

2.6 重现性试验: 取同一批宽肠理气汤 (批号 20080506) 样品, 按供试品溶液的制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。结果样品中松果菊苷平均质量浓度为 $65.0831 \mu\text{g/mL}$, RSD 为 1.11%; 毛蕊花糖苷平均质量浓度为 $23.0988 \mu\text{g/mL}$, RSD 为 1.52%。

2.7 稳定性试验: 取同一宽肠理气汤 (批号 20080506) 制得的供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12 h 进样, 记录峰面积, 结果在本实验条件下松果菊苷和毛蕊花糖苷在 12 h 内稳定, 松果菊苷与毛蕊花糖苷峰面积值的 RSD 分别为 1.53%、1.65%。

2.8 加样回收率试验: 取批号 20080506 宽肠理气汤样品, 精密量取 25 mL, 置 50 mL 量瓶中, 共 6 份, 分别精密加入 0.1618 mg/mL 松果菊苷对照品

溶液 10 mL 及 0.11 mg/mL 毛蕊花糖苷对照品溶液 5 mL, 制备供试品溶液, 测定, 计算回收率, 结果松果菊苷平均回收率为 98.78%, RSD 为 0.9%; 毛蕊花糖苷平均回收率为 99.39%, RSD 为 1.75%。

2.9 样品的测定: 取 3 个批号的宽肠理气汤水煎液各 2 份, 按供试品溶液制备方法操作, 以平均峰面积计算松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量浓度, 结果见表 1, 图谱见图 1。

表 1 宽肠理气汤中松果菊苷和毛蕊花糖苷的测定结果 ($n=2$)

批 号	松果菊苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	毛蕊花糖苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
20080506	65.039 1	23.271 6
20080507	65.295 9	22.980 2
20080508	65.073 9	22.983 1

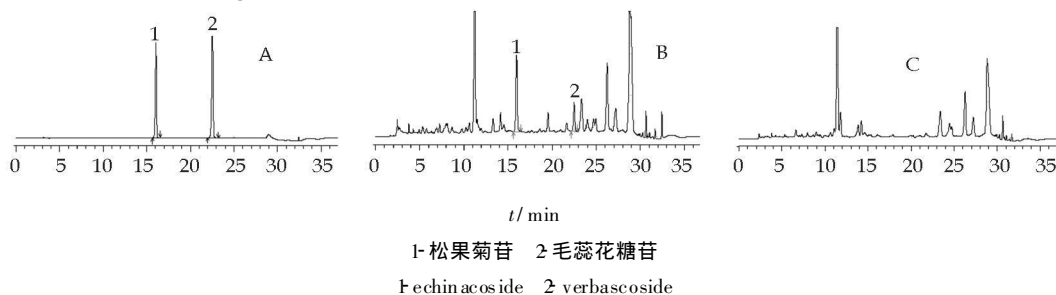


图 1 对照品(A)、宽肠理气汤(B)、缺肉苁蓉的阴性样品(C)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), Kuanchang Liqi Decoction (B), and negative sample without *Cistanches Herba* (C)

3 讨论

本实验利用 HPLC 法测定宽肠理气汤中松果菊苷和毛蕊花糖苷, 该法灵敏度高、重现性好、结果准确、方便易行, 适用于宽肠理气汤中松果菊苷及毛蕊花糖苷的测定。

参考文献:

- [1] 徐红欣, 田发琳. 宽肠理气汤保留灌肠治疗术后腹胀肠麻痹 80 例[J]. 黑龙江医学, 1999(10): 79-80
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005

- [3] 雷 丽, 宋志宏, 屠鹏飞. 肉苁蓉属植物的化学成分研究进展[J]. 中草药, 2003, 34(5): 473-476
- [4] 屠鹏飞, 张正高. 肉苁蓉类生药中苯乙醇甙类成分的 RP-HPLC[J]. 药学学报, 1997, 32(4): 294-296
- [5] 张思臣, 刘 丽, 于江泳. 等. HPLC 同时测定肉苁蓉药材中松果菊苷和毛蕊花糖苷含量[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(10): 740-741
- [6] 蔡 鸿, 鲍 忠, 姜 勇. 等. 不同产地管花肉苁蓉中有效成分的定量分析[J]. 中草药, 2007, 38(3): 452-455
- [7] 王长林, 屠鹏飞, 郭玉梅. 人工栽培管花肉苁蓉的化学成分分析[J]. 中草药, 2004, 35(6): 676

HPLC 法测定复方儿茶止泻膜剂中儿茶素、表儿茶素和没食子酸

赵新峰, 毛 莹, 高 明*

(大连大学医学院, 辽宁 大连 116622)

摘 要: 目的 建立 HPLC 法同时测定复方儿茶止泻膜剂中儿茶素、表儿茶素和没食子酸 3 个成分的方法。方法 色谱柱为 Hypersil ODS(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-50 mmol/L 磷酸二氢钾(8:92), 体积流量为 1.0

收稿日期: 2010-06-02

基金项目: 大连市科技局资助项目(2008E11SF171)

作者简介: 赵新峰, 男, 山东人, 药物分析学博士, 主要从事药品质量控制研究。

Tel: (0411) 87403735 E-mail: zhaoxinfengwy@126.com

* 通讯作者 高 明 Tel: (0411) 87402361 E-mail: gm056@126.com

mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温为 30 ℃。结果 3 个成分分离良好, 儿茶素、表儿茶素和没食子酸的平均回收率分别为 97.5%、98.4%、102.3%。结论 本法方便、准确、重现性好, 可以作为复方儿茶止泻膜剂质量控制的方法。

关键词: 复方儿茶止泻膜剂; 儿茶素; 表儿茶素; 没食子酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)12-1995-03

复方儿茶止泻膜剂是由儿茶、黄柏、五倍子和木香 4 味中药制成的中药复方制剂, 具有清热燥湿、涩肠止泻之功效^[1,2], 对小儿湿热腹泻有较好的治疗效果, 临床常用于治疗婴幼儿湿热腹泻。儿茶素和表儿茶素为君药儿茶的主要有效成分, 常见测定方法有高效液相色谱法^[3]和毛细管电泳法^[4]。没食子酸为五倍子的主要有效成分, 常见测定方法为高效液相色谱法^[5,6]。为了加强制剂的质量控制, 保证用药安全有效, 本实验建立了 HPLC 法同时测定复方儿茶止泻膜剂中儿茶素、表儿茶素和没食子酸 3 种成分的方法, 可以更加全面有效地控制该制剂的质量。

1 仪器与试剂

Hitachi L-2130 高效液相色谱仪(日本 Hitachi 公司); KH2200DB 型数控超声波清洗器(昆山市禾创超声仪器有限公司); BS 224 S 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

儿茶为豆科植物儿茶 *Acacia catechu* (L. f.) Willd. 的去皮枝、干的干燥煎膏, 黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 五倍子为漆树科植物盐肤木 *Rhus chinensis* Mill.、青麸杨 *Rhus potaninii* Maxim. 叶上的虫瘿, 主要由五倍子蚜寄生而形成, 木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根。以上药材购于大连市保健大药房, 由本校中药鉴定教研室高松教授鉴定。儿茶素(批号 877-200001)、表儿茶素(批号 110878-200102)和没食子酸(批号 110831-200302)对照品由中国药品生物制品检定所提供, 复方儿茶止泻膜剂(0.25 g/片)由大连大学中医中药实验室制备。乙腈(美国 Tedia 公司, 色谱纯); 甲醇

为分析纯, 山东禹王实业有限公司; 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验: 色谱柱为 Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, Thermo 公司), 流动相为乙腈 50 mmol/L 磷酸二氢钾 (8:92), 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温为 30 ℃。理论板数以儿茶素、表儿茶素和没食子酸分别计算, 均不低于 5 000; 拖尾因子分别为 1.08、1.09、1.02; 儿茶素、表儿茶素和没食子酸及其他组分的分离度均大于 1.5。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取复方儿茶止泻膜剂约 0.25 g, 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇超声提取 2 次, 每次 30 min, 合并提取液, 滤过。将滤液减压浓缩, 用 50% 甲醇定容至 100 mL, 定容后用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 对照品溶液的制备: 分别精密称取儿茶素对照品 13.1 mg、表儿茶素对照品 12.8 mg、没食子酸对照品 10.3 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 作为对照品溶液。

2.4 阴性供试品溶液的制备: 儿茶素和表儿茶素来源于儿茶, 没食子酸来源于五倍子, 按复方儿茶止泻膜剂的生产工艺制备缺儿茶和五倍子的阴性制剂, 并按照供试品的制备方法制备各阴性供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 空白干扰试验: 取阴性供试品溶液测定, HPLC 图谱见图 1, 结果表明阴性制剂对所测成分无干扰。

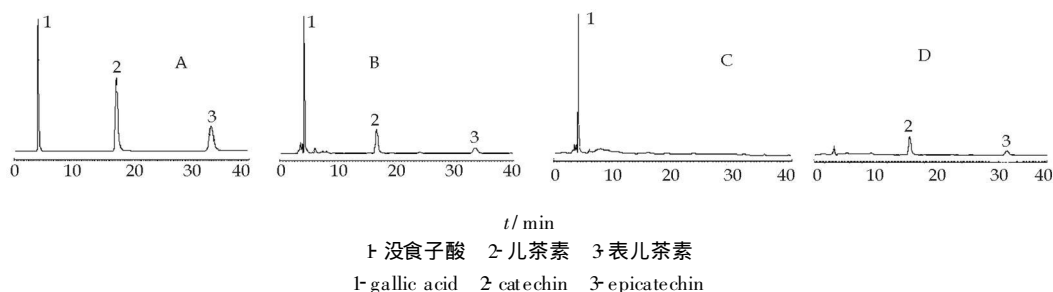


图 1 对照品(A)、复方儿茶止泻膜剂(B)、缺儿茶阴性对照(C)和缺五倍子阴性对照(D)的 HPLC 图

Fig 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), Compound Ercha Antidiarrheal Membranes (B), negative sample without *Catechu* (C), and negative sample without *Chinensis Galla* (D)

2.5.2 线性关系考察: 取对照品溶液, 依次进样 2、4、6、8、10、15 μL 。按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 以峰面积对进样量进行回归, 得儿茶素、表儿茶素和没食子酸线性回归方程及线性范围分别为 $Y=192\,718X-98\,059$ ($r^2=0.9913$), $0.52\sim 3.9\,\mu\text{g}$; $Y=14\,534X-2\,149.1$ ($r^2=0.9962$), $0.48\sim 3.6\,\mu\text{g}$; $Y=349\,708X-23\,043$ ($r^2=0.9981$), $0.4\sim 3\,\mu\text{g}$ 。

2.5.3 精密密度试验: 取对照品溶液各 10 μL , 按给定色谱条件重复进样 6 次, 儿茶素、表儿茶素和没食子酸的峰面积 RSD 分别为 1.6%、1.8%、1.4%。

2.5.4 重现性试验: 取同一批次的样品(批号 20090316)6 份, 按供试品溶液的制备方法制备, 在所选色谱条件下测定, 结果儿茶素、表儿茶素和没食子酸质量分数的 RSD 分别为 2.3%、1.7%、2.2%。

2.5.5 稳定性试验: 将批号 20090316 同一份样品制备供试品溶液, 分别在 1、2、4、8、12、16 h 进样 10 μL , 测定其峰面积, 结果儿茶素、表儿茶素和没食子酸的 RSD 值分别为 1.6%、2.0%、2.2%。

2.5.6 加样回收率试验: 精密称取批号 20090316 复方儿茶止泻膜剂约 0.12 g, 共 6 份, 精密称定, 分别加入儿茶素、表儿茶素和没食子酸对照品 1.57、1.54、1.24 mg, 按供试品溶液制备方法处理并测定, 计算回收率, 结果儿茶素平均回收率为 97.5%, RSD 为 1.5%; 表儿茶素平均回收率为 98.4%, RSD 为 1.3%; 没食子酸平均回收率为 102.3%, RSD 为 0.7%。

2.6 样品测定: 取 3 批复方儿茶止泻膜剂, 按供试品溶液的制备方法制备, 每批取 3 份, 依给定色谱条件测定, 外标法计算, 结果见表 1。

3 讨论

儿茶素、表儿茶素易溶于水和醇, 根据其溶解性分别以水、甲醇-水(1:1)、甲醇为提取溶剂进行试

表 1 复方儿茶止泻膜剂中儿茶素、表儿茶素和没食子酸的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of catechin, epicatechin, and gallic acid in Compound Ercha Antidiarrheal Membranes ($n=3$)

批 号	儿茶素		表儿茶素		没食子酸	
	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/ %
20090316	12.3	2.4	12.2	2.6	9.6	2.5
20090401	11.6	1.9	11.8	2.2	9.4	2.0
20090412	12.0	2.1	11.6	1.6	9.3	2.8

验, 测得质量分数在甲醇-水(1:1)中最高, 而且以水为提取溶剂很难滤过, 以甲醇为溶剂提取率较低, 因此选择甲醇-水(1:1)为提取溶剂。又考察了超声提取 15、30、45 min 对提取率的影响, 结果表明, 超声提取 30 min 质量分数达最高, 超声提取 30 min 以上, 儿茶素和表儿茶素质量分数反而降低, 可能因为儿茶素和表儿茶素属于可缩合鞣质, 长期高温状态下在方中不稳定, 可能脱水缩合形成大分子化合物鞣红。

色谱系统曾考察以不同比例甲醇-磷酸盐为流动相, 但儿茶素和表儿茶素峰形不对称, 且与邻近峰分离不好。后尝试多种溶剂系统, 最终确定以乙腈-50 mmol/L 磷酸二氢钾为流动相得到满意分离结果。

参考文献:

- [1] 谢世荣, 高明, 孙长滨, 等. 复方儿茶水提液的毒理学研究[J]. 大连医科大学学报, 2006, 28(4): 282-283.
- [2] 谢世荣, 高明, 韩再虹, 等. 复方儿茶水提液的抗腹泻和抗炎效应[J]. 中国临床康复, 2006, 10(35): 69-71.
- [3] 王夏青, 於洪建, 赵余庆. 干红葡萄酒中儿茶素、表儿茶素、白藜芦醇和原花青素的测定[J]. 中草药, 2009, 40(5): 745-747.
- [4] 袁伟斌, 李向军. 毛细管电泳-安培检测法测定儿茶中的儿茶素、表儿茶素[J]. 分析试验室, 2003, 22(增刊): 109-111.
- [5] 顿珠, 刘青, 索朗其美, 等. HPLC 法测定余甘子膏中没食子酸[J]. 中草药, 2010, 41(9): 1477-1478.
- [6] 刘起中, 张可可. HPLC 法测定五倍子中没食子酸的含量[J]. 中草药, 2002, 33(5): 427.

HPLC 法测定地黄及含地黄成药中寡糖

邱建国, 张汝学, 贾正平*, 李茂星, 王娅娣, 樊鹏程

(兰州军区兰州总医院 药材科, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 目的 考察不同产地、不同中成药中生地黄、熟地黄所含地黄寡糖。方法 采用 NH_4F -硅胶色谱柱分离, 示差折光检测器检测, 高效液相色谱法测定地黄寡糖。结果 产地不同, 生地黄、熟地黄中的地黄寡糖成分、量不同;

收稿日期: 2010-02-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30672643, 30472186, 30772773)

* 通讯作者 贾正平 Tel: (0931) 8994652 E-mail: jiazp166@sina.com