

# HPLC 测定乌贝益胃胶囊中 5 种蒽醌类衍生物的含量

王强<sup>1\*</sup>, 钱春花<sup>2</sup>, 孙治明<sup>2</sup>, 王金金<sup>3</sup>

(1. 甘肃省张掖市药采办, 甘肃 张掖 734000; 2. 山丹县人民医院, 甘肃 山丹 734100;  
3. 甘州区疾病预防控制中心, 甘肃 张掖 734000)

**[摘要]** 目的: 建立测定乌贝益胃胶囊中 5 种蒽醌类衍生物(芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚)含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, Eclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液(88:12), 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 5 种成分进样量分别在 0.067 ~ 0.335 μg ( $r = 0.999\ 6$ ), 0.070 ~ 0.351 μg ( $r = 0.999\ 8$ ), 0.068 ~ 0.341 μg ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.070 ~ 0.348 μg ( $r = 0.999\ 9$ ), 0.038 ~ 0.191 μg ( $r = 0.999\ 7$ ) 与各自峰面积积分值呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 97.95% (RSD 0.98%), 98.47% (RSD 1.18%), 98.00% (RSD 0.71%), 98.19% (RSD 0.68%), 96.26% (RSD 1.35%)。结论: 方法简便、准确、重复性好, 可用于乌贝益胃胶囊的质量控制。

**[关键词]** 高效液相色谱; 乌贝益胃胶囊; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0095-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110095

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1558.014.html>

**[网络出版时间]** 2014-03-24 15:58

## Determination of Five Anthraquinone Derivatives in Wubei Yiwei Capsules by HPLC

WANG Qiang<sup>1\*</sup>, QIAN Chun-hua<sup>2</sup>, SUN Zhi-ming<sup>2</sup>, WANG Jin-jin<sup>3</sup>

(1. Drug Procurement Office of Zhangye City, Zhangye 734000, China;

2. People's Hospital of Shandan County, Shandan 734100, China;

3. Center of Disease Control in Ganzhou District, Zhangye 734000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a high performance liquid chromatographic (HPLC) method for the determination of five anthraquinone derivatives (aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion) in Wubei Yiwei capsules. **Method:** High performance liquid chromatography was performed on an Eclipse XDB C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with methanol-0.1% phosphoric acid (88:12) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 254 nm as the detection wavelength, the temperature of column was at 30 °C. **Result:** Five compounds showed good relationship at the range of 0.067-0.335 μg ( $r = 0.999\ 6$ , for aloe-emodin), 0.070-0.351 μg ( $r = 0.999\ 8$ , for rhein), 0.068-0.341 μg ( $r = 0.999\ 9$ , for emodin), 0.070-0.348 μg ( $r = 0.999\ 9$ , for chrysophanol), 0.038-0.191 μg ( $r = 0.999\ 7$ , for physcion), the average recoveries were 97.95% (RSD 0.98%), 98.47% (RSD 1.18%), 98.00% (RSD 0.71%), 98.19% (RSD 0.68%), 96.26% (RSD 1.35%). **Conclusion:** The results showed that the method is simple, accurate stable, and repeatable and it is suitable for quality control of Wubei Yiwei capsules.

**[Key words]** high performance liquid chromatographic; Wubei Yiwei capsules; aloe-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; physcion

**[收稿日期]** 20130520(009)

**[基金项目]** 甘肃省中医药管理局科研项目(GZK-2013-60)

**[通讯作者]** \*王强, 主管检验师, 从事食品、药品理化检验研究, Tel:13209364449, E-mail:wq80725@126.com

乌贝益胃胶囊是在乌贝散的基础上创制而成,由海螵蛸、浙贝母、白及、酒大黄、黄连、三七、吴茱萸等 7 味中药材组成,具有抑酸止痛、养胃止血的功效,临床上主要用于胃酸过多、胃及十二指肠溃疡伴出血、糜烂性胃炎以及各种原因所致的胃出血等症,疗效确切。大黄作为主要药物之一,其主要活性成分蒽醌类衍生物具有抑菌、抗炎、促进溃疡愈合的作用<sup>[1-2]</sup>,与乌贝益胃胶囊的主要药理作用相吻合,所以有必要对其中的蒽醌类衍生物进行含量控制,从而控制药品质量,保证疗效。由于乌贝益胃胶囊含药味多,成分复杂,互相干扰大,通过试验,本文建立了专属性强、分离效果好的高效液相色谱法测定 5 种蒽醌类衍生物的含量。

### 1 仪器与试剂

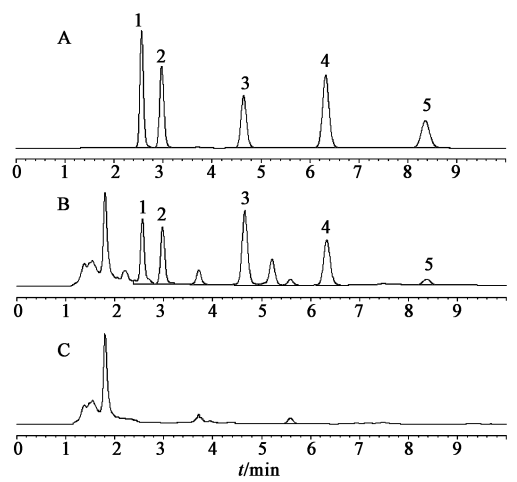
1100 型 HPLC 仪 (G1311A 四元泵、G1315A DAD 检测器、G1316A 柱温箱、Agilent1100 化学工作站,美国 Agilent 公司), Metler-D2025 型 1/10 万电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司), AS3120A 型超声波清洗器 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

芦荟大黄素对照品 (批号 110795-201007, 含量以 98.0% 计,以五氧化二磷为干燥剂干燥 12 h 后用)、大黄酸对照品 (批号 110757-200206)、大黄素对照品 (批号 110756-200110)、大黄酚对照品 (批号 110796-201017)、大黄素甲醚对照品 (批号 110758-201013) 均由中国药品生物制品检定所提供,甲醇 (色谱纯,山东禹王实业有限责任公司),水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯,乌贝益胃胶囊 (甘肃省山丹县人民医院,批号 20100503, 20101001, 20110102, 20110403, 20110602)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件与系统适用性试验** Eclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 检测波长 254 nm, 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液 (88:12), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 以外标法定量。结果表明,阴性对照对含量测定无干扰,理论板数按大黄素峰计算应不低于 3 000。见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取芦荟大黄素对照品 8.38 mg、大黄酸对照品 8.78 mg、大黄素对照品 8.52 mg、大黄酚对照品 8.70 mg、大黄素甲醚对照品 4.78 mg,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,分别制成每 1 mL 含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚各约 80 μg,大黄素甲醚约 40 μg 的溶液,作为对照品贮备液;分别精密量取上述对照品贮备液各 2 mL,混匀,即得混合对照品溶液 (每 1 mL 含



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性对照;

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 5 种蒽醌类衍生物的高效液相色谱

芦荟大黄素 16.76 μg、大黄酸 17.56 μg、大黄素 17.04 μg、大黄酚 17.40 μg、大黄素甲醚 9.56 μg)。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取本品内容物约 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失是质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 置烧杯中, 水浴蒸干, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声 (工作频率 40 kHz, 输入电功率 250 W) 处理 2 min, 再加三氯甲烷 15 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 3 次, 每次 15 mL, 合并三氯甲烷液, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 阴性对照溶液的制备** 按处方制备工艺制成缺大黄的阴性样品, 按 2.3 项下方法制备阴性对照溶液。

**2.5 线性关系考察** 精密吸取上述对照品溶液 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0 μL, 按上述色谱条件分别进样, 测定。以对照品进样量 (X, μg) 为横坐标, 峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 进行线性回归, 得芦荟大黄素的回归方程为  $Y = 4\,739.67X + 3.28$  ( $r = 0.999\,6$ )、大黄酸的回归方程为  $Y = 3\,959.48X + 2.32$  ( $r = 0.999\,8$ )、大黄素的回归方程为  $Y = 3\,200.47X + 6.94$  ( $r = 0.999\,9$ )、大黄酚的回归方程为  $Y = 4\,992.46X + 32.29$  ( $r = 0.999\,9$ ); 大黄素甲醚的回归方程为  $Y = 4\,730.59X - 1.71$  ( $r = 0.999\,7$ )。结果表明, 5 种成分进样量分别在 0.067 ~ 0.335, 0.070 ~ 0.351,

0.068~0.341,0.070~0.348,0.038~0.191  $\mu\text{g}$ ,与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

**2.6 精密度试验** 精密吸取对照品溶液,在上述色谱条件下连续进样 6 次,测定。结果,芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.36%,0.63%,0.95%,1.02%,1.81%,表明仪器精密度良好。

**2.7 重复性试验** 取同一批样品(批号 20110102)适量,共 6 份,分别按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.10 项下方法测定。结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均含量分别为 0.52,0.34,0.43,0.26,0.29  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,RSD 分别为 0.89%,1.22%,0.73%,0.86%,1.40%,表明本方法重复性良好。

**2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于 0,4,8,12,24 h 测定,结果见表 1,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

表 1 5 种成分稳定性试验

成分	质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$					RSD/%
	0 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
芦荟大黄素	0.52	0.51	0.51	0.51	0.51	0.98
大黄酸	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	1.43
大黄素	0.43	0.43	0.43	0.43	0.42	1.16
大黄酚	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.00
大黄素甲醚	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	1.78

**2.9 加样回收率试验** 取已知含量的同一批样品(批号 20110102)适量,共 6 份,每份各加入一定量的对照品溶液,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.10 项下方法测定样品含量,计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 5 种成分加样回收率试验

成分	样品中含量/ $\text{mg}$	加入量/ $\text{mg}$	实测量/ $\text{mg}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
芦荟大黄素	0.35	0.42	0.76	98.70	97.95	0.98
	0.42	0.42	0.81	96.43		
	0.38	0.42	0.78	97.50		
	0.41	0.42	0.82	98.79		
	0.39	0.42	0.79	97.53		
	0.38	0.42	0.79	98.75		
大黄酸	0.42	0.44	0.85	98.84	98.47	1.18
	0.41	0.44	0.84	98.82		

续表 2

成分	样品中含量/ $\text{mg}$	加入量/ $\text{mg}$	实测量/ $\text{mg}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
大黄素	0.41	0.44	0.85	100.00		
	0.43	0.44	0.85	97.70		
	0.45	0.44	0.86	96.63		
	0.42	0.44	0.84	98.84		
	0.50	0.64	1.12	98.25	98.00	0.71
	0.53	0.64	1.14	97.44		
	0.51	0.64	1.12	97.39		
	0.51	0.64	1.14	99.13		
	0.55	0.64	1.17	98.32		
	0.54	0.64	1.15	97.46		
大黄酚	0.39	0.44	0.81	97.59	98.19	0.68
	0.36	0.44	0.78	97.50		
	0.42	0.44	0.85	98.84		
	0.41	0.44	0.83	97.65		
	0.37	0.44	0.80	98.77		
	0.39	0.44	0.82	98.80		
大黄素甲醚	0.21	0.36	0.55	96.49	96.26	1.35
	0.22	0.36	0.56	96.55		
	0.22	0.36	0.57	98.28		
	0.22	0.36	0.56	96.55		
	0.23	0.36	0.56	94.92		
	0.21	0.36	0.54	94.74		

**2.10 样品含量测定** 取 5 批样品,分别按 2.3 项下方法制备供试品溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液,经 0.45  $\mu\text{m}$  针筒过滤器过滤,精密吸取 10  $\mu\text{L}$  进样,用峰面积按外标法计算样品中 5 种蒽醌类衍生物的含量,结果见表 3。

表 3 样品中 5 种成分含量测定( $n=3$ )

批号	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
20100503	0.45	0.32	0.51	0.29	0.17
20101001	0.39	0.43	0.49	0.40	0.25
20110102	0.52	0.34	0.43	0.26	0.29
20110403	0.41	0.29	0.55	0.38	0.30
20110602	0.37	0.32	0.58	0.36	0.22

### 3 讨论

在流动相的优化中,选用了乙腈、甲醇、磷酸系统的不同配比(80:20,85:15,88:12)进行试验<sup>[3-4]</sup>,

结果随着乙腈、甲醇体积分数的增大,蒽醌类衍生物的保留时间相对减少;当以甲醇-0.1%磷酸溶液(88:12)为流动相时<sup>[5]</sup>,能够获得较好的分离效果和较短的分离时间,理论板数按大黄素峰计算应不低于3 000,所以选择此流动相系统作为本试验的流动相。

在选择检测波长时,从 DAD 检测器收集到的信息可知,蒽醌类衍生物在(225 ± 2), (254 ± 2), (428 ± 2) nm 波长处均有最大吸收<sup>[6-8]</sup>,但从三维图谱结果来看,(254 ± 2) nm 波长处的响应值较其他两处大,故在上述色谱条件下确定 254 nm 为检测波长。

在确定色谱分离条件时,对甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液等不同流动相不同比例进行多次选择比较,确定了本文的检测条件。结果可得,5 种蒽醌类衍生物能够达到基线分离,峰形好,保留时间相对适中,分离度较好,柱压明显降低,其他成分无干扰。

本试验测定结果表明,5 批乌贝益胃胶囊中的 5 个指标性成分含量差异较大,这可能与原料的质量和生产工艺有关。根据单味药大黄的含量限度,结合本制剂中大黄所加量和制剂工艺,建议本品总蒽醌的含量限度为:本品每粒含大黄以 5 种蒽醌类衍生物的总量计不得少于 1.5 mg。

本试验建立的含量测定方法专属性强,经三氯甲烷提取后可排除其他非测定物质的干扰,测定结果准确,相关性好,可作为该制剂的质量控制手段。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2010:22.
- [2] 王丽英,张丽珍,鲁刚英. 大黄药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(4):381.
- [3] 王勤,邸多隆,蒋生祥. 大黄类药物分析方法研究概况[J]. 中成药,2007,29(8):1199.
- [4] 宗水珍,汪学英. 苦黄注射液中大黄蒽醌含量测定方法改进[J]. 分析测试学报,2000,19(6):59.
- [5] 张红霞,金艺,许海燕,等. HPLC 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.
- [6] 李鑫楠,黄毅岚,张丹,等. RP-HPLC 测定熊胆降热丸中的 5 种大黄蒽醌类化合物[J]. 华西药学杂志,2007,22(6):697.
- [7] 吕慧英,赵晨曦,梁逸曾,等. 5 种大黄蒽醌类衍生物的同时测定及应用[J]. 时珍国医国药,2009,20(10):2490.
- [8] 夏从龙,周浓,种佳. HPLC 测定不同厂家牛黄消炎片中 5 种蒽醌类衍生物的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):83.

[责任编辑 邹晓翠]

## 欢迎订阅 2014 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。1994 年创刊,2002 年,被中国科学技术信息研究所的"中国科技论文统计源期刊"收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已相继被《中国科学引文数据库》、波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等知名检索系统收录。

本刊是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、流行病学调查、临床论著、实验研究、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学、综述等。

本刊为月刊,大 16 开国际开本,136 页,国内外公开发行,每册定价 10 元,全年 120 元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部,邮编:100700,电话:010-64014411-3278, E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn。