

HPLC 法测定乳痛消痛片中熊果酸

刘茂军¹, 韩 锋^{2,3}, 高 静^{2,3}, 裴 静⁴, 马 莉^{2,3*}

1. 天津市和平区中医医院, 天津 200050
2. 天津药物研究院, 天津 300193
3. 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(天津), 天津 300193
4. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 目的 建立乳痛消痛片中熊果酸的 HPLC 测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 2% 醋酸水溶液 (90 : 10); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 210 nm。结果 熊果酸在 0.506~4.554 μg 线性关系良好 ($r=1.000$), 平均加样回收率为 99.95%, RSD 值为 0.98% ($n=9$)。结论 该方法灵敏度高、准确、快速、专属性强、重复性好, 可用于乳痛消痛片中熊果酸的质量控制。

关键词: 乳痛消痛片; 熊果酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2013)05 - 0727 - 03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.05.018

Determination of ursolic acid in Ruyong Xiaotong Tablet by HPLC

LIU Mao-jun¹, HAN Feng^{2,3}, GAO Jing^{2,3}, PEI Jing⁴, MA Li^{2,3}

1. Tianjin Heping District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 200050, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China
4. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for determination of ursolic acid in Ruyong Xiaotong Tablet. **Methods** Ursolic acid was determined on Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with methanol-2% acetic acid (90 : 10) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 35 °C, and the detection wavelength was 210 nm. **Results** The ursolic acid showed a good linear relationship in the range of 0.506—4.554 μg ($r=1.000$). The average recovery of ursolic acid was 99.95% with RSD of 0.98% ($n=9$). **Conclusion** This method is accurate, fast, reliable, reproducible, and suitable for the determination of ursolic acid in Ruyong Xiaotong Tablet.

Key words: Ruyong Xiaotong Tablet; ursolic acid; HPLC

乳痛消痛片是由丹参、夏枯草、柴胡等多味中药制成的复方制剂, 具有解郁散结、祛瘀通络的功效。方中君药为夏枯草, 具有清火、明目、散结、消肿之功效, 用于治疗乳腺增生、乳痛肿痛等。夏枯草中主要活性成分为熊果酸, 《中国药典》2005年版一部夏枯草项下采用熊果酸为指标成分控制夏枯草的质量。文献报道^[1-5]制剂中熊果酸也多采用高效液相色谱法测定。本实验建立了乳痛消痛片中熊果酸的测定方法, 结果表明, 该方法操作简便、稳

定、精密度高、结果准确、重现性好。

1 仪器与材料

美国安捷伦 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, Agilent Chemstation 色谱工作站。

熊果酸对照品购自中国食品药品检定研究院, 批号 110742-200314, 供含量测定用, 归一化法计算得其质量分数 > 98%; 其他试剂均为分析纯, 水为纯净水; 乳痛消痛片, 自制, 规格为 0.5 g/片, 批号分别为 20121101、20121102、20121103; 不含

收稿日期: 2013-04-09

*通信作者 马 莉 Tel: 13312116091 E-mail: zhijia504@163.com

夏枯草的阴性样品为自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-2%醋酸水溶液 (90:10); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 210 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取熊果酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.289 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片研细, 取约 2 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加入甲醇 20 mL,

超声处理 30 min, 放冷, 甲醇溶解并加至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取不含夏枯草的阴性样品适量, 照供试品溶液的制备项下方法处理, 即得。

2.3 专属性试验

取熊果酸对照品、乳痛消痛片样品和阴性样品溶液在上述色谱条件下进行测定, 结果熊果酸色谱峰位置处在阴性样品中无相应峰出现, 说明阴性无干扰; 乳痛消痛片样品中熊果酸主峰与其他杂质峰均达到基线分离, 杂质峰对样品峰无影响。见图 1。

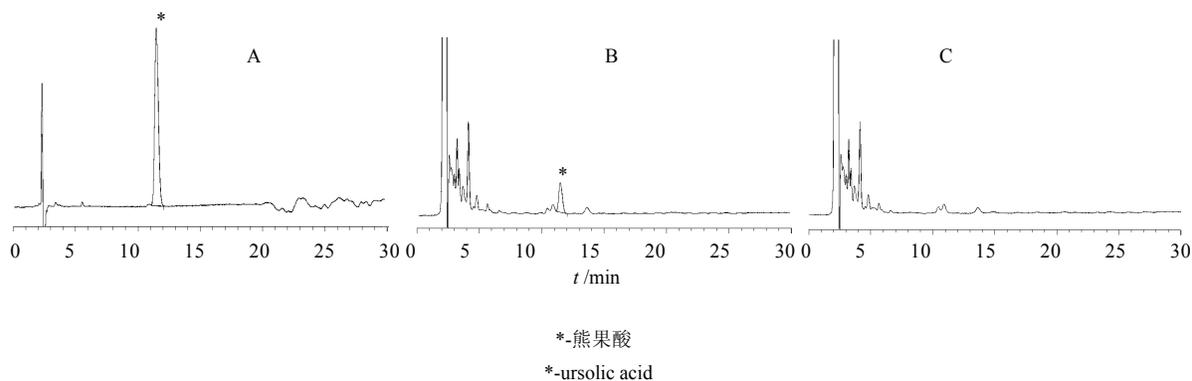


图 1 熊果酸对照品 (A)、乳痛消痛片 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of ursolic acid reference substance (A), Ruyong Xiaotong Tablet (B), and negative sample (C)

2.4 标准曲线的绘制

精密吸取 0.506 mg/mL 熊果酸对照品贮备液 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 mL, 分别用甲醇稀释成 50.6、151.8、253.0、354.2、455.4 μg/mL 的溶液, 分别进样 10 μL, 测定峰面积。以进样质量为横坐标, 峰面积值为纵坐标作图, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=3\ 196.6 X+4.45$, $r=1.000$ 。结果表明, 熊果酸进样量在 0.506~4.554 μg 时与峰面积值的线性关系良好。

2.5 精密度试验

取批号 20121101 乳痛消痛片样品, 制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 连续进样 6 次, 分别测定熊果酸峰面积, 计算得其 RSD 值为 0.67%。

2.6 稳定性试验

取批号 20121101 乳痛消痛片样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 以熊果酸峰面积计算, 得其 RSD 值为 1.23%。表明供试品溶液在室温下放置 24 h 稳定性较好。

2.7 重复性试验

取批号 20121101 乳痛消痛片样品, 精密称取 6 份, 每份 2.0 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录熊果酸峰面积, 计算样品中熊果酸的质量分数, 结果其 RSD 值为 1.09%。

2.8 加样回收率试验

取批号 20121101 乳痛消痛片样品, 精密称取 9 份, 每份 1.0 g, 分别加入 0.506 mg/mL 熊果酸对照品贮备溶液 1.0、1.5、2.0 mL, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算得熊果酸的平均回收率为 99.95%, RSD 值为 0.98% ($n=9$)。

2.9 样品测定

取批号分别为 20121101、20121102、20121103 的 3 批乳痛消痛片, 制备供试品溶液, 依法测定, 外标法计算, 结果样品中熊果酸的质量分数分别为 1.81、1.75、1.85 mg/片 ($n=3$)。

3 讨论

本实验对熊果酸对照品溶液在 200~400 nm 波

长进行扫描。结果显示,熊果酸在 210 nm 处有最大吸收,因此选择 210 nm 为熊果酸的测定波长。

在本实验色谱条件下,熊果酸与其他成分得到了很好的分离,且方法学考察结果良好、方法简便、灵敏度高、准确可靠,可以确定为乳痛消痛片中熊果酸的测定方法,作为质量控制的指标。

参考文献

- [1] 陈象青,刘圣,方焱,等. HPLC 法同时测定屏风扶正颗粒女贞子中齐墩果酸与熊果酸的含量 [J]. 安徽医药, 2009, 13(11): 1345-1347.
- [2] 刘炜,吴义忠. 健胃消食片中熊果酸的含量测定 [J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(1): 5-7.
- [3] 金小平,刘静幽,马丹,等. 五鹤续断中熊果酸的含量测定 [J]. 医药导报, 2010, 29(11): 1481-1483.
- [4] 康绍建,侯安国,沈妍. 傣药肾茶中熊果酸的含量测定 [J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(7): 54-56.
- [5] 危华玲,蒙太平,郭炎荣. 高效液相色谱法测定苦丁茶含片中熊果酸含量 [J]. 中国药业, 2008, 17(3): 14-15.