

高效液相色谱法测定咽炎颗粒中大黄素的含量

王 丽^{1,2}, 张山川³, 徐 焱², 律 焱⁴, 唐 尧^{2#} (1. 四川大学华西药学院, 成都市 610041; 2. 四川大学华西医院药剂科, 成都市 610041; 3. 四川大学华西口腔医院, 成都市 610041; 4. 四川大学华西公共卫生学院, 成都市 610041)

中图分类号 R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)09-0684-03

摘 要 目的: 建立以高效液相色谱法测定咽炎颗粒中大黄素含量的方法。方法: 色谱柱为 Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm), 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(68:32), 检测波长为 254nm。结果: 大黄素进样量在 0.26~3.90μg 范围内线性关系良好($r=0.9999$), 平均回收率为 96.73% (RSD=1.49%)。结论: 本法准确、灵敏、重现性好, 操作简便、可用于控制咽炎颗粒的质量。
关键词 咽炎颗粒; 大黄素; 高效液相色谱法; 含量测定

Determination of Emodin in Yanyan Granules by HPLC

WANG Li(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)
WANG Li, XU Ting, TANG Yao(Department of Pharmacy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)
ZHANG Shanchuan(West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)
LV Yan(West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an HPLC method for determination of Emodin in Yanyan granules. METHODS: The stationary phase was Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm) column and the mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid(68:32), with detection wavelength set at 254nm. RESULTS: Within the range of 0.26~3.90μg Emodin had a good linearity, and the average recovery was 96.73% (RSD=1.49%). CONCLUSION: The method is accurate, sensitive, reproducible, simple and can be used for the quality control of Yanyan granules.
KEY WORDS Yanyan granules; Emodin; HPLC; Content determination

咽炎颗粒为四川大学华西医院自制制剂, 由石菖蒲、白术、夜交藤、枳实、柏子仁、杭菊花、远志及淡竹叶组成。经多年临床应用, 治疗急、慢性咽炎疗效确切。其中, 石菖蒲化湿和胃、开窍豁痰; 远志宁心安神、祛痰散痞, 《仁斋直指方》以远志肉为末, 吹之, 涎出为度, 治喉痹作痛、失音; 白术补气健脾、燥湿利水; 枳实化痰除痞、破气消积; 菊花和淡竹叶清热泻火; 柏子仁润肠通便、养心安神; 夜交藤祛风通络。为了控制该制剂的质量, 笔者采用高效液相色谱法, 对咽炎颗粒中夜交藤的主要有效成分大黄素的含量测定方法进行了研究。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪, 包括 LC-10ATvp 溶剂输送泵、SPD-10Avp 紫外-可见检测器、UV-2401PC 分光光度计(日本岛津公司); pHs-4C 型酸度计(成都方舟科技开发公司); LP2102 电子天平(常熟市百灵天平仪器有限公司); AEL-120 电子天平(湘仪天平仪器厂); ZDHW 调温电热套(河北省黄骅市中兴仪器有限公司); CS101-E 型电热鼓风干燥箱(重庆四达实验仪器有限公司); AS3120 超声清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 试药

较好地解决了该制剂中延胡索乙素的分离和检测。
本品采用 TLC 法进行鉴别、薄层色谱扫描法进行含量测定, 方法简便可行, 操作简单, 回收率较高, 证明所建标准适用于该制剂的质量控制。
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]. 硕士研究生。研究方向: 药物新剂型。电话: 028-66972310。E-mail: nobu1982@sina.com
通讯作者: 主任药师, 硕士研究生导师。研究方向: 临床药学。电话: 028-81812629

2000 年版. 北京: 化学工业出版社, 2000: 108.
[2] 吕 凌. 糖克灵颗粒质量标准研究[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(3): 211.
[3] 陈继英, 单振顺, 赵 辉. 薄层扫描法测定气滞胃痛颗粒中延胡索乙素含量[J]. 天津药学, 2004, 5(4): 9.
[4] 梁 斌, 李孟林. 薄层扫描法测定胃药胶囊中延胡索乙素的含量[J]. 中国药房, 2000, 11(6): 277.
(收稿日期: 2006-09-10 修回日期: 2006-11-19)

磷酸(分析纯,广西西陇化工厂);盐酸(分析纯,四川省绵阳市新皂化工总厂试剂分厂);三氯甲烷(分析纯,广东光华化学厂有限公司);大黄素化学对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号:0756-200110);甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈(150mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液(68:32); 流速: 1mL · min⁻¹; 柱温: 40℃; 检测波长: 254nm^[1]; 进样量: 10μL。理论塔板数按大黄素峰计算应不低于3500。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取大黄素对照品,加甲醇配制成0.52mg · mL⁻¹的对照品贮备液,加甲醇稀释成0.26mg · mL⁻¹的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备^[2]: 取咽炎颗粒约5g,精密称定,置250mL圆底烧瓶中,加入1mol · L⁻¹盐酸50mL,超声15min,再加入三氯甲烷35mL,水浴1h,冷却,移至分液漏斗中,用少量三氯甲烷洗涤圆底烧瓶,并入分液漏斗中,分取氯仿层,酸液用三氯甲烷提取3次,每次20mL,合并三氯甲烷,移至150mL圆底烧瓶中,回收三氯甲烷,残渣用甲醇分次溶解,转移至5mL容量瓶中,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.22μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性溶液的制备: 用缺夜交藤药材的其余药材,按处方比例和工艺制备方法制成阴性制剂,按“2.2.2”项下方法制成阴性溶液。

2.3 系统适应性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10μL,注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件记录色谱图。大黄素对照品的保留时间约为20min,供试品色谱中大黄素与杂质峰分离良好,分离度不低于1.5,保留时间约为20min,阴性对照色谱在大黄素相应位置处无干扰峰。详见图1。

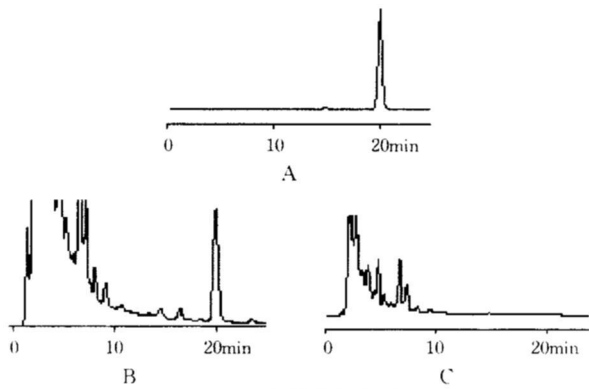


图1 高效液相色谱

A. 大黄素对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

Fig 1 HPLC

A. Emodin reference substance; B. test sample; C. negative control

2.4 线性关系的考察

精密吸取0.52mg · mL⁻¹的大黄素对照品贮备液0.5、1.0、2.0、4.0、5.0、7.5mL,分别置于10mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件测定,以对照品进样量(X)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为Y=3544782.513X-81814.52326(r=0.9999)。

结果,大黄素进样量在0.26~3.90μg范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取同一供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件重复进样5次。结果,大黄素峰面积积分值的相对标准差(RSD)为0.36%(n=5)。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液,分别放置0、4、8、16、24、48h后按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积。结果,RSD=0.82%,表明供试品溶液在48h内基本稳定。

2.7 重现性试验^[3]

取同一批号的咽炎颗粒5份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样。结果,RSD=1.23%(n=5),表明本方法重现性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取9份已知含量的咽炎颗粒各5g,每3份为一组,每组分别精密加入0.26mg · mL⁻¹的大黄素对照品溶液0.5、1.0、1.5mL,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

样品含量/μg	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	$\bar{x}$ /%	RSD/%
0.5430	0.2600	0.7960	97.31	96.73	1.49
0.5460	0.2600	0.7996	97.54		
0.5452	0.2600	0.7934	95.46		
0.5594	0.5200	1.0620	96.65		
0.5592	0.5200	1.0476	93.92		
0.5572	0.5200	1.0642	97.50		
0.5562	0.7800	1.3174	97.59		
0.5504	0.7800	1.3206	98.74		
0.5490	0.7800	1.2966	95.85		

2.9 样品含量测定

取3批咽炎颗粒样品(批号:060320、060323、060405),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,按外标法计算样品中大黄素的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果

批号	大黄素含量/mg · g ⁻¹	平均含量/mg · g ⁻¹
060320	0.0607	0.0616
	0.0612	
	0.0628	
060323	0.0589	0.0585
	0.0575	
	0.0592	
060405	0.0581	0.0581
	0.0572	
	0.0590	

3 讨论

在制备供试品时,笔者曾采取甲醇直接超声提取、加热回流提取后不经水解直接蒸干溶解的方法,结果所得大黄素含量很低;后采用本文方法,测定含量较高,且加样回收率亦较高,证明提取较完全。

对大黄素对照品溶液进行紫外扫描,发现其在250nm波长附近吸收最大,查阅文献多采用254nm,故选用254nm为检测波长。

文献^[4]报道大黄素的含量测定多采用甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相。笔者在确定两者比例时,曾经采用甲醇-0.1%磷

固相萃取- 高效液相色谱法测定枇杷止咳胶囊中吗啡的含量

邱 洪¹, 王宝佳¹, 杨立勇², 林 芳¹ (1. 解放军第 44 医院药剂科, 贵阳市 550009; 2. 贵阳中医学院, 贵阳市 550002)

中图分类号 R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001- 0408(2007) 09- 0686- 02

摘 要 目的: 建立以固相萃取- 高效液相色谱法测定枇杷止咳胶囊中吗啡含量的方法。方法: 色谱柱为 Lichrospher C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm), 流动相为乙腈- 0.01mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液- 0.005mol · L⁻¹ 庚烷磺酸钠水溶液(5: 47.5: 47.5), 流速为 1.0mL · min⁻¹, 检测波长为 220nm。结果: 吗啡进样量在 0.233 5~ 1.868 0μg 范围内呈良好线性关系($r = 0.999\ 9$), 平均回收率为 97.6% (RSD= 1.2%, $n = 5$)。结论: 本方法简便、准确、重现性好, 可有效控制该制剂中吗啡的含量。
关键词 固相萃取- 高效液相色谱法; 枇杷止咳胶囊; 吗啡; 含量测定

Determination of the Content of Morphine in Pipazhike Soft Capsules by SEP- HPLC
QIU Hong, WANG Baojia, LIN Fang (The 44th Hospital of the PLA, Guiyang 550009, China)
YANG Liyong (Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for determination of Morphine in Pipazhike soft capsules by using SPE- HPLC. METHODS: SPE condition: C₁₈ cartridge. 15mL MeOH- water (3: 1) and 5mL water were used as elution solvent. RESULTS: Morphine had a good linearity in the rang of 0.233 5~ 1.868 0μg ($r = 0.999\ 9$). The average recovery rate was 97.6% (RSD= 1.2%, $n = 5$). CONCLUSION: This method is simple, accurate, and reproducible, and can be used to effectively control the content of Morphine in Pipazhike soft capsules.
KEY WORDS SPE- HPLC; Pipazhike soft capsules; Morphine; Content determination

枇杷止咳胶囊为卫生部药品标准中药成方制剂第十七册收载的复方制剂, 处方由枇杷叶、桑白皮、百部、罂粟壳等 7 味中药组成, 主要用于治疗咳嗽、支气管炎。鉴于罂粟壳中的吗啡既具有止咳作用, 又具有成瘾性, 而原标准未建立吗啡的含量测定方法, 故笔者建立固相萃取- 高效液相色谱法测定其含量。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪, 包括 LC- 10AT_{VP} 泵、SPD- 10AV_P 紫外检测器、CTO- 10AS_{VP} 柱温箱(日本岛津公司); TG- 332A 十万分之一微量分析天平(上海天平仪器厂); CHO- 250 超声波清洗器(北京创新德仪器设备厂)。

1.2 试剂

乙腈(色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂); 水为重蒸馏水; 磷酸二氢钾、庚烷磺酸钠(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 吗啡对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 171201- 200303); 枇

杷止咳胶囊(贵州神奇制药有限公司, 批号: 20040101、20040102、20040103)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Lichrospher C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 乙腈- 0.01mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液- 0.005mol · L⁻¹ 庚烷磺酸钠水溶液(5: 47.5: 47.5); 流速: 1.0mL · min⁻¹; 柱温: 35℃; 检测波长: 220nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液: 精密称取经 105℃干燥的吗啡对照品 12.33mg, 置 100mL 棕色瓶中, 加入含 5% 醋酸的 20% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密吸取 1mL, 置 10mL 棕色容量瓶中, 加入含 5% 醋酸的 20% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 制得每 1mL 含吗啡 12.33μg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液: 取以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的固相萃取小柱(填充物 250mg, 内径 13mm, 容积 6mL) 1 支, 依

酸溶液(75: 25), 发现大黄素与附近杂质分离不好, 后调整甲醇- 0.1% 磷酸溶液(68: 32), 大黄素与附近杂质峰分离良好。

参考文献

[1] 李莹, 丁青龙, 王 俊. HPLC 法测定神安胶囊中大黄素的含量[J]. 江苏药学与临床研究, 2005, 13(5): 40.

[2] 郭 澄, 王雯佳, 江春霞, 等. 高效液相色谱法测定减肥降脂片中大黄酸、大黄素的含量[J]. 中国药房, 2003, 14(4): 242.

[3] 郭 丹, 陈娜娜, 晏 媛, 等. 高效液相色谱法测定常通口服液中大黄素的含量[J]. 中国药房, 2003, 14(5): 297.

[4] 王 虎, 陈华庭, 徐楚鸿. 肾衰丸中大黄素的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(9): 834.

(收稿日期: 2006- 08- 14 修回日期: 2006- 10- 24)

药师, 执业中药师。研究方向: 药品检验及药品质量标准。电话: 0851- 3842984。E- mail: Benbento@sina.com