

HPLC 法测定麻仁软胶囊中 7 种成分

黎 阳¹, 刘素香², 张铁军^{2*}, 陈常青²

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 建立麻仁软胶囊中多组分 HPLC 测定方法, 对 7 种成分进行测定。方法 采用 Diamonsil-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05%磷酸 (75:25), 检测波长 254 nm。结果 和厚朴酚在 78.48~523.20 ng, 厚朴酚在 141.60~944.00 ng, 芦荟大黄素在 43.00~258.00 ng, 大黄酸在 37.80~226.80 ng, 大黄素在 58.00~348.00 ng, 大黄酚在 67.8~406.8 ng, 大黄素甲醚在 48.00~288.00 ng 线性关系良好。结论 该方法准确可靠, 可用于麻仁软胶囊的质量控制。

关键词: 麻仁软胶囊; HPLC; 质量标准; 大黄素; 和厚朴酚

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0890-03

Determination of seven components in Maren Soft Capsula by HPLC

LI Yang¹, LIU Su-xiang², ZHANG Tie-jun², CHEN Chang-qing²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish a method for the quality control standard of Maren Soft Capsula. **Methods** The HPLC method was used with Diamonsil-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), a mixture liquid of methanol-0.05% H₃PO₄ (75:25) as mobile phase, and a detection wavelength 254 nm. **Results** The calibration curves of magnolol, honokiol, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion were linear over the range of 78.48—523.20, 141.60—944.00, 43.00—258.00, 37.80—226.80, 58.00—348.00, 67.8—406.8, and 48.00—288.00 ng, respectively. **Conclusion** This is an accurate and credible quality control method, which is suitable for the quality control of Maren Soft Capsula.

Key words: Maren Soft Capsula; HPLC; quality standard; emodin; magnolol

麻仁软胶囊由火麻仁、苦杏仁、大黄、枳实(炒)、厚朴(姜制)、白芍(炒)组成, 收载于《中华人民共和国卫生部药品标准 新药转正标准》第十八册。具有润肠通便作用^[1-3], 用于肠燥便秘。麻仁软胶囊的现行质量标准是用分光光度法对大黄素进行测定^[4]。另有研究分别对麻仁软胶囊中大黄素和大黄酸进行测定^[5-6], 但测定成分较局限, 不能全面反映复方中药的多成分质量情况。为了更好地控制麻仁软胶囊的质量, 对其质量标准进行提升研究, 本实验对麻仁软胶囊中的 7 种成分进行测定, 为更好控制麻仁软胶囊质量提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (安捷伦公司);

AB204—N 电子天平 (Mettler Toledo); AS3120 超声仪 (Autoscience)。

芦荟大黄素 (批号 110795-200605)、大黄酸 (批号 110757-200206)、大黄素 (批号 110756-200110)、大黄酚 (批号 110796-200716)、厚朴酚 (批号 110729-200310)、和厚朴酚 (批号 110730-200609) 对照品均购自中国药品生物制品检定所; 大黄素甲醚实验室自制, 质量分数≥98%。甲醇为色谱纯, 磷酸、乙醇均为分析纯, 水为天磁纯净水。

麻仁软胶囊 10 批 (0.6 g/粒), 由天津中央药业有限公司提供, 批号分别为: 071121、080512、081101、090202、090301、090404、090705、090801、090802、090804。

收稿日期: 2010-09-01

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAI06A01-02); 天津市科技创新专项——麻仁软胶囊大品种系统开发

作者简介: 黎 阳 (1984—), 女, 天津中医药大学研究生。Tel: (022)23006848 E-mail: carol.jane@163.com

*通讯作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiejunzh2000@yahoo.com.cn

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Diamonsil-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05%磷酸水溶液 (75:25), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备

分别称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 精密称定, 配制成质量浓度分别为 43.00、37.80、58.00、67.80、48.00 μg/mL 的混合对照品甲醇溶液, 摇匀, 作为储备液 A。精密量取储备液 A 3 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 A 对照品溶液。分别称取厚朴酚、和厚朴酚对照品适量, 精密称定, 配制成质量浓度分别为 65.40、118.00 μg/mL 的混合对照品甲醇溶液, 摇匀, 作为储备液 B。精密量取储备液 B 4 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 B 对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取麻仁软胶囊 10 粒, 将其内容物混匀, 取约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 2.5 h, 放冷, 称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL 置烧瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 加三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并加入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并提取液, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察

分别精密量取储备液 A 0.5、1.0、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0 mL 至 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各进样 10 μL, 测定, 记录峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程: 芦荟大黄素 $Y=4\,482.7X-17.678$, $r=0.999\,9$; 大黄酸 $Y=4\,166.5X-17.359$, $r=0.999\,9$; 大黄素 $Y=3\,737.7X-22.387$, $r=0.999\,9$; 大黄酚 $Y=5\,334.9X-36.689$, $r=0.999\,9$; 大黄素甲醚 $Y=3\,073.6X-4.7214$, $r=0.999\,7$; 表明芦荟大黄素在 43.00~258.00 ng, 大黄酸在 37.80~226.80 ng, 大黄素在 58.00~348.00 ng, 大黄酚在 67.80~406.80 ng, 大黄

素甲醚在 48.00~288.00 ng 线性关系良好。

分别精密量取储备液 B 0.6、1.0、1.7、2.0、3.2、3.6、4.0 mL 置 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经微孔滤膜滤过, 取续滤液进样, 各进样 10 μL, 测定, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标进行线性回归, 得回归方程: 和厚朴酚 $Y=2\,846X-9.596$, $r=0.999\,8$; 厚朴酚 $Y=1\,443.3X-10.27$, $r=0.999\,8$ 。表明和厚朴酚在 78.48~523.20 ng, 厚朴酚在 141.60~944.00 ng 线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取批号 090801 的供试品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪, 连续进样 6 次, 测定, 计算得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 分别为 0.24%、0.88%、1.00%、0.54%、1.27%、0.77%、0.74%。

2.6 稳定性试验

分别在 0、2、4、6、12 h 精密吸取批号 090801 的供试品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪, 测定, 计算得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 分别为 1.03%、1.70%、1.65%、1.18%、1.87%、1.47%、2.00%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验

取批号 090801 的样品 6 份, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、厚朴酚、和厚朴酚质量分数的 RSD 分别为 1.59%、1.85%、1.24%、1.14%、1.26%、1.77%、1.76%。

2.8 加样回收率试验

取批号 090801 样品的混合均匀的内容物 9 份, 每份约 0.1 g, 精密称定, 分别精密加入一定量的对照品, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、厚朴酚、和厚朴酚的平均回收率分别为 98.12%、100.61%、102.07%、99.31%、97.82%、95.32%、99.89%, RSD 分别为 1.34%、2.72%、2.48%、2.64%、2.12%、0.34%、1.71%。

2.9 样品测定

取 10 批麻仁软胶囊制备供试品溶液, 进样测定, 外标法计算各成分的量。色谱图见图 1, 结果见表 1。

3 讨论

中药是一个由多组分、多因素构成的复杂体系,

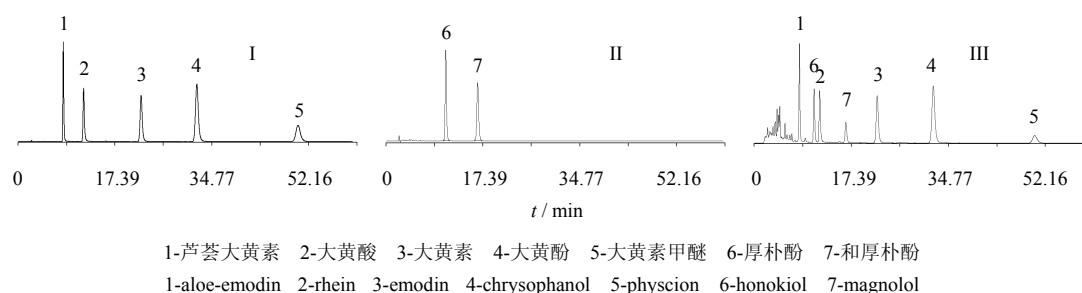


图 1 A 对照品 (I)、B 对照品 (II) 和样品 (III) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance A (I), B (II), and sample (III)

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination of samples

批 号	芦荟大黄素/ (mg·粒 ⁻¹)	大黄酸/ (mg·粒 ⁻¹)	大黄素/ (mg·粒 ⁻¹)	大黄酚/ (mg·粒 ⁻¹)	大黄素甲醚/ (mg·粒 ⁻¹)	和厚朴酚/ (mg·粒 ⁻¹)	厚朴酚/ (mg·粒 ⁻¹)
071121	0.94	0.88	1.25	1.41	0.42	1.41	1.59
080512	0.57	0.71	0.87	0.70	0.21	0.87	0.98
081101	1.10	0.87	1.28	1.95	0.72	0.81	1.20
090202	1.52	1.21	1.70	2.27	0.85	0.98	1.30
090301	1.19	1.07	1.44	1.88	0.74	1.12	1.17
090404	1.16	1.00	1.52	1.64	0.56	1.24	1.38
090705	1.06	0.97	1.36	1.58	0.47	1.45	1.60
090801	1.11	0.88	1.44	1.65	0.60	1.06	1.10
090802	1.18	1.00	1.43	1.87	0.56	1.03	1.06
090804	1.15	0.96	1.46	1.73	0.53	1.08	1.07

其化学成分的多多样性与复杂性是其疗效的物质基础^[7]。因此建立符合中药特点的质量评价体系很有必要。本实验建立了麻仁软胶囊中多组分 HPLC 测定方法,同时测定了 7 个主要化学成分,并对 10 批样品进行了测定。结果稳定、准确可靠,此方法可用于麻仁软胶囊的质量控制。

通过对 7 个对照品进行紫外光区全波长扫描,发现 254 nm 为芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、和厚朴酚最大吸收波长;294 nm 为厚朴酚最大吸收波长,其在 254 nm 下也有较大吸收;因此,检测波长定为 254 nm。

在流动相的选择上,考察了甲醇、乙腈以及不同酸度的水溶液,考虑到峰形、成本、对柱效影响等因素,最后选择甲醇-0.05%磷酸水溶液。采用甲醇-0.05%磷酸水溶液(85:15)的流动相时,虽然检测时间较短,但和厚朴酚与大黄酸分离度较差;

因此,更改其比例为 75:25,和厚朴酚与大黄酸可达到基线分离。采取梯度洗脱的方法时,发现基线不平稳,影响方法学考察结果,故本实验未采用。

参考文献

- [1] 吴 怡,宋风武,张志奇,等.麻仁软胶囊药理和临床研究进展 [J]. 中草药,2010,41(9): 1575-1577.
- [2] 刘贵生.麻仁软胶囊与液体石蜡在肛门手术后临床应用对比研究 [J]. 中草药,2009,40(11): 1791-1792.
- [3] 杨 巍,郑 德,陆 宏.混合痔切除术后服用麻仁软胶囊的临床观察 [J]. 中草药,2009,40(5): 781-782.
- [4] 中华人民共和国卫生部药品标准 新药转正标准 [S]. 1996.
- [5] 付玉梅,吴 波. HPLC 法测定麻仁软胶囊中大黄素的含量 [J]. 湖北中医杂志,2002,24(8): 51.
- [6] 杨桂芝,潘 英,王 津,等.麻仁丸软胶囊中大黄酸含量测定方法的改进 [J]. 天津药学,1997,9(3): 60-62.
- [7] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药,2011,42(1): 1-9.