

HPLC 法测五积丸中厚朴酚的含量

★ 段春玲 姚闽 李玉云 胡蓉 曾宪仪 (江西省药物研究所 南昌 330029)

摘要:目的:建立五积丸质量标准中的含量测定方法 方法:用 HPLC 测定五积丸中厚朴酚的含量。结果:厚朴酚对照品在 0.152 56~1.220 48 μg 之间线性关系良好 $r=0.999\ 9$ ($n=5$),重复性 $RSD=0.79\%$,加样回收率为 101.6%,回收率 RSD 为 1.8%,含量限度为每袋含厚朴酚($\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$)不得少于 7.7 mg。结论:本方法操作简便、灵敏度高、重复性好。结论:本方法可有效地控制五积丸的产品质量。

关键词:HPLC;五积丸;厚朴酚

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**B

五积丸^[1]为一传统中药,由十五味中药组方而成,处方源于“太平惠民和剂局方”,能消“寒食气血痰”五积。现代临床报道可辨证用于产后发热、痛经、瘕气、胃痛泻泄、鹤膝风等症,本方又治疗肋间神经痛,治疗胃扩张,胃酸过多症,治疗心源性喘息。方中厚朴具有平胃土而祛湿之功效,现代药理实验表明,厚朴中的厚朴酚具有抗菌作用^[2]。因此选择厚朴酚作为控制质量标准的指标之一^[3],有一定意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪:大连依利特分析仪器有限公司,P200 II 高压恒流泵,UV200 II 紫外可变波

长检测器;千谱 HW 色谱工作站。

甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

1.2 试剂 五积丸为本实验室自制产品,规格为 9 g/袋;厚朴酚对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号:110729-200309);甲醇为色谱纯;水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱:大连依利特 Hypersil BDS C_{18} 柱,5 μm ,4.6 mm $\times$ 200 mm;流动相:甲醇-水(68:32),流速 1 ml/min;检测波长:294 nm,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,进样量:10 μl 。

2.4 甘草的鉴别

2.4.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,研细,加稀盐酸 10 ml、氯仿 30 ml,加热回流 1 小时,放冷,分取氯仿液,水液再加氯仿 10 ml 提取,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。

2.4.2 对照品溶液的制备 取甘草次酸对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.4.3 阴性对照溶液的制备 取缺甘草全处方 5 倍量药材,制备方法同地龙阴性对照溶液。

2.4.4 薄层色谱 照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液 5 μl 、对照品溶液 3 μl ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF254 薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)-氯仿-醋酸乙酯-冰醋酸(12:18:7:1)为展开剂,展开,取出、晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。

2.4.5 结果 供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显褐色的斑点;而阴性对照溶液无此斑点。

3 讨论

在对黄芪的鉴别实验过程中发现,展开剂的极性对分离

效果影响较大,极性过小会造成 R_f 值偏低,最后以三氯甲烷-甲醇-水(18:9:5)在 10 $^{\circ}\text{C}$ 以下长时间放置的下层溶液为展开剂为最佳。

在制定标准中,我们曾对制剂中的虎杖、车前子进行了薄层色谱鉴别,结果重现性不好,故不能作为该制剂的质量控制指标。

地龙、淫羊藿、黄芪均为本品的君药,而甘草则为佐药,且这 4 项薄层鉴别均进行了阴性对照试验,方法简便,结果各薄层色谱斑点清晰,专属性强,重现性好,可用于地虎前列颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:521.
- [2] 罗毅,杨俊,马俊玲. 淫黄颗粒质量控制方法研究[J]. 中国药房,2007,18(9):29.
- [3] 聂明华,黄淑君. 中风康复胶囊中黄芪、红花、丹参的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2006,15(8):29.

(收稿日期:2009-07-09 责任编辑:周茂福)

2.2 系统适用性试验 分别取厚朴酚对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液注入液相色谱仪,记录色谱图,结果厚朴酚保留时间为19分钟左右,阴性对照在相应的位置处无干扰峰,说明本品在上述色谱条件下厚朴酚与其它组分分离较好。理论板数以厚朴酚峰计算为2200。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取厚朴酚对照品适量,加甲醇制成每1 ml含厚朴酚约0.07 mg的溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取本品2袋,去包装后,称重,研细,混匀,取约5.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,密塞,称定重量,超声40分钟,放置24小时后称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 ml,置25 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过(0.45 μm微孔滤膜),取续滤液,即得。

2.5 阴性对照样品溶液 按照原工艺,取制备五积丸的药材,制成不含厚朴的阴性对照样品,照“2.4”项下的方法,制成阴性对照样品溶液。

2.6 测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μl,注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法,以峰面积计算。

3 结果

3.1 色谱分离结果 分别取厚朴酚对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液注入液相色谱仪,记录色谱图,结果厚朴酚保留时间为19分钟左右,阴性对照在相应的位置处无干扰峰,说明本品在上述色谱条件下厚朴酚与其它组分分离较好。理论板数以厚朴酚峰计算为2200。

3.2 标准曲线的绘制 精密称取厚朴酚对照品1.907 mg,置25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,浓度为0.076 28 mg/ml。从中分别精密吸取2、4、8、12、16 μl注入色谱仪,测定其峰面积,以厚朴酚进样量为横坐标,以峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。结果表明在0.152 56~1.220 48 μg范围内进样量与峰面积积分值有良好线性关系,回归方程为 $Y = 1 \times 10^6 X + 14\ 219$, $r = 0.999\ 9$ ($n = 5$)。

3.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液10 μl注入液相色谱仪,记录峰面积,重复测定6次,测得各次峰面积的RSD为0.24%,结果表明此方法精密度良好。

3.4 供试品溶液稳定性试验 取供试品溶液(批号:040405),间隔一定时间(0、1、2、4、6、8、12h)进

针1次,共考察12小时,测定厚朴酚峰面积的RSD为1.18%,结果表明供试品溶液在12小时内稳定。

3.5 重复性试验 取本品9袋(批号:040405),去包装后,称定重量,研细,混匀,称取6份,每份约5 g,精密称定,按供试品制备方法,制备供试品溶液,照样品含量测定方法测定,计算,9.3123 mg/g, RSD为0.79%,说明该方法重复性良好。

3.6 加样回收实验 取本品已知含量,同一批号(批号:040405)样品共6份,每份约3.0 g,精密称定,精密加入一定量厚朴酚溶液,照上述供试品制备方法制备供试品溶液,按含量测定方法测定厚朴酚含量,计算平均回收率为101.6%,回收率RSD为1.8%。结果表明本法回收率较高,方法可行,结果见表1。

表1 五积丸加样回收实验结果

实验号	称样量/g	样品中厚朴酚量/mg	实测量/mg	加入的对照品量/mg	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.0068	2.6292	5.0701	2.4598	99.23	101.6	
2	3.0116	2.5695	5.0827	2.4598	102.17		
3	3.0105	2.6640	5.2161	2.4598	103.75	1.8	
4	3.0036	2.5820	5.0450	2.4598	100.13		
5	3.0141	2.6043	5.0890	2.4598	101.01		
6	3.0019	2.6566	5.1971	2.4598	103.28		

3.7 样品含量测定 按以上方法测定6批样品,结果列于表2,由其测定结果暂定本品每袋含厚朴酚($C_{18}H_{18}O_2$)不得少于7.7 mg。

表2 样品含量测定结果

批号	厚朴酚(mg/袋)
040401	9.5621
040403	9.8917
040405	9.3123
040407	7.6729
040409	9.3721
040411	9.3848

4 讨论

采用以甲醇为溶剂,分别对超声不同的时间及超声后放置不同的时间进行比较实验,结果表明,超声40分钟,放置24小时所制得的供试品溶液,提取分离最为完全,所测得的厚朴酚含量最高。该含量测定方法简便准确,可作为五积丸的质量控制方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 193.
- [2] 张永太. 厚朴药理学研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2005(5): 96-99.
- [3] 丁德荣, 吴建平. HPLC测定开胸顺气丸中厚朴酚的含量[J]. 华西药学杂志, 2002, 17(4): 286-287.

(收稿日期: 2009-11-28 责任编辑: 曾文雪)