

HPLC 测定痛风舒片中 3 个蒽醌类成分的含量

牛德斌*

(息县第二人民医院, 河南 息县 464300)

[摘要] 目的: 研究测定痛风舒片中 3 个蒽醌类成分的含量。方法: HPLC 法, 对痛风舒片中的大黄酸、大黄素、大黄酚进行含量测定。流动相甲醇-0.1% 磷酸(83:17); 检测波长 254 nm; 柱温 35℃; 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 3 个成分分别在 0.005 8~0.011 6 μg, 0.004 2~0.084 μg, 0.008 2~0.164 μg ($r > 0.999 7$) 线性关系良好, 平均回收率为 98.60%, RSD 1.31%。结论: 本法简便、快速、准确, 增加了大黄酸的含量测定指标, 可作为痛风舒片的质量控制。

[关键词] 痛风舒片; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 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(2010)10-0069-02

痛风舒片为收载于国家中成药标准的痛风舒胶囊^[1]剂改而来, 由大黄、车前子、泽泻、川牛膝、防己等中药组成, 具有活血通经、利水渗湿、消肿止痛的作用, 临床上用于温热瘀阻所致的痛风病。药理研究表明该方可明显抑制二甲苯对大鼠耳廓致炎的影响, 明显减少小鼠醋酸扭体次数, 有镇痛作用; 对大鼠佐剂性关节炎原发病变和继发性病变有明显的预防和治疗作用; 对大鼠蛋清性关节炎有预防作用, 并能明显改善家兔急性痛风性关节炎病理变化, 其抗炎作用机制可能与主要通过抑制 PGE₂ 的合成或释放而使局部炎症组织 PG 水平下降, 减少炎症细胞因子 TNF- α 的生成以及抗脂质过氧化有关^[2]。大黄为方中主要药物之一, 其主要药效成分为蒽醌类成分, 本文在痛风舒胶囊含量标准的基础上, 增加了大黄酸含量测定指标, 以 3 种大黄蒽醌苷元为对照, 采用高效液相色谱法对该方的含量进行了测定, 从而达到控制本品质量的目的。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪 Agilent 1100 series, 包括四元泵 (QuataPump), 自动进样器 (ALS), DAD 检测器, 在线脱气机 (Degasser) 和柱温箱。水为重蒸馏水, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

对照品大黄酸、大黄素、大黄酚 (供含量测定用, 批号 0757-200206, 0756-200211, 0796-200005), 由中国药品生物制品检定所提供; 痛风舒片由鹤壁市中

药有限公司出品。

2 方法与结果

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、大黄酚对照品适量, 分别加甲醇制成 0.005 8, 0.004 2, 0.008 2 g·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 40 片, 除去包衣, 研细, 混匀, 取 2.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 30 min, 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 2 mL, 置烧瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 5 min, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 移至分液漏斗中, 用少量氯仿洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取氯仿层, 酸液再用氯仿提取 3 次, 每次约 10 mL, 合并氯仿液, 以无水硫酸钠脱水后, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 定容, 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制备成阴性对照溶液。

2.4 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸 (83:17); 检测波长 254 nm; 柱温 35℃; 流速 1.0 mL·min⁻¹。在此条件下痛风舒片中大黄素等 3 个对照品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, 理论板数按大黄素峰计算不低于 3 000, 与其他组分峰的分离度大于 1.5, 见图 1。

2.5 线性关系考察 精密吸取上述 3 种对照品溶

[收稿日期] 2010-05-11

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

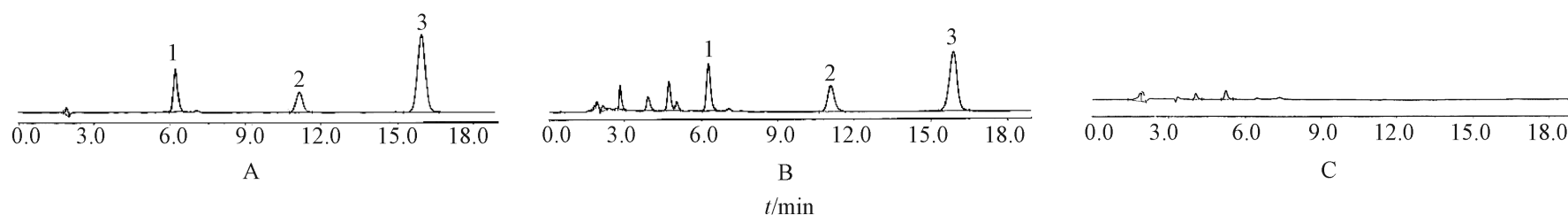


图 1 通风舒片的 HPLC 色谱图

A. 对照品色谱图; B. 样品色谱图; C. 阴性样品色谱图; 1. 大黄酸, 2. 大黄素, 3. 大黄酚

液, 分别进样 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL , 依法测定, 以进样量 (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 $Y=5.19 \times 10^6 X - 5.11 \times 10^2$, $r=0.999\ 95$; 大黄素 $Y=4.37 \times 10^6 X - 3.25 \times 10^2$, $r=0.999\ 7$; 大黄酚 $Y=8.41 \times 10^6 X + 1.46 \times 10^4$, $r=0.999\ 8$; 表明大黄酸在 0.005 8 ~ 0.116 μg , 大黄素在 0.004 2 ~ 0.084 μg , 大黄酚在 0.008 2 ~ 0.164 μg 线性关系良好。

2.6 精密度试验 取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 依法测定, 结果大黄素等 3 个对照品峰面积积分值的 RSD 均小于 1.0%。

2.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 依法测定, 由峰面积积分值统计结果可见供试品溶液在 24 h 内保持稳定, RSD 均小于 2.00%。

2.8 重复性试验 取同一批号供试品 (批号 041019) 适量, 研细, 取 2g, 5 份, 精密称定, 制备成供试品溶液, 依法测定并计算含量, 结果各对照品 5 次测定值的相对标准偏差均小于 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 (批号 041019) 20 片, 精密称定质量 6.274 3 g, 平均片重 0.313 7 g/片, 研细, 取 1.0 g, 精密称定, 共取 5 份, 分别精密加入 3 种对照品适量, 按供试品溶液制备方法制备样品, 进样量 10 μL , 依法测定, 结果 3 个对照品总量 5 次测定的平均回收率为 98.60%, RSD 为 1.31%。

2.10 样品测定 按照供试品溶液制备方法, 并对 10 批产品进行含量测定, 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 依法测定, 见表 1。

3 讨论

本研究在原痛风舒胶囊的基础上, 增加了大黄酸的含量测定指标, 色谱分析方法表明 3 个对照品分离度较好, 且阴性样品无干扰。同时经过平行比较, 样品以 8% 盐酸水解较佳。本实验测定方法经

表 1 痛风舒片样品含量测定 ($n=2$)

No.	大黄酸	大黄素	大黄酚	总量
041017	0.239	0.177	0.334	0.750
041018	0.256	0.187	0.341	0.784
041019	0.223	0.165	0.311	0.699
041105	0.245	0.183	0.333	0.761
041106	0.186	0.138	0.277	0.601
041107	0.214	0.158	0.315	0.687
041108	0.250	0.185	0.335	0.770
041109	0.217	0.156	0.306	0.679
041110	0.232	0.169	0.332	0.733
041111	0.234	0.173	0.333	0.740
平均	0.230	0.169	0.322	0.750

各项试验考察, 表明该方法灵敏可靠、重复性好, 可用于控制痛风舒片中 3 个蒽醌苷元的含量。

痛风舒胶囊原标准仅规定了大黄素和大黄酚的总量不低于 0.30 mg/片; 本文通过 10 批次样品的含量测定 (表 2), 结果表明大黄酸、大黄素、大黄酚等 3 个成分的平均含量分别为 0.230, 0.169, 0.322 mg/片, 大黄酸的含量高于大黄素, 大黄素和大黄酚的总量远远大于 0.30 mg/片, 3 种成分的平均含量为 0.750 mg/片。因此, 建议 3 种大黄蒽醌苷元类成分的含量及其总量应同时作为通风舒片的质量控制指标, 其含量标准尚需结合多批次的样品含量测定结果而定。

[参考文献]

- [1] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编 [S]. 经络肢体, 脑系分册. 北京: 中国标准出版社, 2002: 679.
- [2] 唐春平, 江涛, 田伟, 等. 痛风舒胶囊对通风模型动物抗炎作用及机制的研究 [J]. 中草药, 2007, 38 (8): 1225.

[责任编辑 顾雪竹]