

HPLC 测定栀子金花丸中 2 类成分的含量

牛德斌*

(息县第二人民医院, 河南 息县 464300)

[摘要] 目的:以栀子金花丸中 2 类成分的含量控制产品质量。方法:采用 HPLC 对栀子金花丸中的栀子苷及蒽醌类成分(大黄酸、大黄素、大黄酚)进行含量测定。结果:大黄酸等 3 个成分分别在 0.06 ~ 1.20 μg , 0.045 ~ 0.90 μg , 0.096 ~ 1.92 μg ($r > 0.9997$) 线性关系良好, 平均回收率 $> 92.20\%$, $\text{RSD} < 2.05\%$ 。结论:方法简便、快速、准确, 同时增加了大黄酸、大黄素、大黄酚等 3 个含量测定指标, 可作为栀子金花丸的质量控制。

[关键词] 栀子金花丸; 栀子苷; 蒽醌; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0096-02

栀子金花丸为苦寒之药^[1], 由栀子、黄芩、黄连、黄柏、大黄、金银花等组成, 栀子凉血清热, 黄连、黄芩、黄柏、大黄、金银花清热解毒, 知母、天花粉清热中兼以养阴, 诸药配伍, 共达清热泻火、凉血解毒、养阴清热之功。主要用于肺胃热盛, 口舌生疮, 牙龈肿痛, 目赤眩晕, 咽喉肿痛, 吐血衄血, 大便秘结等病症的治疗, 如上呼吸道感染、扁桃体炎、咽峡炎、额窦炎、咽炎; 牙龈肿痛、牙龈炎、牙周炎、口腔溃疡; 习惯性便秘、热结便秘、实火性便秘等。现代研究表明栀子金花丸具有抗菌、抗病毒、抗炎、解热及增强机体免疫功能等作用^[2-4]。栀子为方中君药, 主要有效成分为以栀子苷为代表的环烯醚萜类成分; 大黄为方中主要药物之一, 其主要药效成分为蒽醌类成分。本文在栀子金花丸含量标准的基础上, 增加了 3 个大黄蒽醌苷元类成分的含量测定, 同时以 2 类共 4 个成分的含量指标达到控制本品质量的目的。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 series, 包括四元泵 (QuataPump), 自动进样器, DAD 检测器, 在线脱气机和柱温箱。水为重蒸馏水, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

对照品大黄酸、大黄素、大黄酚、栀子苷(供含量测定用, 批号 0757-200206, 0756-200211, 0796-200005, 110749-200410) 由中国药品生物制品检定所提供; 栀子金花丸由山东孔圣堂制药有限公司出

品(批号 090546, 090741, 100992, 9 g/袋)。

2 实验方法

2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的大黄酸、大黄素、大黄酚对照品各适量, 分别加甲醇制成 0.060, 0.045, 0.096 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 过微孔滤膜 (0.45 μm), 备用。

2.2 供试品溶液的制备 取本品研匀, 精密称取 2.0 g, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量。摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 置烧瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 再加三氯甲烷 10 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 10 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 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

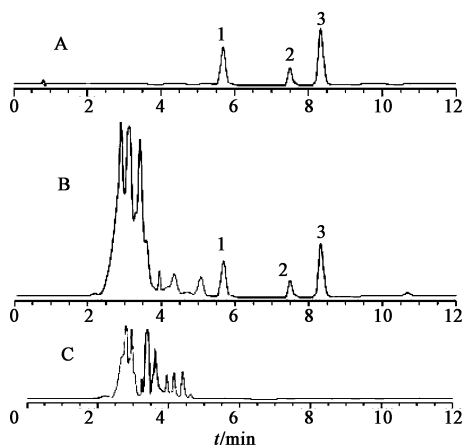
2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例去掉大黄, 制备成缺大黄的阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法分别制备成大黄的阴性对照溶液。

2.4 色谱条件 Kromasil C_{18} 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸 (85:15), 检测波长 254 nm; 流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。在以上色谱条件下, 栀子金花丸中大黄酸等 3 个对照品分别与其他组分均能达到基线分离, 阴性样品在对照品相应位置处无吸收峰 (图 1)。

2.5 线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液, 按色谱分析条件分别进样 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL , 以进样

[收稿日期] 20110511(007)

[通讯作者] * 牛德斌, 副主任药师, 从事制剂分析, 中药鉴定, Tel: 0376-5869166



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品;
1. 大黄酸; 2. 大黄素; 3. 大黄酚

图1 栀子金花丸中蒽醌苷元类成分的 HPLC

量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,并计算回归方程,大黄酸 $Y = 6.21 \times 10^6 X - 11436.17 (r = 0.99998)$; 大黄素 $Y = 4.28 \times 10^6 X - 18130.24 (r = 1.0000)$; 大黄酚 $Y = 8.00 \times 10^6 X - 45406.93 (r = 0.9997)$; 表明大黄酸在 $0.06 \sim 1.20 \mu\text{g}$ 、大黄素在 $0.045 \sim 0.90 \mu\text{g}$ 、大黄酚在 $0.096 \sim 1.92 \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.6 精密度试验 取同一供试品溶液 $10 \mu\text{L}$, 重复进样 5 次, 依法测定, 结果各对照品峰面积积分值的 RSD 均 $< 2.0\%$ 。

2.7 稳定性试验 精密吸取供试液溶液 $10 \mu\text{L}$, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 间隔一定时间进样共 6 次, 由峰面积值统计结果显示样品溶液在 24 h 内保持稳定。

2.8 重复性试验 取以上 2 类成分的同一批号供试品(批号 100992) 适量, 研细, 依法制备成供试品溶液, 依法测定并计算含量, 结果各对照品 5 次测定值的 RSD 均 $< 2.00\%$ 。

2.9 加样回收试验 精密称取已知含量同一批号供试品适量, 精密称定, 共 10 份, 分别精密加入大黄酸、大黄素、大黄酚各对照品适量, 依法测定, 结果 3 个对照品 5 次测定的平均回收率均 $> 97.20\%$, RSD 均 $< 2.05\%$ 。

2.10 样品测定 按照供试品溶液制备方法, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$, 依照上述色谱条件测定峰面积, 按外标法计算; 栀子苷的含量测定方法参考文献^[5]项下进行。结果见表 1。

表 1 栀子金花丸含量测定 ($n = 2$)

批号	栀子苷	蒽醌苷元			总量
		大黄酸	大黄素	大黄酚	
090546	3.613	0.393	0.291	0.582	1.266
090741	3.218	0.380	0.282	0.563	1.225
100992	3.326	0.388	0.288	0.575	1.251
平均	3.386	0.387	0.287	0.573	1.247

3 讨论

栀子金花丸为临床常用清热解毒类中药, 大黄为方中主要药味之一, 但《中国药典》2010 年版一部未收载大黄的定量标准。本研究在栀子金花丸质量标准的基础上, 增加了大黄酸、大黄素、大黄酚等 3 个蒽醌苷元的含量测定指标; 所建立的含量测定方法可用于栀子金花丸中栀子苷、大黄酸、大黄素、大黄酚等 4 个成分的含量控制。

样品的含量测定结果表明, 3 批样品中栀子苷的平均质量分数为 $3.386 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 大黄酸、大黄素、大黄酚等 3 个成分的平均质量分数分别为 $0.387, 0.287, 0.573 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 大黄酸等 3 种成分的平均质量分数总量为 $1.247 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。因此, 在以栀子苷作为栀子金花丸定量标准的同时, 建议可增加 3 种大黄蒽醌苷元类成分的含量及其总量作为栀子金花丸的质量控制指标。本研究为进一步以多定量指标完善、提高栀子金花丸的质量标准, 有效控制产品质量提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:879.
- [2] 陈庄元, 董立莎, 曹佩雪, 等. 不同栀子金花汤煎液中 3 种成分的变化及抑菌作用的比较[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(2):135.
- [3] 王鸣, 舒志军, 张胜华, 等. 栀子金花汤对腹腔感染脓毒症大鼠炎症介质的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(3):169.
- [4] 刘俐伶, 麻继臣, 甄晓静. 栀子金花丸治疗面部糖皮质激素依赖性皮炎临床观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2009, 8(3):175.
- [5] 张村, 肖永庆, 李丽, 等. 栀子不同饮片环烯醚萜苷类成分比较研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(10):1138.

[责任编辑 蔡仲德]