

HPLC法测定健胃消炎颗粒中大黄素和大黄酚的含量

陆建平*(丹阳市人民医院,江苏 丹阳 212300)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)24-2285-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.24.26

摘要 目的:建立测定健胃消炎颗粒中大黄素和大黄酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为大连依利特 Sino-Chrom C₁₈柱,流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(80:20, V/V),检测波长为254 nm,柱温为30 ℃,流速为1.0 ml/min,进样量为20 μl。结果:大黄素、大黄酚检测质量浓度分别在1.1~5.5、2.85~14.25 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$ 和 $0.999\ 6$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 1.76\%$;平均加样回收率分别为104.43%、108.04%,RSD分别为1.76%、0.62% ($n=6$)。结论:该法简单、准确、重复性好、专属性强,可用于健胃消炎颗粒的质量控制。

关键词 健胃消炎颗粒;大黄素;大黄酚;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Emodin and Chrysophanol in Jianwei Xiaoyan Granules

LU Jian-ping(Danyang People's Hospital, Jiangsu Danyang 212300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of emodin and chrysophanol in Jianwei xiaoyan granules. METHODS: HPLC method was adopted. A SinoChrom C₁₈ column of Dalian Elite was used with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (80:20, V/V) with flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 254 nm and column temperature was 30 ℃. The sample size was 20 μl. RESULTS: The linear ranges were 1.1-5.5 μg/ml for emodin ($r=0.999\ 7$) and 2.85-14.25 μg/ml for chrysophanol ($r=0.999\ 6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than and equal to 1.76%. Average recoveries were 104.43% (RSD=1.76%, $n=6$) and 108.04% (RSD=0.62%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, reproducible and specific, can be used for quality control of Jianwei xiaoyan granules.

KEY WORDS Jianwei xiaoyan granules; Emodin; Chrysophanol; HPLC; Content determination

健胃消炎颗粒为卫生部药品标准中药成方制剂(第17册)收载的品种,主要由党参、白芍、赤芍、茯苓、白术(麸炒)、丹参、大黄等中药组成,具有健脾和胃、理气活血等功效,用于治疗脾胃不和所致的上腹疼痛、痞满纳差以及慢性胃炎等^[1]。由于该药成分较多,且相互之间彼此影响,已有学者研究了该药的质量标准和其中白芍、赤芍的有效成分芍药苷的含量测定方法^[2],但该药中其他成分的含量测定尚未见文献报道。该药中所用大黄主要起活血祛瘀、清热攻积的作用,为了更好地控制产品质量,进一步提高该药的质量标准,确保临床疗效,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对该药中大黄的主要成分大黄素和大黄酚的含量进行了测定。

1 材料

LC-10A HPLC 仪器系统(日本岛津公司);电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);KQ-600DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

大黄素、大黄酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110756-200110、796-9301,供含量测定用);健胃消炎颗粒(江苏苏中药业集团股份有限公司,批号:11122412、11060912、11032409,规格:每袋10 g);甲醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司);其余试剂为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:大连依利特 SinoChrom C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,

* 主管药师,本科。研究方向:药物分析。E-mail: zxl726@163.com

5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(80:20, V/V)^[3];检测波长:254 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃^[4];进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取大黄素、大黄酚对照品各11.0 mg,分别置于50 ml量瓶中,各自用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,用移液管分别精密吸取两种溶液2.0、5.0 ml,置于同一20 ml量瓶中,加甲醇制成每1 ml中含有大黄素57.0 μg、大黄酚22.0 μg的混合溶液,即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取健胃消炎颗粒研磨成细粉,精密称取粉末2.497 2 g,置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,在65 ℃下回流30 min,放冷,用甲醇补足减失质量,滤过,精密量取续滤液10 ml,置于100 ml量瓶中,减压回收溶剂至干,残渣加体积分数为8%的盐酸溶液10 ml,超声2 min溶解,再加20 ml三氯甲烷,在70 ℃水浴中回流1 h,放冷,置于分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液再用三氯甲烷提取3次,每次20 ml,合并各次三氯甲烷液,减压回收溶剂至干,残渣转移至25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液^[5]。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除大黄以外的其余药材,按制备工艺制成缺大黄的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液适量,在“2.1”项色谱条件下进样20 μl,记录色谱,详见图1。由图1可知,理论板数按大黄素计算不低于4 000,按大黄酚计算不低于

3 000, 大黄素峰的保留时间约 13.2 min, 大黄酚峰的保留时间约 17.3 min; 阴性对照在大黄素和大黄酚出峰处均无干扰峰, 大黄素、大黄酚与其他组分可完全分离。

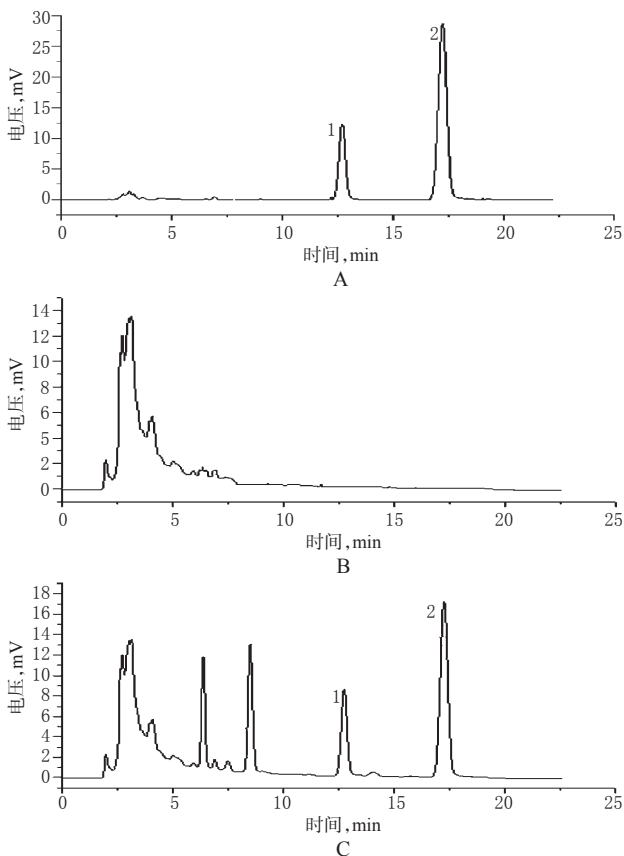


图1 高效液相色谱图
A. 对照品; B. 阴性对照; C. 供试品; 1. 大黄素; 2. 大黄酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. negative control; C. test sample; 1. emodin; 2. chrysophanol

2.4 线性关系考察

分别取“2.2.1”项下对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 分别用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 依次注入 HPLC 仪, 测定其峰面积。以待测成分检测质量浓度(x)为横坐标, 峰面积(y)为纵坐标, 进行线性回归, 得大黄素的回归方程 $y = 79\,896x - 503.9 (r = 0.999\,7)$, 大黄酚的回归方程 $y = 92\,758x - 9\,815.7 (r = 0.999\,6)$ 。结果表明, 大黄素、大黄酚检测质量浓度分别在 1.1~5.5、2.85~14.25 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下同一对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件重复进样 5 次, 测定。结果, 大黄素、大黄酚的 RSD 分别为 1.28% 和 1.13% ($n = 5$), 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下同一供试品溶液适量, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果, 大黄素、大黄酚的 RSD 分别为 1.44% 和 1.76% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 12 h 内质量稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号(11122412)的样品适量, 按“2.2.2”项下方法

平行制备 5 份供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果, 大黄素、大黄酚的 RSD 分别为 1.30% 和 1.58% ($n = 5$), 表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品粉末 6 份(约 0.1 g), 分别精密加入低、中、高质量浓度的对照品适量, 按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定大黄素、大黄酚含量, 并计算加样回收率, 结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果($n = 6$)

Tab 1 Results of recovery tests($n = 6$)

所含量, μg		加入量, μg		测得量, μg		加样回收率, %		平均加样回收率, %		RSD, %	
大黄素	大黄酚	大黄素	大黄酚	大黄素	大黄酚	大黄素	大黄酚	大黄素	大黄酚	大黄素	大黄酚
5.14	11.52	4.40	9.12	10.16	22.45	106.51	108.75				
5.15	11.53	4.40	9.12	10.19	22.06	106.74	106.83				
5.15	11.54	5.50	11.4	11.12	24.79	104.43	108.06				
5.16	11.80	5.50	11.4	10.91	25.17	102.36	108.52	104.43	108.04	1.76	0.62
5.15	11.73	6.60	13.68	12.09	27.50	102.91	108.22				
5.14	11.53	6.60	13.68	12.16	27.19	103.62	107.85				

2.9 样品含量测定

分别取 3 批样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积, 计算样品中大黄素和大黄酚的含量, 同一批次样品进行 3 次平行试验, 以 3 次测得的平均值计, 结果见表 2。

表2 样品含量测定结果($n = 3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n = 3$)

批号	大黄素		大黄酚	
	含大黄素的量, mg/g	RSD, %	含大黄酚的量, mg/g	RSD, %
11122412	0.050 9	0.76	0.116 1	0.54
11060912	0.052 5	0.68	0.119 4	0.51
11032409	0.051 9	0.73	0.117 2	0.59

3 讨论

3.1 检测波长的选择

笔者查阅文献中关于大黄素和大黄酚含量测定方法中的波长选择, 并查阅《中国药典》2010 年版(一部)大黄项下大黄素和大黄酚含量测定方法中采用的波长, 通过比较, 最终选择 254 nm 为测定波长。

3.2 流动相的选择

笔者曾以甲醇-水-磷酸、甲醇-水-冰醋酸、乙腈-水-磷酸、乙腈-水-冰醋酸等不同体积分数、不同比例的流动相进行试验。结果, 选择甲醇-0.1% 磷酸溶液(80:20, V/V)为流动相, 可以将大黄素和大黄酚很好地分离。

3.3 提取条件的选择

笔者在“2.2.2”项下供试品溶液的制备中, 曾采用加入甲醇超声提取 30 min 的方法, 与 65 $^{\circ}\text{C}$ 回流的方法进行比较。结果发现, 回流提取大黄素和大黄酚的量高于超声提取。而且, 采用不同浓度乙醇提取的效果不如甲醇提取的效果好。因此, 应采用先以甲醇回流提取 30 min, 再以盐酸和三氯甲烷提取的方法制备大黄素和大黄酚供试品溶液。

综上所述, 本方法简便、准确、重复性好、专属性强, 有利于更好地控制健胃消炎颗粒的质量。

参考文献

[1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中

两种熊去氧胆酸软胶囊主药含量测定方法的比较

隋玉荣^{1*}, 丁 一², 黄哲魁¹ (1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)24-2287-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.24.27

摘要 目的: 建立和优选测定熊去氧胆酸软胶囊主药含量的方法。方法: 分别采用高效液相色谱柱前衍生测定法(一法)和直接测定法(二法)。色谱柱为 SHISEIDO CAPCELL PAK-C₁₈ 柱, 一法流动相为甲醇-0.1% 磷酸(80:20, V/V), 检测波长为 254 nm, 柱温为 40 ℃, 流速为 1.0 ml/min, 进样量为 10 μl; 二法流动相为乙腈-0.001 mol/L 磷酸二氢钾溶液(磷酸调 pH 值为 2.0, 47:53, V/V), 检测波长为 210 nm, 柱温为 35 ℃, 流速为 1.0 ml/min, 进样量为 20 μl。结果: 一法和二法熊去氧胆酸检测质量浓度分别在 0.033 71~0.101 12、0.8~3.2 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$ 和 $0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均 ≤ 1.5%; 平均回收率分别为 99.51%、101.40%, RSD 分别为 0.65%、0.69% (均 $n=9$)。结论: 两种方法均可满足检测要求, 但直接测定法操作更简便, 结果更准确、可靠, 可作为熊去氧胆酸软胶囊的质量控制方法。

关键词 熊去氧胆酸软胶囊; 高效液相色谱法; 含量测定

Comparison of 2 Determination Methods of Main Components in Ursodeoxycholic Acid Soft Capsules

SUI Yu-rong¹, DING Yi², HUANG Zhe-su¹ (1. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of main components in Ursodeoxycholic acid soft capsules. METHODS: HPLC method was adopted: pre-column derivatization method (method 1) and direct determination (method 2). The separation was performed on SHISEIDO CAPCELL PAK-C₁₈ column; the condition of method 1: the mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (80:20, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min; the detection wavelength was set at 254 nm and column temperature was 40 ℃. The condition of method 2: the mobile phase consisted of acetonitrile-0.001 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH adjusted to 2.0 with phosphoric acid, 47:53, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min; the detection wavelength was set at 210 nm and column temperature was 35 ℃. RESULTS: The linear range of ursodeoxycholic acid was 0.033 71-0.101 12 mg/ml by method 1 ($r=0.999\ 8$) and 0.8-3.2 mg/ml by method 2 ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than and equal to 1.5%; average recoveries were 99.51% (RSD=0.65%, $n=9$) and 101.40% (RSD=0.69%, $n=9$). CONCLUSIONS: The two methods are in line with the requirements. The method 2 is simple and accurate, and can be used for quality control of Ursodeoxycholic acid soft capsules.

KEY WORDS Ursodeoxycholic acid soft capsules; HPLC; Content determination

熊去氧胆酸软胶囊临床上主要用于胆固醇性胆囊结石、胆汁反流性胃炎以及胆汁淤积性肝病^[1]。该药生产企业标准含量测定采用滴定法, 误差大、重复性不好。熊去氧胆酸胶囊、片剂的主药含量测定方法在《英国药典》2013 年版^[2]、《美国药典》最新版^[3]和《中国药典》2010 年版^[4]中均分别有收载, 且均采用高效液相色谱(HPLC)法; 亦有文献报道采用 HPLC 法测定熊去氧胆酸胶囊^[5]、熊去氧胆酸片^[6]中主药的含量。但以上方法均不能解决软胶囊辅料基质对主成分测定的干扰问题。本研究在参考《中国药典》及企业标准基础上, 分别采用 HPLC

柱前衍生测定法^[7](一法)和直接测定法(二法)测定熊去氧胆酸软胶囊中主药的含量, 并分别对两种方法的线性关系、精密度、回收率等结果进行比较, 确立以二法即 HPLC 直接测定法作为熊去氧胆酸软胶囊的质量控制方法。

1 材料

LC-2010A 型 HPLC 仪, 包括 CLASS-VP 数据处理系统等(日本岛津公司); AE260 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); AS 20500AD 超声波清洗机(天津市奥特赛恩斯科学仪器有限公司)。

- 药成方制剂: 第十七册[S]. WS3-B-3296-98, 1998: 210.
- [2] 庄明蕊, 徐丽华. 健胃消炎颗粒有效成分含量测定方法的建立[J]. 齐鲁医学杂志, 2007, 22(5): 447.
- [3] 张红霞, 金艺, 许海燕, 等. HPLC 法测定胃力片中大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量[J]. 沈阳药科大学

- 学报, 2007, 24(7): 417.
- [4] 姚仲青. HPLC 法同时测定黄连上清丸中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量[J]. 中草药, 2001, 32(8): 699.
- [5] 陈兴田, 黄金华. HPLC 法测定导赤丸中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量[J]. 中国医药指南, 2011, 9(27): 179.

* 副主任药师, 本科。研究方向: 生物化学药物分析、药品质量控制。电话: 022-23374073。E-mail: tj_plmm@163.com

(收稿日期: 2012-09-25 修回日期: 2013-03-06)