

HPLC 同时测定复方黄连素片中 3 种成分的含量

刘晓哲*, 张东方

(河南省南阳市食品药品检验所, 河南 南阳 473059)

[摘要] 目的: 同时测定复方黄连素片中芍药苷、木香炔内酯、去氢木香内酯 3 种成分的含量。方法: 采用高效液相色谱法, C_{18} 柱, 以乙腈(A)-0.2% 的磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 225 nm, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。结果: 芍药苷在 $0.1809 \sim 3.618 \mu\text{g}$ 线性关系良好($r=0.9998$), 平均加样回收率为 99.0%, RSD 0.94%; 木香炔内酯在 $0.12985 \sim 2.597 \mu\text{g}$ 线性关系良好($r=0.9997$), 平均加样回收率为 98.4%, RSD 1.62%; 去氢木香内酯在 $0.1208 \sim 2.416 \mu\text{g}$ 线性关系良好($r=0.9996$), 平均加样回收率为 97.9%, RSD 1.21%。结论: 该方法简便、准确, 可用于测定复方黄连素片的含量。

[关键词] 液相色谱; 复方黄连素片; 芍药苷; 木香炔内酯; 去氢木香内酯

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0070-04

[doi] 10.11653/syfy2014010070

Simultaneous Determination of Peoniflorin, Costunolide, Dehydrocostus Lactone in Compound Berberine Tablets by HPLC

LIU Xiao-zhe*, ZHANG Dong-fang

(Nanyang Institute for Food and Drug Control, Nanyang 473059, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for simultaneous determining peoniflorin, costunolide and dehydrocostus lactone in compound berberine tablets. **Method:** Three components were separated by C_{18} chromatographic column with a gradient mobile phase consisting of acetonitrile and 0.2% phosphoric acid solution at a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, detection wavelength was 225 nm, and column temperature of $30 \text{ }^\circ\text{C}$. **Result:** The linear ranges of peoniflorin, costunolide, and dehydrocostus lactone fell within the ranges of $0.1809 \sim 3.618$, $0.12985 \sim 2.597$, $0.1208 \sim 2.416 \mu\text{g}$, respectively. The three components showed good linear correlations ($r = 0.9998, 0.9997, 0.9996$). The recoveries were 99.0% for peoniflorin, 98.4% for costunolide, 97.9% for dehydrocostus lactone, respectively. The relative standard deviations were 0.94%, 1.62% and 1.21%.

Conclusion: The method is simple and accurate. It can be used for quality control of compound berberine tablets.

[Key words] HPLC; compound berberine tablets; peoniflorin; costunolide; dehydrocostus lactone

复方黄连素片收载于《中国药典》2010 年版一部^[1], 由盐酸小檗碱、木香、吴茱萸、白芍四味药组成, 具有清热燥湿、行气止痛、止痢止泻的功效。临床上用于大肠湿热、赤白下痢、里急后重等症。目前该制剂的质量标准^[1]分别测定盐酸小檗碱及白芍

苷的含量, 无木香含量测定方法。有文献报道, 用 HPLC 同时测定复方黄连素片中木香炔内酯和去氢木香内酯的含量^[2], 也有测定复方黄连素片中盐酸小檗碱的含量^[3]及吴茱萸碱、吴茱萸次碱鉴别及含量的方法比较^[4], 对于复方黄连素片均无同时测定木香炔内酯、去氢木香内酯^[5-6]、芍药苷^[7-8] 3 种成分的报道。本实验采用 HPLC, 梯度洗脱, 可同时测定复方黄连素片中芍药苷、木香炔内酯、去氢木香内酯 3 种成分的含量, 为复方黄连素片质量标准的提升提供了依据。

[收稿日期] 20130605(019)

[基金项目] 河南省科技厅重点科技攻关项目(112102210030)

[通讯作者] * 刘晓哲, 学士, 副主任药师, 从事药物分析及药物质量控制研究, Tel:13683779534, E-mail: lxx625@163.com

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 型液相色谱仪,配有 1200 系统(四元泵、自动进样器、柱温箱、可变波长紫外检测器)、Agilent 色谱化学工作站;Sartorius BP211D 型电子天平;WT-1200 型超声波清洗器(济宁万通超声仪器设备厂)。

1.2 试药 芍药苷(供含量测定用,批号 110736-200934)、木香烃内酯(供含量测定用,批号 111524-201107)、去氢木香内酯(供含量测定用,批号 111525-201008)对照品均购自于中国食品药品检定研究院。

复方黄连素片(贵州百花医药股份有限公司,批号 111201,121104,121106,130201)。方中药材均为市售并经本所中药室鉴定。

乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Welchrom C₁₈(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~7 min,20% A,7~15 min,20%~38% A,15~30 min,38%~80% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 225 nm,进样量 10 μL。

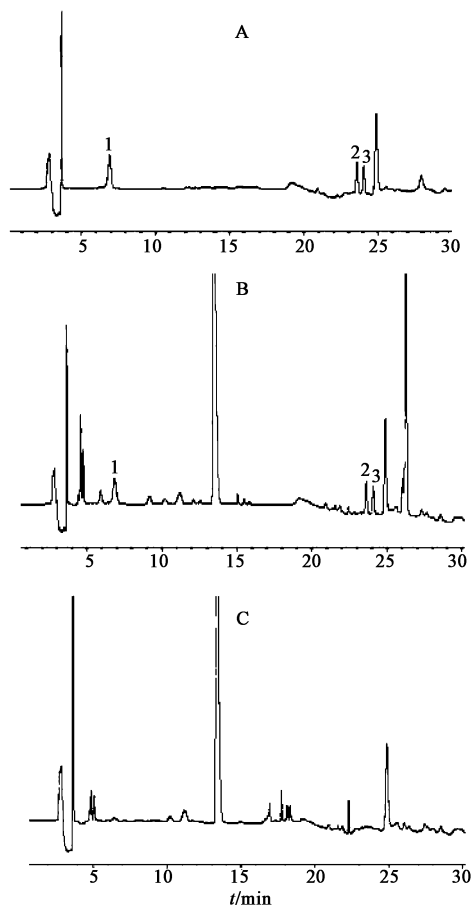
2.2 溶液制备 对照品溶液的制备 分别精密称取减压干燥至恒重的芍药苷、木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量,置同一量瓶中,加甲醇配制成质量浓度分别为芍药苷 0.723 6 g·L⁻¹、木香烃内酯 0.519 4 g·L⁻¹、去氢木香内酯 0.483 2 g·L⁻¹ 的混合对照品储备溶液。

供试品溶液的制备 取本品 20 片,除去糖衣,精密称定,研细,精密称取 0.390 6 g(约相当于 2 片的量),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,密塞,称定质量,浸泡过夜,超声提取(功率 250 W,频率 33 kHz)30 min,放冷至室温,再称定质量,用甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

阴性对照溶液的制备 按处方量取吴茱萸药材和盐酸小檗碱,按照样品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,按 2.1 的色谱条件进行测定,结果表明芍药苷、木香烃内酯、去氢木香内酯与供试品中的其他成分分离度符合要求,且吴茱萸中成分及盐酸小檗碱对测定无干

扰,见图 1。



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性样品

1. 芍药苷;2. 木香烃内酯;3. 去氢木香内酯

图 1 盐酸黄连素片的 HPLC

2.4 线性关系 精密吸取 2.2 项下的对照品储备溶液,0.5,1,3,5,10 mL 置 20 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,制成标准系列溶液。按照 2.1 的色谱条件测定,分别进样 10 μL,测得峰面积的积分值。以峰面积积分值为纵坐标(Y),对照品浓度(g·L⁻¹)为横坐标(X),分别对 3 种成分进行线性回归,得回归方程 $Y_{\text{芍药苷}} = 8.8869X - 13.962$ ($r = 0.9998$),在 0.1809~3.618 μg 呈现良好线性; $Y_{\text{木香烃内酯}} = 10.941X + 1.2796$ ($r = 0.9997$),在 0.12985~2.597 μg 呈现良好线性; $Y_{\text{去氢木香内酯}} = 14.546X - 5.1799$ ($r = 0.9996$),在 0.1208~2.416 μg 呈现良好线性。

2.5 精密度试验 取同一质量浓度的对照品溶液,按照 2.1 项下色谱条件,连续进样 6 次,进样量 10 μL,测定峰面积,计算得芍药苷 RSD 0.78%、木香烃内酯 RSD 0.97%、去氢木香内酯 RSD 1.09%,表明该方法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一对照品溶液和供试品溶

液(批号 130201),按照 2.1 项下色谱条件,分别于 0,2,4,6,8,12 h 进样,测定峰面积值,计算得芍药苷对照品 RSD 0.83%、供试品 1.06%;木香炔内酯对照品 RSD 1.14%、供试品 1.69%;去氢木香内酯对照品 RSD 1.27%、供试品 1.44%;表明该溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品(批号 130201)6 份,按照 2.2 项下供试品溶液制备方法制备,按照 2.1 项下色谱条件测定,结果测得的芍药苷平均含量为 $3.6103 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 0.78%;木香炔内酯平均含量为 $2.9985 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 0.99%;去氢木香内酯平均含量为 $2.1162 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.15%。

2.8 加样回收率试验 称取已知含量的复方黄连素片(批号 130201)6 份,每份约 0.2 g,精密称定,分别置 20 mL 量瓶中,精密加入对照品储备溶液 1 mL,按照供试品溶液的制备方法制备,按照 2.1 项下色谱条件进行测定,计算回收率,结果见表 1~3。

表 1 芍药苷的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中含量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.202 5	0.731 1	1.455 2	100.1	99.0	0.94
2	0.196 5	0.709 4	1.432 2	99.9		
3	0.203 9	0.736 1	1.454 8	99.3		
4	0.199 4	0.719 9	1.430 3	98.2		
5	0.201 6	0.727 8	1.435 4	97.8		
6	0.197 1	0.711 6	1.425 8	98.7		

注:加入量均为 0.723 6 mg。

表 2 木香炔内酯的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.202 5	0.607 2	1.119 2	98.6	98.4	1.62
2	0.196 5	0.589 2	1.095 7	97.5		
3	0.203 9	0.611 4	1.135 4	100.9		
4	0.199 4	0.597 9	1.098 3	96.3		
5	0.201 6	0.604 5	1.112 7	97.8		
6	0.197 1	0.591 0	1.107 4	99.4		

注:加入量均为 0.519 4 mg。

2.9 样品的测定 照 2.2 项下供试品溶液的制备方法操作,按照 2.1 项下色谱条件,分别测定 4 批样品,结果见表 4。

表 3 去氢木香内酯的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.202 5	0.428 5	0.901 0	97.8	97.9	1.21
2	0.196 5	0.415 8	0.892 5	98.6		
3	0.203 9	0.431 5	0.913 1	99.7		
4	0.199 4	0.422 0	0.891 5	97.2		
5	0.201 6	0.426 6	0.891 7	96.2		
6	0.197 1	0.417 1	0.891 2	98.1		

注:加入量均为 0.483 2 mg。

表 4 复方黄连素片中 3 成分的测定(n=2) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

批号	芍药苷	木香炔内酯	去氢木香内酯
111201	3.336 5	2.313 6	1.963 5
121104	3.604 5	2.941 0	2.013 9
121106	3.537 5	2.267 3	1.843 4
130201	3.610 3	2.998 5	2.116 2

3 讨论

3.1 提取方法的选择 使用甲醇、乙醇、70%乙醇、乙腈、70%乙腈冷浸过夜后超声提取 30,60 min 几种方法进行提取比较,结果显示甲醇冷浸过夜的方法即可将目标成分有效溶出,故选择甲醇冷浸过夜后超声 30 min 提取。

3.2 流动相的选择 分别采用甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相 A,B 相进行梯度洗脱,结果采用乙腈-0.2%磷酸溶液分离效果均良好。

3.3 吸收波长的选择 芍药苷、木香炔内酯、去氢木香内酯、盐酸小檗碱在 225 nm 处都有较强的紫外吸收,故选择 225 nm 作为测定波长,使目标成分都能有效检出。

3.4 对待侧成分干扰的考察 取不加白芍、木香的空白样品按照供试品溶液项下的方法,制成溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,均不干扰芍药苷、木香炔内酯、去氢木香内酯的测定;芍药苷、木香炔内酯、去氢木香内酯与其他色谱峰之间分离良好,均不干扰目标成分的测定。

[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:中国医药科技出版社,2010:923.
- [2] 吴永芹,赵新静,阎道辉. HPLC 法测定复方黄连素片中木香炔内酯和去氢木香内酯的含量[J]. 齐鲁药事,2009,28(10):596.

瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱

史国玉^{1,2}, 刘伟¹, 耿岩玲¹, 刘建华¹, 王晓^{1*}, 周凤琴³

(1. 山东省科学院中药过程控制研究中心/山东省分析测试中心, 济南 250014;
2. 山东医学高等专科学校, 济南 250002; 3. 山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 建立瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.2% 冰乙酸为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 260 nm, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 进样 20 μL。结果: 建立了瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱, 方法学考察结果良好, 确立了 13 个共有峰, 其中 5 个共有峰得到确认, 10 批瓜蒌皮样品指纹图谱的相似度均 > 0.9。结论: 该方法稳定性、重复性好, 建立的指纹图谱可为瓜蒌皮的质量评价提供依据。

[关键词] 瓜蒌皮; 指纹图谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)01-0073-04

[doi] 10.11653/syfy2014010073

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131017.1131.001.html>

[网络出版时间] 2013-10-17 11:31

HPLC Fingerprint of *Pericarpium trichosanthis*

SHI Guo-yu¹, LIU Wei¹, GENG Yan-ling¹, LIU Jian-hua¹, WANG Xiao^{1*}, ZHOU Feng-qin²

(1. Process Control Research Center of Traditional Chinese Medicine/Shandong Analysis and Test Center, Ji'nan 250014, China; 2. Shandong Medical college, Ji'nan 250002, China;
3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC fingerprint of *P. trichosanthis*. **Method:** The HPLC method was used on an Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) chromatographic column with acetonitrile-0.2% ice acetic acid as mobile phase in gradient elution at the detection wavelength of 260 nm with the flow rate of 0.8 mL·min⁻¹, and the column temperature was 25 °C, the sample injection was 20 μL. **Result:** The HPLC fingerprint of

[收稿日期] 20130618(009)

[基金项目] “十二五”国家科技支撑计划课题 (2011BAI06B06)

[第一作者] 史国玉, 主管药师, 博士, 从事中药资源与质量控制研究, Tel:0531-68606191, E-mail: shigy@live.com

[通讯作者] * 王晓, 研究员, 博士, 博士生导师, 从事中药资源及天然产物化学研究, Tel:0531-82605304, E-mail: wangx@sdas.org

- [3] 何兴富, 左承学, 褚福胜. HPLC 法测定复方黄连素片中盐酸小檗碱的含量[J]. 华西药学杂志, 1999, 14(2): 132.
- [4] 张敏娟, 黄秀梅, 姜世贤. HPLC 和 UPLC 法测定复方黄连素片中吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量的方法比较[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(11): 2077.
- [5] 周广涛, 高鹏, 戴兵, 等. 木香中去氢木香内酯和木香烯内酯提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 40.
- [6] 刘正清. 不同产地和采收时间木香药材中木香烯内酯和去氢木香内酯的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 116.
- [7] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 48.
- [8] 李捷玮, 金柔男, 李翔, 等. 多种中成药中芍药苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1440.
- [9] 刘静静, 刘晓, 蔡皓等. 对市售白芍饮片芍药苷含量低于中国药典标准的深入探讨[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1817.

[责任编辑] 顾雪竹