为 205nm；柱温为 10℃。分别得到穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的峰面积。

15 按以下公式计算药材中穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量。

公式：含量(mg/g) =  $(C_s/W) \times (A_U/A_S) \times 100 \times 10 \times F$

$C_s$  穿心莲对照品的浓度 (mg/mL)；

$W$  样品取样量(g)；

20  $A_U$  样品中其他内酯类成分的峰面积；

$A_S$  穿心莲内酯对照品的峰面积；

$F$  相对校正因子（穿心莲内酯 1、新穿心莲内酯 1.150、去氧穿心莲内酯 0.779、脱水穿心莲内酯 0.721）。

25 取 10 批穿心莲注射液样品分别测定了 10 次，结果见表 5，误差均在 10%以内的范围。

表 5 10 批穿心莲注射液含量测定结果比较

| 编号 | 穿心莲内酯      | 新穿心莲内酯     |          |         | 去氧穿心莲内酯    |          |         | 脱水穿心莲内酯    |          |         |
|----|------------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|---------|
|    | 含量<br>mg/g | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% | 含量<br>mg/g | 一测<br>多评 | 误差<br>% |
| 1  | 4.34       | 5.21       | 5.51     | 5.6     | 2.83       | 3.02     | 6.5     | 9.66       | 9.39     | -2.8    |
| 2  | 4.56       | 5.25       | 5.55     | 5.6     | 3.00       | 3.20     | 6.5     | 10.42      | 9.92     | -4.8    |
| 3  | 3.50       | 4.15       | 4.44     | 7.0     | 4.16       | 4.03     | -3.2    | 11.27      | 11.85    | 5.2     |
| 4  | 4.20       | 4.21       | 4.50     | 7.0     | 4.04       | 4.36     | 7.9     | 11.02      | 11.19    | 1.5     |
| 5  | 3.35       | 6.81       | 6.56     | -3.7    | 2.91       | 3.11     | 7.1     | 11.94      | 12.28    | 2.9     |
| 6  | 2.39       | 6.79       | 6.56     | -3.3    | 2.99       | 3.18     | 6.5     | 12.11      | 12.46    | 2.9     |

|    |      |      |      |      |      |      |      |       |       |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|
| 7  | 2.43 | 4.49 | 4.38 | -2.5 | 3.32 | 3.19 | -3.9 | 12.89 | 12.44 | -3.5 |
| 8  | 3.37 | 4.01 | 4.29 | 7.0  | 4.34 | 4.69 | 8.1  | 11.91 | 12.27 | 3.0  |
| 9  | 3.98 | 6.72 | 7.12 | 6.0  | 3.50 | 3.81 | 8.8  | 12.07 | 12.76 | 5.7  |
| 10 | 2.38 | 6.86 | 7.27 | 5.9  | 3.97 | 4.30 | 8.5  | 11.39 | 12.00 | 5.4  |

---

以上仅是本发明的优选实施方式，应当指出的是，上述优选实施方式不应视为对本发明的限制，本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。

## 权 利 要 求

1. 穿心莲药材或其制剂的检测方法, 包括采用高效液相色谱法建立穿心莲药材或其制剂的色谱图, 以穿心莲内酯为内标, 运用新穿心莲内酯、  
5 去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元各自与所述穿心莲内酯的相对校正因子计算得出新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元中一种以上成分的含量。

2. 根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯或新穿心莲内酯苷元的含量的计算公式如下:  
10 下:

含量(mg/g) =  $(C_S/W) \times (A_U/A_S) \times V \times D \times F$   
 $C_S$  穿心莲对照品的浓度, 单位为 mg/mL;  
 $W$  样品取样量, 单位为 g;  
 $A_U$  样品中其他内酯类成分的峰面积;  
 15  $A_S$  穿心莲内酯对照品的峰面积;  
 $V$  提取溶剂的体积, 单位为 mL;  
 $D$  稀释倍数;  
 $F$  相对校正因子;  
 其中相对校正因子  $F$  的计算公式如下:

$$20 \quad F = \frac{f_S}{f_K} = \frac{W_K \times A_S}{W_S \times A_K}$$

式中,  $A_S$  为穿心莲内酯对照品的峰面积,  $W_S$  为穿心莲内酯对照品的浓度或质量,  $A_K$  为某待测成分的峰面积;  $W_K$  为某待测成分的浓度或质量。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法, 其特征在于, 所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子范围分别为 0.5-15、0.5-15、0.1-5、0.5-15; 优选所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子分别为  
25 1.150±0.30、0.779±0.30、0.721±0.30、2.41±0.30; 更优选所述新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和新穿心莲内酯苷元的相对校正因子分别为 1.150±0.15、0.779±0.15、0.721±0.15、2.41±0.15。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的方法, 其特征在于, 样品测定时, 穿心莲药材或其制剂用甲醇或乙醇的水溶液浸泡 0-1 小时, 超声处理 0-1 小时, 定容, 过滤, 取滤液, 然后进行高效液相色谱分析。

5. 根据权利要求 4 所述的方法, 其特征在于, 所述甲醇或乙醇的水溶液为 10-100%v/v 甲醇或乙醇水溶液。

6. 根据权利要求 4 所述的方法, 其特征在于, 所述超声处理为 0-0.5 小时。

5        7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述高效液相色谱的色谱条件为:

十八烷基键合硅胶为固定相;

连续梯度洗脱, 流动相 A 为乙腈; 流动相 B 为水或稀酸水溶液; 0min 时, 流动相 A 为 10-40%, 流动相 B 为 90-60%; 40-70min 时, 流动相 A 为 20-60%, 流动相 B 为 80-40%; 70min 以后, 流动相 A 为 60-100%, 流动相 B 为 40-0%;

流动相流速为 0.5-2mL/min;

检测波长为 190-400nm;

柱温为 0-50℃。

15        8. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述高效液相色谱的色谱条件为:

十八烷基键合硅胶为固定相;

连续梯度洗脱, 流动相 A 为乙腈; 流动相 B 为水或稀酸水溶液; 0min 时, 流动相 A 为 20%, 流动相 B 为 80%; 50-60min 时, 流动相 A 为 40%, 流动相 B 为 60%; 65-75min 时, 流动相 A 为 65%, 流动相 B 为 35%;

流动相流速为 1mL/min;

检测波长为 200-230nm;

柱温为 0-30℃。

9. 根据权利要求 7 或 8 所述的方法, 其特征在于, 所述的流动相 B 的稀酸水溶液包括甲酸水溶液、磷酸水溶液或冰醋酸水溶液; 优选所述稀酸水溶液浓度为 0.05-0.5%v/v; 更为优选所述磷酸水溶液浓度为 0.2%v/v。

10. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述高效液相色谱的色谱条件为:

十八烷基键合硅胶为固定相;

30        连续梯度洗脱, 流动相 A 为乙腈; 流动相 B 为水; 0min 时, 流动相 A 为 20%, 流动相 B 为 80%; 55min 时, 流动相 A 为 40%, 流动相 B 为 60%; 70min 时, 流动相 A 为 65%, 流动相 B 为 35%;

流动相流速为 1mL/min;

检测波长为 200-210nm 或 220-230nm; 优选所述检测波长为 205nm 或 225nm;

柱温为 10℃。

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述制剂
- 5 包括固体制剂、半固体制剂和液体制剂; 优选所述制剂选自片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、注射剂和软膏剂。