

图4 三黄片 HPLC 测定结果与 NIR 外部验证测试结果相关性图

Fig. 4 HPLC(abscissa) and NIR prediction(ordinate) relativity grape of the contents of Sanhuang Tablets

4.3 在快检工作中的实际应用

4.3.1 通用性模型具有涵盖面广,代表性强等优点,作者曾经对其建立过通用性模型,但是准确性较差,本实验是根据辖区药品质量状况针对9家生产企业生产的药品所建立的具有地方特色的专属性模型,其针对性强,准确性较高,在药品检测车的实际应用中起到了一定的初筛效果。

4.3.2 在实际检测操作中应注意,一是判断每批样

品结果时,将平均光谱与6张光谱的测得值综合起来判断,其初筛的效果会更好;二是在磨片除去糖衣时,应按正反时针反复操作,以被磨处的表面平整、光滑、不残留糖衣为佳。

5 结论

本实验采用偏最小二乘法(PLS),针对几家特定的药品生产企业生产的药品,建立了三黄片专属性近红外定量分析模型,该方法快速、简便,具有一定的专属性,可用于药品检测车的现场快速分析,以提高抽检不合格药品的靶向命中率,充分发挥近红外仪在药品监督抽检中的作用。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005:328.
- [2] 国家食品药品监督管理局稽查局.药品检验补充检验方法和检验项目批准件汇编(2003~2008年)[S].2009:145-146.
- [3] 陆婉珍主编.现代近红外光谱分析技术[M].第2版.北京:中国石化出版社,2006.
- [4] 刘绪平,冯艳春,胡昌勤,等.头孢拉定胶囊剂通用性近红外定量分析模型的建立[J].药物分析杂志,2008,28(5):724.

中药胃肠安丸中5种蒽醌类成分的定量分析

张静泽¹, 高文远^{1*}, 王磊^{1,2}, 马超¹

(1. 天津大学 药物科学与技术学院,天津 300072; 2. 天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂,天津 300380)

关键词:胃肠安丸;游离蒽醌;HPLC

摘要:目的:建立中药胃肠安丸(木香、沉香、枳壳、檀香、大黄等)中蒽醌类成分的高效液相色谱含量测定方法。方法:色谱柱:Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm 5 μm);流动相:甲醇-0.5%醋酸溶液梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm。结果:芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚总含量在1.03 mg/g以上,平均回收率为100.38%,所得结果的RSD值均小于2%。结论:该方法简便、灵敏、准确,为胃肠安丸的质量控制提供数据支持。

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1001-1528(2010)10-1716-05

Quantitative analysis of 5 kinds of anthraquinone in Weichang'an Pill

ZHANG Jing-ze¹, GAO Wen-yuan^{1*}, WANG Lei^{1,2}, MA Chao-yi

(1. College of Pharmaceuticals and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Tianjin Lerentang Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Co., (Group) Ltd, Tianjin 300380, China)

KEY WORDS: Weichang'an Pill; free anthraquinones; HPLC

收稿日期:2010-02-25

作者简介:张静泽(1977-),女,在读博士生,主要从事中药复方作用物质研究。E-mail:jingzezhangle@126.com

* 通讯作者:高文远 教授, Tel:(022)87401895 E-mail:pharmgao@tju.edu.cn

ABSTRACT: AIM: To establish an HPLC method for determining free anthraquinones content in Weichang'an Pill (*Fructus Chaenomelis*, *Lignum Aquilariae resinatum*, *Fructus Aurantii*, *Lignum Santali albi*, *Radix et Rhizoma Rhei*, etc.). **METHODS:** The separation was performed on ODS column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) of Kromasil. The mobile phase was a mixture of methanol - 0.5% acetic acid solution, gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min and the wavelength was set at 254 nm. **RESULTS:** The total content of aloemodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion was above 1.03 mg/g. The average recovery was 100.38%, RSD of the results was all less than 2%. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate, sensitive and can be used to provide the data for the quality control of Weichang'an Pill.

中药胃肠安丸是由木香、沉香、枳壳(麸炒)、檀香、大黄、厚朴(姜制)、朱砂、麝香、巴豆霜、大枣(去核)、川芎等十一味中药组成^[1],其中君药:木香、沉香、檀香;臣药:厚朴、枳壳、川芎;佐使药:大黄、巴豆霜、麝香、大枣、朱砂。此方对于治疗各种感染性、非感染性腹泻以及胃肠功能性障碍所造成的恶心、呕吐、腹胀、腹痛、腹泻等症状效果显著,并能改善胃肠功能;具有解痉、止泻等作用。2005版中国药典中只是以厚朴中的厚朴酚及和厚朴酚作为质量控制的指标,凌宁生等又对其中柚皮苷的含量进行了测定,通过测定10个批次胃肠安丸样品发现其中柚皮苷含量不少于4.38 mg/g^[2]。胃肠安丸组方独特,止泻不留邪,具有通因通用的特点,临床用于治疗腹泻的效果显著,能够明显缓解现代医学中腹泻型肠易激综合症的各种症状;同时胃肠安丸方对于胃肠道功能具有双向调节的作用,药理实验结果证明胃肠安丸甲醇提取物能够使正常小鼠的小肠推进率增加,使新斯的明致泻小鼠的小肠推进率明显降低^[3]。因此,对于便秘型肠易激综合症的患者也有一定的治疗作用。方中大黄的蒽醌类成分对小肠运动有明显的促进作用,而对于方中具有泻下活性的大黄中蒽醌类成分的含量尚无报道,由于中药胃肠安丸对胃肠道功能具有双向调节作用,因此本实验采用RP-HPLC法对于胃肠安丸中所含的大黄蒽醌进行含量测定,一方面能够为保证胃肠安丸用药的安全有效提供了重要的数据支持,另一方面也为深入探讨大黄作为佐使药在方中的作用奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 样品与试剂 胃肠安丸由天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂生产,批号为:WCAW-D109002、D109004、D10909、D109010、D109020。对照品:芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚(含量测定用,中国药品生物制品检定所提供,批号:110756-200310、0757-200206、110756-200110、1107996-200310、1107580-200409)。乙腈、甲醇为色

谱纯、冰醋酸、氯仿为分析纯(天津康科德医药化工有限公司)。

1.2 仪器 高效液相色谱仪(Waters2414型高效液相色谱仪;Waters2998紫外-可见检测器);微量分析天平(CP225D,Sartorius Co.);Kromasil色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);微量进样器(25 μL, Hamilton)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 流动相:A:甲醇,B:0.5%醋酸水溶液,梯度洗脱:0~20 min,A为65%~85%;柱温:35℃;流速:1 mL/min;检测波长:254 nm。理论塔板数:各对照品对应色谱峰理论塔板数不小于4 000。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量,加入甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀得到芦荟大黄素60 μg/mL、大黄酸90 μg/mL、大黄素100 μg/mL、大黄酚140 μg/mL、大黄素甲醚30 μg/mL的对照品溶液,分别吸取各对照品溶液2 mL混合均匀定容至10 mL,作为混合对照品贮备液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 精密称定胃肠安丸粉末约1.0 g,置50 mL具塞三角瓶中,加甲醇25 mL,称定重量,加热回流1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足失重,滤过,精密量取续滤液20 mL,置于烧瓶中,挥去溶剂,加8% HCl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,置于分液漏斗中,加少量三氯甲烷洗涤容器,并入分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液再用三氯甲烷萃取3次,每次10 mL,合并三氯甲烷液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇使之溶解,转移至10 mL量瓶中,加入甲醇定容至刻度,摇匀,过滤,取续滤液,即得,微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。另取处方药材(缺大黄阴性)按照上述方法制备阴性对照品溶液。

2.4 线性关系的考察 精密吸取混合对照品溶液4.8、12、16、20 μL进样,按上述色谱条件测定,分别

记录峰面积。以大黄5种蒽醌进样量(X)为横坐标,相应峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,所得线性回归方程分别为:芦荟大黄素: $Y = 11\ 645X - 22\ 533$ $r = 0.999\ 8$;大黄酸: $Y = 61\ 823X - 18\ 028$, $r = 0.999\ 9$;大黄素: $Y = 82\ 864X + 24\ 062$, $r = 0.999\ 8$;大黄酚: $Y = 11\ 911X - 25\ 010$ $r = 0.999\ 8$;大黄素甲醚: $Y = 71\ 408X - 5\ 671$ $r = 0.999\ 9$ 。

线性范围分别为:芦荟大黄素 3.29 ~ 16.44 $\mu\text{g/mL}$;大黄酸 9.08 ~ 45.40 $\mu\text{g/mL}$;大黄素 13.92 ~ 69.60 $\mu\text{g/mL}$;大黄酚 14.60 ~ 73.00 $\mu\text{g/mL}$;大黄素甲醚 2.91 ~ 14.55 $\mu\text{g/mL}$,在此范围内样品浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 按2.1项下色谱条件,取混合对照品溶液连续进样6次,每次20 μL ,依法测定,记录分析样品中大黄蒽醌各组分峰面积值,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的RSD值分别为0.72%、0.82%、0.72%、0.91%、1.03% ($n = 6$)。结果表明该仪器精密度较好。

2.6 重复性试验 取同一批号的胃肠安丸样品按表1

照供试品溶液的制备方法配制溶液,分别精密称取5份,按2.1项下色谱条件,依法测定,记录分析样品中大黄蒽醌各组分峰面积值,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的RSD值分别为1.45%、0.81%、0.76%、1.33%、1.29% ($n = 5$),实验结果表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一批号的胃肠安丸样品按照供试品溶液的制备方法配制溶液,避光室温放置,在0、2、4、6、8、10、12 h分别进样20 μL ,按照2.1项下色谱条件,依法测定,记录与混合对照品相对应的各峰峰面积,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚RSD分别为0.98%、0.87%、1.00%、0.85%、1.24%,所得结果的RSD值均小于2%,表明供试样品溶液在12 h内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批胃肠安丸样品约1.0 g,共6份,分别置上述具塞三角瓶中,精密吸取一定量混合蒽醌对照品溶液,混合均匀,按照2.1项下色谱条件,依法测定,记录峰面积,计算回收率,结果见表1。

胃肠安丸中5种蒽醌类化合物加样回收率试验

Tab. 1 The recovery test results of 5 kinds of anthraquinones in Weichang 'an Pill

成分	称样量/g	理论含量/ μg	加入对照品量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
芦荟大黄素	1.067	85.01	82.20	164.02	98.09	99.53	1.33
	1.034	82.38	82.20	166.08	100.91		
	1.055	84.05	82.20	168.20	101.17		
	1.107	88.20	82.20	169.79	99.65		
	1.007	80.23	82.20	161.37	99.34		
	1.065	84.85	82.20	163.83	98.07		
大黄酸	1.067	312.49	227.01	557.83	103.4	100.69	1.56
	1.034	302.88	227.01	528.66	99.77		
	1.055	308.98	227.01	533.51	99.54		
	1.107	324.21	227.01	558.93	101.40		
	1.007	294.92	227.01	526.10	100.80		
	1.065	311.91	227.01	534.76	99.23		
大黄素	1.067	178.79	139.20	326.32	102.62	102.30	1.93
	1.034	173.26	139.20	329.65	105.50		
	1.055	176.78	139.20	315.25	99.77		
	1.107	185.49	139.20	328.68	101.23		
	1.007	168.73	139.20	317.11	102.98		
	1.065	178.45	139.20	323.05	101.70		
大黄酚	1.067	378.14	438.10	814.92	99.85	101.33	1.23
	1.034	391.19	438.10	830.41	100.17		
	1.055	398.94	438.10	843.64	100.80		
	1.107	418.60	438.10	879.73	102.71		
	1.007	380.79	438.10	834.35	101.90		
	1.065	402.72	438.10	862.58	102.60		
大黄素甲醚	1.067	119.33	116.41	236.06	100.14	100.38	1.15
	1.034	115.64	116.41	237.84	102.50		
	1.055	117.99	116.41	232.42	99.16		
	1.107	123.81	116.41	239.35	99.64		
	1.007	112.62	116.41	229.64	100.27		
	1.065	119.11	116.41	236.81	100.55		

2.9 空白試驗 除大黃外按處方量稱取其他藥味，按處方工藝製成不含大黃的製劑，製成缺大黃的陰性空白對照液 按照 2.1 項下色譜條件 依法測定，記錄各峰峰面積。對照品、空白對照和供試品的 HPLC 圖見圖 1，由此證明其他藥材中的所含的成分在此檢測條件下並不影響大黃蒽醌的測定。

2.10 樣品測定 取 5 批胃腸安丸 按 2.3 項下供試品溶液製備方法製成供試品溶液，每批製備 3 份。精密吸取供試品溶液 20 μL，注入高效液相色譜儀，進行測定 按照 5 種蒽醌的標準曲線分別計算 結果見表 2。通過對 5 批胃腸安丸中蒽醌類成分進行檢測，胃腸安丸中 5 種蒽醌的總量不少於為 1.03 mg/g。

3 討論

胃腸安丸由十一味中藥組成，其君藥中木香的主要活性成分木香烴內酯和去氫木香內酯具有鬆弛平滑肌和解痙的作用，能夠明顯抑制小鼠腸蠕動^[4]；臣藥厚朴中主要活性成分厚朴酚對豚鼠末段結腸的推進具有明顯抑制作用，提示其具有止瀉作用，為中藥厚朴治療下消化道疾病的藥理學基礎之一；小腸炭末推進實驗也證明厚朴酚能明顯抑制小腸炭末推進率，說明其對小鼠的小腸運動具有抑制作用；還能明顯減少番瀉葉與蓖麻油引起的小鼠濕糞增加，說明其對番瀉葉引起的腸道蠕動與分泌增

表 2

不同批次樣品中 5 種蒽醌的含量測定結果 (n=3)

Tab. 2

Contents of 5 kinds of anthraquinones in different samples (n=3)

樣品批號	芦荟大黃素		大黃酸		大黃素		大黃酚		大黃素甲醚	
	含量 /(μg/g)	RSD /%								
D109002	79.67	0.96	292.87	1.03	167.56	1.16	378.14	0.33	111.84	0.89
D109004	80.12	0.84	295.30	0.89	168.51	1.27	378.91	0.15	112.07	0.87
D109009	81.07	0.85	293.07	0.91	171.34	1.26	379.93	0.29	114.31	1.02
D109010	80.77	1.06	292.96	1.05	167.57	1.04	379.01	0.26	114.06	1.17
D109020	81.57	0.94	295.85	1.12	171.54	1.17	380.77	0.32	112.55	1.10

加有明顯抑制作用，對蓖麻油水解成蓖麻酸後引起水和電解質轉運發生改變的過分泌反應有抑制作用，認為是胃腸安發揮止瀉作用的物質基礎之一^[5]。然而對於方中具有瀉下活性的大黃中蒽醌類成分的含量尚無報道，由於胃腸安對於胃腸道功能具有雙向調節作用，因此對於具有瀉下活性的大黃蒽醌含量進行測定對於評價胃腸安丸的質量具有指導意義。

胃腸安丸藥味多，所含化合物種類繁多，在選擇流動相比例時，考察了乙腈-0.5%醋酸水溶液，甲

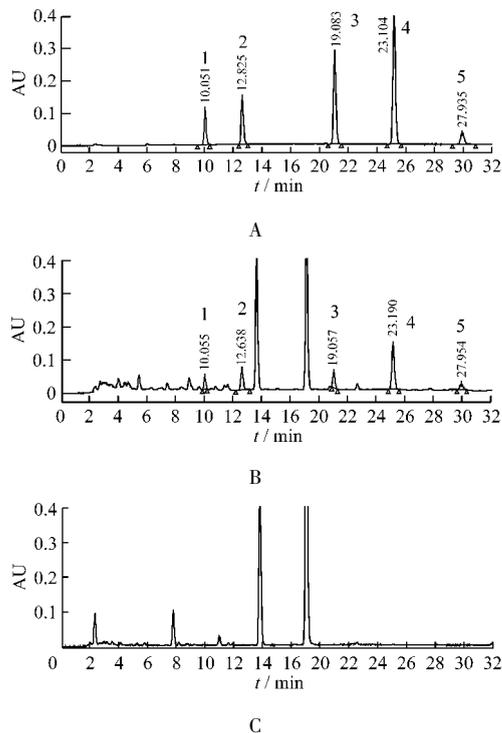


圖 1 胃腸安丸 HPLC 色譜圖

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed standard solution (A), Weichang'an Pill sample solution (B) and negative sample (C)

A. 混合對照品 B. 胃腸安供試品 C. 陰性樣品

1. 芦荟大黃素 2. 大黃酸 3. 大黃素 4. 大黃酚 5. 大黃素甲醚
1. aloemodin 2. rhein 3. emodin 4. chrysophanol 5. physcion

醇-0.5%醋酸水溶液等度與梯度條件下樣品分離效果 在乙腈作為流動相時，調整流動相比例很難在短時間內將芦荟大黃素和大黃酸的两个色譜峰分開。多數對於复方中大黃蒽醌 HPLC 測定的色譜條件是採用甲醇-0.1%磷酸溶液(85:15)^[6]，然而在对胃腸安丸進行測定時等度條件下分離效果不理想，因此採用甲醇-0.5%醋酸水溶液梯度洗脫分離效果良好，而且分析時間短，測定能夠在 30 min 內完成。試驗結果表明，該方法能夠簡單、快速、準確的測定胃腸安丸中蒽醌類成分的含量。

参考文献:

[1] 中国药典[S].一部.2005:518.
[2] 凌宁生 杨 瑾 律兆荣,等. HPLC 法测定胃肠安丸中柚皮苷 [J]. 中草药,2005,36(12):1815-1816.
[3] Hu Jing, Gao Wenyuan, Ling Ningsheng, et al. Antidiarrhoeal and intestinal modulatory activities of Wei-Chang-An-Wan extract

[J]. *J Ethnopharmacol*,2009,125:450-455.
[4] 张国华 王贺玲. 木香对胃肠运动作用的影响及机制研究[J]. 中国现代实用医学杂志,2004,3(13):24-26.
[5] 朱自平 张明发 沈雅琴,等. 厚朴对消化系统的药理作用[J]. 中国中药杂志,1997,22(11):686.
[6] 魏 萍 黄旭腾. 黄芩颗粒中5种蒽醌成分的 HPLC 测定[J]. 中成药,2009,31(12):附1-3.

降脂灵胶囊的质量标准研究

许 勇, 王 柯, 季 申*
(上海市食品药品检验所,上海 201203)

关键词:降脂灵胶囊;质量标准;三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} ;薄层色谱;高效液相色谱

摘要:目的:建立降脂灵胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱法进行定性鉴别,以 RP-HPLC 测定三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 的含量。采用 C_{18} 柱 流动相为乙腈-水 梯度洗脱 检测波长为 203 nm。结果:薄层色谱分离度较好,专属性强。三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 的线性范围分别为 0.021 24 ~ 1.062 mg/mL ($r=0.999$ $n=6$)、0.072 04 ~ 3.602 mg/mL ($r=0.999$ $n=6$) 平均回收率分别为 101.3%、100.9% RSD 分别均为 3.3% ($n=9$)、2.5% ($n=9$)。结论:所建立的定性、定量方法简便、准确、专属性强。可有效控制降脂灵胶囊的质量。

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1001-1528(2010)10-1720-04

降脂灵是由三七、丹参、银杏叶和灯盏花四味中药提取物制成的胶囊剂。为上海上联药业有限公司和上海剑兰生物制品有限公司生产的中药制剂,原标准仅有检查项,为控制药品质量,保证临床用药的安全性和有效性,我们建立了用薄层色谱方法鉴别本品中三七、丹参和银杏叶三味药材的方法,并采用高效液相色谱法对制剂中三七的活性成分三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 进行了测定,建立的定性、定量方法均简便、准确、专属性强,可有效地控制本品的质量。

1 仪器、试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,紫外-可见光检测器,Chemstation 色谱工作站。 C_{18} 固相萃取小柱(35 mg,Waters 公司);银杏叶对照药材及人参皂苷 R_{b_1} 、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、隐丹参酮、丹参酮 II_A 对照品均由中国药品生物制品检定所提供。样品:降脂灵胶囊样品(批号为 090801、090701、090501)及阴性样品均由上海上联药业有限公司和上海剑兰生物制品有限公司提供。乙腈为色谱纯

(Merck 公司),其余试剂均为分析纯由中国医药(集团)上海化学试剂公司提供。

2 薄层色谱鉴别

2.1 三七的薄层鉴别 取本品 1 粒的内容物,加甲醇 30 mL 超声处理 30 min 滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取人参皂苷 R_{b_1} 对照品、人参皂苷 R_{g_1} 对照品及三七皂苷 R_1 对照品,加甲醇制成每 1 mL 各含 2 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。取按处方除去三七的阴性样品,同法制成阴性样品溶液。吸取上述两种溶液各 1 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(65:35:10)10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性样品液无干扰,见图 1。

2.2 丹参的薄层鉴别 取本品 5 粒的内容物,加乙醚 30 mL 超声处理 30 min 滤过,滤液挥至约 1 mL,加于中性氧化铝柱上(8 g,100~200 目,内径 15

收稿日期:2010-02-24

作者简介:许 勇(1976-),女,主管药师,从事中药质量研究。Tel:13916180916 E-mail:xuyongice2003@yahoo.com.cn

* 通讯作者:季 申,主任药师。Tel:(021)50798196 E-mail:ji_shen2006@yahoo.com.cn