

炎消迪娜儿糖浆中五种蒽醌类成分的含量测定

王登峰¹ 罗云² 张明伟¹ (1. 湖北省中山医院药学部 武汉 430033;2. 湖北和谐药业有限公司)

摘要 目的: 建立炎消迪娜儿糖浆中五种蒽醌类成分含量测定方法。**方法:** 采用 HPLC 法, 色谱柱: DIONEX Acclaim 120A C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 254 nm, 流速: 1.0 ml·min⁻¹; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μl。**结果:** 芦荟大黄素, 大黄酸, 大黄素, 大黄酚和大黄素甲醚分别在 0.018 7~0.467 0 μg ($r=0.999\ 8$), 0.020 2~0.504 0 μg ($r=0.999\ 9$), 0.013 0~0.390 6 μg ($r=0.999\ 9$), 0.013 3~0.399 9 μg ($r=0.999\ 9$) 和 0.009 3~0.277 8 μg ($r=0.999\ 9$) 范围内线性关系良好, 回收率分别为 94.30% ($RSD=2.68\%, n=6$), 95.49% ($RSD=2.50\%, n=6$), 93.70% ($RSD=2.42\%, n=6$), 92.52% ($RSD=2.40\%, n=6$) 和 93.72% ($RSD=2.54\%, n=6$)。**结论:** 该方法准确, 灵敏, 重复性好, 可作为炎消迪娜儿糖浆质量控制的依据。

关键词 炎消迪娜儿糖浆; 蒽醌类; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2014)11-1867-03

Determination of Five Anthraquinones Constituents in Yanxiaodinaer Syrups

Wang Dengfeng¹, Luo Yun², Zhang Mingwei¹ (1. Department of Pharmacy, Hubei Zhongshan Hospital, Wuhan 430033, China; 2. Hubei Hexie Pharmaceutical Co. Ltd.)

ABSTRACT Objective: To establish the method for the determination of five anthraquinones constituents including aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion in Yanxiaodinaer syrups. **Methods:** An HPLC method was used with a DIONEX Acclaim 120A C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid with gradient elution at flow rate of 1.0 ml·min⁻¹. The detection wavelength was 254nm, the column temperature was 30℃ and the injection volume was 10 μl. **Results:** The linear ranges of the five anthraquinones were 0.018 7-0.467 0 μg ($r=0.999\ 8$), 0.020 2-0.504 0 μg ($r=0.999\ 9$), 0.013 0-0.390 6 μg ($r=0.999\ 9$), 0.013 3-0.399 9 μg ($r=0.999\ 9$) and 0.009 3-0.277 8 μg ($r=0.999\ 9$), and the recoveries were 94.30% ($RSD=2.68\%, n=6$), 95.49% ($RSD=2.50\%, n=6$), 93.70% ($RSD=2.42\%, n=6$), 92.52% ($RSD=2.40\%, n=6$) and 93.72% ($RSD=2.54\%, n=6$), respectively. **Conclusion:** The method is accurate, sensitive and reproducible, which can be used as the basis for the quality control of Yanxiaodinaer syrups.

KEY WORDS Yanxiaodinaer syrups; Anthraquinones; HPLC; Determination

炎消迪娜儿糖浆处方由菊苣根、菊苣子、玫瑰花、大黄、睡莲花、牛舌草、菟丝子等七味药材组成,

通讯作者: 张明伟 Tel: (027)83743192 E-mail: zmw20081@sina.com

原收载于《卫生部药品标准》维吾尔药分册 WS3-BW-0156-98,工艺为以上七味,加水煎煮 3 次,合并煎液浓缩,加入一定量蔗糖,加水调整总量,即得。本品功能利尿、消肿、降热、止痛,用于各种肝炎、胆囊炎、尿路感染等。大黄功效泻热攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄,在此方中发挥重要作用,因此选择测定大黄中有效成分的含量^[1]。

1 仪器与试药

日本岛津液相色谱仪;DIONEX U3000 高效液相色谱仪;Waters- e2695-2489 液相色谱仪;芦荟大黄素(批号:110736-200629 以98.6%计),大黄酸(批号:0757-200206),大黄素(批号:110756-2001100),大黄酚(批号:110796-201017 以99.6%计),大黄素甲醚(批号:110758-200912 以98.4%计)均由中国食品药品检定研究院提供。乙腈,甲醇均为色谱纯,水为重蒸馏水。样品分别来自武汉健民药业集团股份有限公司两批:批号为110301、110302;新疆维吾尔药业有限责任公司四批:批号为101223、100335、110405、110604。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

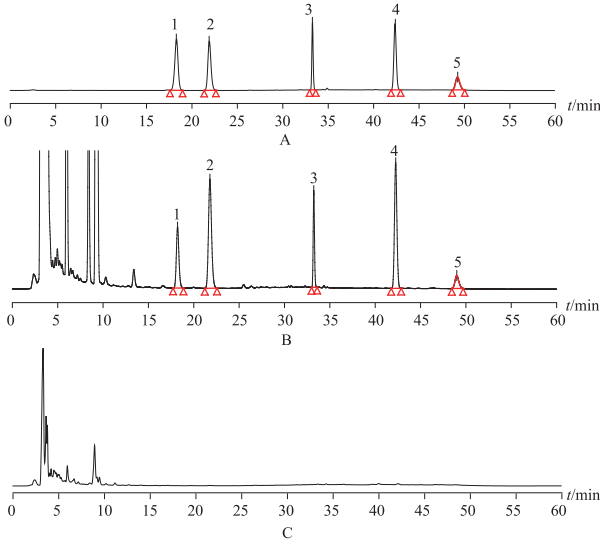
色谱柱:DIONEX Acclaim 120A C₁₈(250 mm × 4.6 mm,5 μm),乙腈(A)-0.1%磷酸(B),进行梯度洗脱:0~20 min,15% A;20~25 min,15% A→60% A;25~38 min,60% A;38~40 min,60% A→15% A;检测波长 254 nm;流速:1.0 ml · min⁻¹;柱温:30℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取芦荟大黄素对照品,大黄酸对照品,大黄素对照品,大黄酚对照品,大黄素甲醚对照品适量,加甲醇分别制成每 1 ml 含芦荟大黄素 10 μg,大黄酸 20 μg,大黄素 10 μg,大黄酚 15 μg,大黄素甲醚 5 μg 的混合溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取装量差异项下本品 10 ml,置烧瓶中,加 10% 盐酸 15 ml,三氯甲烷 10 ml,加热回流 60 min,放冷,置分液漏斗中,分取三氯甲烷层,水层再用三氯甲烷振摇提取 5 次,每次 20 ml,合并三氯甲烷液,挥干溶剂,残渣加甲醇使溶解,转移至 10 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 取处方中除大黄以外的其他药味,按工艺制得缺大黄的阴性样品,按“2.2.2”项下方法阴性样品溶液。对照品,供试品及阴性样品溶液色谱图见图 1,从图中可见阴性样品不干扰测定。



A. 混合对照品 B. 供试品 C. 阴性样品 1. 芦荟大黄素
2. 大黄酸 3. 大黄素 4. 大黄酚 5. 大黄素甲醚

图 1 HPLC 色谱图

2.3 方法学研究

2.3.1 线性关系考察 精密称取芦荟大黄素 9.34 mg,大黄素6.51 mg,大黄酚6.65 mg,大黄酸 5.04 mg,分别置 50 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,作为贮备液;精密称取贮备液适量,制成分别含芦荟大黄素0.018 7 mg · ml⁻¹,大黄酸0.020 2 mg · ml⁻¹,大黄素0.013 0 mg · ml⁻¹,大黄酚0.013 3 mg · ml⁻¹,大黄素甲醚0.009 3 mg · ml⁻¹的混合对照品溶液。分别精密吸取混合对照品溶液 1,2,5,10,20,25,30 μl,按色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标,各成分进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,计算峰面积 A 与进样量 C 的回归方程,结果:芦荟大黄素在0.018 7~0.467 0 μg 范围内,线性方程为:A = 5.32 × 10⁶C + 1.67 × 10⁴,r = 0.999 8;大黄酸在0.020 2~0.504 0 μg 范围内,线性方程为:A = 4.75 × 10⁶C - 1.16 × 10⁴,r = 0.999 9;大黄素在0.013 0~0.390 6 μg 范围内,线性方程为:A = 4.14 × 10⁶C - 1.48 × 10³,r = 0.999 9;大黄酚在0.013 3~0.399 9 μg 范围内,线性方程为:A = 6.46 × 10⁶C - 6.08 × 10³,r = 0.999 9;大黄素甲醚在0.009 3~0.277 8 μg 范围内,线性方程为:A = 3.72 × 10⁶C - 1.39 × 10⁵,r = 0.999 9;结果表明,5 种成分均线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 用同一混合对照品溶液,分别进样 5 次,测定 5 类成分的峰面积,结果各成分峰面积的 RSD 分别为:芦荟大黄素1.40% (n = 5),大黄酸1.24% (n = 5),大黄素1.11% (n = 5),大黄酚1.33% (n = 5),大黄素甲醚1.78% (n = 5)。

2.3.3 重复性试验 精密量取同一批号本品 6 份

(武汉健民药业集团有限公司 批号:110301) 10 ml, 按供试品溶液制备, 依法测定, 结果以平均含量及 $RSD(n=6)$ 分别为表示, 芦荟大黄素: $16.09\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (2.24%), 大黄酸: $40.90\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (2.39%), 大黄素: $19.13\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (2.50%), 大黄酚: $29.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (1.98%), 大黄素甲醚: $9.07\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (2.40%), 五者总量: $114.40\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (1.18%)。

2.3.4 加样回收率试验 精密量取同一批号本品 6 份(武汉健民药业集团有限公司, 批号:110301) 5 ml, 分别按下表加入相应对照品(芦荟大黄素 $0.1167\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 大黄酸 $0.1456\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 大黄素 $0.1104\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 大黄酚 $0.1255\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 大黄素甲醚 $0.04495\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) 各 1 ml, 按供试品溶液制备, 依法测定, 结果见表 1。

2.3.5 不同色谱柱耐用性比较 分别用三支不同品牌色谱柱 DIONEX Acclaim 120A C_{18} , 依利特 Kromasil- C_{18} , phenomenex Luna C_{18} , 内径与粒度均为 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。测定同一批号本品(武

汉健民药业集团有限公司 批号:110301), 结果表明: 不同色谱柱对测定无影响。

2.3.6 稳定性试验 用同一份供试品分别于 0, 2, 4, 8, 12, 16 h 进样, 比较 5 类成分的峰面积, 结果 5 种成分峰面积 RSD 分别为: 芦荟大黄素 1.51%, 大黄酸 1.46%, 大黄素 1.58%, 大黄酚 1.32%, 大黄素甲醚 1.88% ($n=6$)。结果表明, 供试品溶液 5 种成分均在 16 h 内稳定。

2.4 样品测定

按正文所述方法, 分别测定武汉健民药业 2 批, 新疆维吾尔药业 4 批样品, 结果见表 2。

表 1 回收率试验结果 ($n=6$)

成分	平均回收率(%)	$RSD(\%)$
芦荟大黄素	94.30	2.68
大黄酸	95.49	2.50
大黄素	93.70	2.42
大黄酚	92.52	2.40
大黄素甲醚	93.72	2.54

表 2 样品测定结果表 ($n=2, \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)

生产企业	样品批号	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	5 者总量
武汉健民药业	110301	16.09	40.9	19.13	29.2	9.07	114.39
	110302	19.76	51.23	23.3	35.64	10.83	140.76
	平均含量	17.93	46.07	21.22	32.42	9.95	127.58
新疆维吾尔药业	101223	6.57	19.31	5.82	11.74	2.72	46.16
	100335	3.77	15.82	3.83	4.78	1.02	29.22
	110405	6.66	27.93	5.49	9.37	2.17	51.62
	110604	6.16	22.91	4.72	10.07	2.42	46.28
	平均含量	5.79	21.49	4.97	8.99	2.08	43.32

3 讨论

3.1 转移率计算

分别将两家企业提供的大黄药材, 按《中国药典》2010 年版一部测定五种成分的含量, 按两家企业制剂平均含量计算转移率, 结果五种成分在制剂中转移率依次为大黄酸 (19.92%) > 芦荟大黄素 (13.48%) > 大黄酚 (7.62%) > 大黄素 (7.43%) > 大黄素甲醚 (6.14%), 此制剂工艺条件为水煎煮, 说明水煎煮对极性较大的成分转移率较高, 两家企业五种成分转移率顺序一致, 但差别较大, 两家企业提供的药材差异不大, 造成转移率差别的主要原因, 可能与各企业生产工艺差别有关。

3.2 水解条件考察

参考文献^[2,3], 水解酸用 $2.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸, 试验过程中发现, 该品种为糖浆剂, 含糖量较高, 用 $2.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸水解易碳化, 使萃取操作困难, 影响结

果, 因此将水解酸种改为盐酸。参考《中国药典》大黄含量测定项下提取条件, 考察水解酸度对含量的影响。精密量取装量差异项下的本品 10 ml (3 份, 武汉健民药业集团有限公司, 批号:110301), 置烧瓶中, 分别加入 10% 盐酸 5, 10, 15, 20 ml, 进行水解, 其余按正文含量测定项下供试品溶液的制备方法操作。结果显示, 水解酸度无明显差异, 10% 盐酸 15 ml 与 20 ml 水解含量无较大差异, 故正文采用 10% 盐酸 15 ml 作为水解条件。

参 考 文 献

- 1 中国药典[S]. 2010 年版. 一部. 22-23
- 2 尹永芹, 严优尧, 沈志滨, 等. 炎可宁片中大黄 5 种蒽醌类成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学, 2010, 16(6): 122-124
- 3 丘小惠, 王燕玲, 赵瑞芝, 等. 大黄控释片中四种游离蒽醌和蒽醌甙的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(6): 606-608

(2014-06-10 收稿 2014-08-08 修回)