

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.14.003

高效液相色谱法测定胃痛舒片中厚朴酚与和厚朴酚含量

张火旺, 黄潇潇, 邓淑芳

(广东省河源市药品检验所, 广东 河源 517000)

摘要:目的 建立测定胃痛舒片中厚朴酚与和厚朴酚含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 采用 InertSustain C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(78:22), 检测波长为 294 nm, 流速为 1.0 mL/min。结果 厚朴酚及和厚朴酚进样量分别在 0.032 19~0.402 4 μg 和 0.035 00~0.437 6 μg 范围内与峰面积线性关系良好, 平均回收率分别为 98.94% 和 98.58%, RSD 分别为 0.89% 和 0.74% (n=6)。结论 该方法简便、重复性好、准确, 可作为胃痛舒片质量的控制方法。

关键词:胃痛舒片; 厚朴酚; 和厚朴酚; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2; R975+.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)14-0006-03

Content Determination of Magnolol and Honokiol in Weitongshu Tablets by HPLC

Zhang Huowang, Huang Xiaoxiao, Deng Shufang

(Heyuan Institute for Drug Control, Heyuan, Guangdong, China 517000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the content determination of magnolol and honokiol in Weitongshu Tablets.

Methods The InertSustain C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted. The mobile phase was methanol-water(78:22), the

第一作者: 张火旺(1974-), 男, 副主任药师, 研究方向为药品检验及质量标准, (电话)0762-3220381(电子信箱)zhw1011@163.com。

据报道, 茶碱血药浓度检测使用的波长有 273, 254, 210 nm 等, 其中以 270 nm 左右居多^[3-5]。对不同波长分别进行比较, 发现波长为 270 nm 时其他组分对茶碱的干扰较小, 色谱响应较强, 灵敏度高。

用 5% 高氯酸、乙腈和甲醇分别作为血清蛋白沉淀剂进行试验, 结果单纯使用 5% 高氯酸沉淀时色谱图中段有馒头样峰出现, 且基线不稳定; 选用乙腈、甲醇时回收率达不到要求; 最终采用 5% 高氯酸和甲醇联合作为沉淀剂时回收率达标、基线稳定。5% 高氯酸的用量参照文献使用标本量的 80%^[6]。

血药浓度测定因前处理步骤烦琐, 需用内标法校正, 但也有文献提出内标法需要加入其他物质作为内标, 增加操作步骤而增加了操作误差, 因此内标法未必能明显改善血药浓度检测方法的精密性^[7]。本研究建立的外标法与文献报道的内标法^[3]的测定结果均接近理论值, 且无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明两种测定方法可互相替代。本研究中使用外标法进行过诸多药物血药浓度的研究, 结果均较满意^[8-10]。

有文献报道, HPLC 法测定茶碱血药浓度时选择的流动相有 0.03 mol/L 磷酸盐-乙腈-水^[4]、甲醇-0.05 mol/L 硫酸锂^[11]、甲醇-水-0.1% 三氟乙酸^[12]等。本研究中采用甲醇和水为流动相, 不需使用其他盐和酸, 故成本较低、操作简单, 为较理想的检测方法。

参考文献:

- [1] 李金恒. 临床治疗药物监测的方法和应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 51-70.
- [2] 黄浩. HPLC 法测定卡马西平血药浓度[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(20): 55.
- [3] 陈东, 付成效. RP-HPLC 法测定人血清中茶碱浓度的改进[J]. 中南医学科学杂志, 2011, 39(1): 111-113.
- [4] 孙宝清, 莫红樱, 邱志辉, 等. 高效液相色谱法和荧光偏振免疫法测定茶碱血药浓度方法的比较[J]. 广州医药, 1997, 28(1): 10-11.
- [5] 张相彩, 徐颖颖. 高效液相色谱法同时测定苯巴比妥、苯妥英、卡马西平、茶碱的血药浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(11): 1096-1097.
- [6] 王立, 汪正范. 色谱分析样品处理[M]. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 2008: 193.
- [7] 马虹英, 李新中. 气相色谱法测定血浆中丙戊酸浓度的方法改进[J]. 中国药房, 2002, 13(9): 544-545.
- [8] 刘光斌, 姜芳宁, 高颖. HPLC 法测定卡马西平血药浓度[J]. 中国药事, 2012, 26(9): 991-993.
- [9] 刘光斌, 姜芳宁, 高颖. 高效液相色谱外标法快速测定苯巴比妥血药浓度[J]. 中国医院用药评价与分析, 2012, 12(9): 811-813.
- [10] 邹干朋, 刘光斌, 高颖, 等. HPLC 外标法快速测定苯妥英血药浓度[J]. 海峡药学, 2015, 27(11): 256-258.
- [11] 黄健, 张明雄, 戴志凌, 等. 反相高效液相色谱法测定茶碱的血药浓度[J]. 中国药业, 2003, 12(12): 70-71.
- [12] 黄晗, 吴素玲, 宋继军. 高效液相色谱法测定血浆茶碱浓度及其应用[J]. 内蒙古中医药, 2013, 32(3): 145-146.

(收稿日期: 2017-12-28)

detection wavelength was 294 nm, and the flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The linear ranges magnolol and honokiol were 0.032 19–0.402 4 μg and 0.035 00–0.437 6 μg , respectively, the average recoveries were 98.94% and 98.58%, the RSDs were 0.89% and 0.74% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, reproducible and accurate, which can be used for the quality control of Weitongshu Tablets.

Key words: Weitongshu Tablets; magnolol; honokiol; HPLC; content determination

胃痛舒片收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第十四册)》^[1],由猪胃黏膜、厚朴、海螵蛸、甘草、颠茄(浸膏)5味中药组方,具有健脾和胃、理气止痛功效,用于脾胃虚弱引起的胃皖胀痛、嘈杂吞酸、消化性溃疡和慢性胃炎等症。厚朴作为主成分,对腹胀、便秘、食积、气滞具有很好疗效。目前,未对该制剂中的特定药材进行专属性成分含量测定。本研究选取厚朴中的厚朴酚与和厚朴酚作为指标性成分,采用高效液相色谱法测定胃痛舒片中厚朴酚与和厚朴酚的含量,为质量标准的建立和完善提供参考,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司); CPA225D型电子分析天平(德国赛多利斯公司); KQ-250DA型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

甲醇(色谱纯, TEDIA), 水为超纯水; 厚朴酚对照品(批号为110729-201513, 供含量测定用), 和厚朴酚对照品(批号为110730-20161, 供含量测定用), 均由中国食品药品检定研究院提供; 胃痛舒片(批号分别为160503, 160401, 160101, 河北金兴制药厂, 依次编号为1, 2, 3)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: InertSustain C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(78:22); 检测波长: 294 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL ; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。以峰面积外标法定量^[2]。

2.2 溶液制备

对照品溶液: 称取厚朴酚对照品 10.06 mg, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解至刻度, 作为厚朴酚对照品贮备液。称取和厚朴酚对照品 10.94 mg, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解至刻度, 作为和厚朴酚对照品贮备液。再精密量取厚朴酚对照品贮备液与和厚朴酚对照品贮备液各 2.00 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解至刻度, 各用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

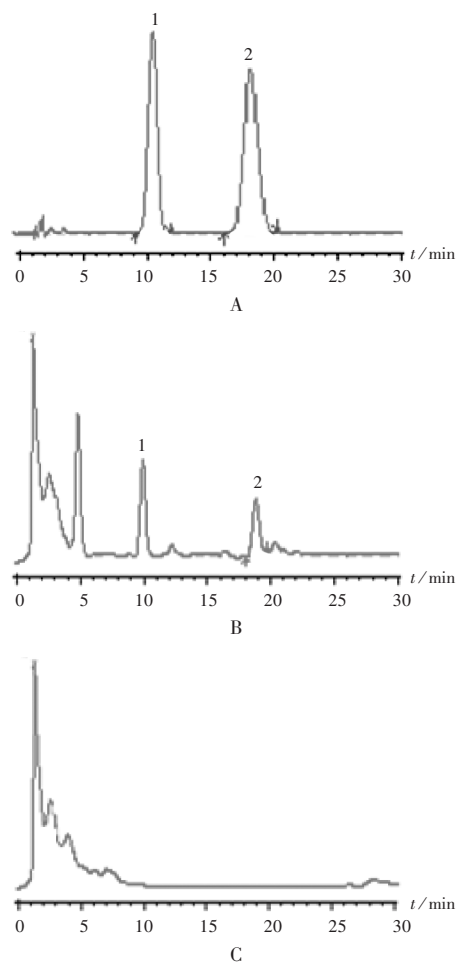
供试品溶液: 取本品 20 片, 去糖衣, 研细, 精密称取

1.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密量取 25.00 mL 甲醇溶液, 密塞, 称定质量, 超声处理(16 kHz, 296 W) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

阴性对照品溶液: 按其质量标准中处方比例, 同法制备不含厚朴的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验: 按 2.1 项下色谱条件, 精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液, 分别注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见图 1。可见, 厚朴酚与和厚朴酚分离好, 阴性无干扰。



1. 和厚朴酚 2. 厚朴酚
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图1 高效液相色谱图

线性关系考察:分别精密量取对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 25 μL , 按 2.1 项下色谱条件分别进样, 测定峰面积, 以峰面积(A)为纵坐标、厚朴酚与和厚朴酚对照品进样量(C)为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程, 厚朴酚为 $A = 1\,410\,362.384\,6C - 1\,677.166\,6$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$); 和厚朴酚为 $A = 1\,399\,145.802\,0C + 686.714\,7$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$)。结果表明, 厚朴酚与和厚朴酚进样量分别在 0.032 19 ~ 0.402 4 μg 和 0.035 00 ~ 0.437 6 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取同一混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 进样量为 20 μL , 测定峰面积。结果的 RSD 分别为 0.90% 和 0.80% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批样品, 精密称取 6 份, 按样品测定方法平行测定两组分的含量。结果厚朴酚与和厚朴酚的 RSD 分别为 1.21% 和 1.14% ($n = 6$), 表明方法

重复性良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液, 每隔 2 h 测定 1 次, 连续测定 6 次。结果厚朴酚与和厚朴酚含量的 RSD 分别为 1.15% 和 1.09% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

加样回收试验:精密称取已知含量的样品(批号为 160503, 平均每片质量为 0.312 5 g, 厚朴酚含量为每片 0.080 2 mg, 和厚朴酚含量为每片 0.083 1 mg)适量, 共 6 份, 分别精密加入混合对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0 mL (分别精密量取厚朴酚贮备液与和厚朴酚贮备液各 3.00 mL 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解至刻度, 作为混合对照品溶液, 厚朴酚质量浓度为 0.060 36 mg/mL, 和厚朴酚质量浓度为 0.065 64 mg/mL), 按供试品溶液制备方法制备。按 2.1 项下色谱条件分别进样, 记录色谱图, 计算厚朴酚与和厚朴酚的回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.504 2	0.504 2	0.134 1	0.129 4	0.196 9	0.181 1	0.330 9	0.309 2	99.95	99.28				
0.504 6	0.504 6	0.134 1	0.129 5	0.196 9	0.181 1	0.330 1	0.310 1	99.54	99.72				
0.507 4	0.507 4	0.134 9	0.130 2	0.131 3	0.120 7	0.265 8	0.150 8	99.70	98.09				
0.510 5	0.510 5	0.135 7	0.131 0	0.131 3	0.120 7	0.264 5	0.248 6	98.10	98.01	98.94	98.58	0.89	0.74
0.506 5	0.506 5	0.134 7	0.130 0	0.065 6	0.060 4	0.199 1	0.189 3	98.17	98.18				
0.506 2	0.506 2	0.134 6	0.129 9	0.065 6	0.060 4	0.199 0	0.189 2	98.17	98.18				

注: A 为厚朴酚, B 为和厚朴酚。

2.4 样品含量测定

取 3 批样品, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样, 记录峰面积, 按外标法计算含量。结果见表 2。根据 3 批样品所测结果, 暂订每片胃痛舒片中厚朴酚与和厚朴酚定量限均为 0.05 mg。

表 2 样品含量测定结果(mg/片, $n = 3$)

样品编号	厚朴酚	和厚朴酚
1	0.080 2	0.083 1
2	0.075 3	0.077 4
3	0.076 1	0.078 2

3 讨论

根据 2015 年版《中国药典(一部)》厚朴药材所载方法^[3-10], 采用甲醇超声提取, 发现 30 min 内各成分提取量随提取时间的增加而增加, 30 min 后无明显变化。故确定以甲醇为流动相超声提取, 提取时间为 30 min。本研究中方法操作简便, 专属性强, 重复性好, 对于提高胃痛舒片的质量标准有积极意义。

参考文献:

[1] WS₃-B-2741-97, 卫生部药品标准·中药成方制剂(第 14 册)[S].

- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 通则 0512.
- [3] 谭生建, 胡文祥, 康世银, 等. 反相高效液相色谱法测定平胃丸中厚朴酚及和厚朴酚含量[J]. 中国药业, 2000, 9(3): 37-38.
- [4] 杨晓云, 吴爱英, 曹志胜, 等. HPLC 法测定木香顺气丸中厚朴酚与和厚朴酚的含量[J]. 中国药业, 2000, 9(10): 64.
- [5] 姜雪敏, 王云龙, 杨立志, 等. 高效液相色谱法测定调胃丹中厚朴酚、和厚朴酚含量[J]. 中国药业, 2011, 20(24): 37-38.
- [6] 杨晓云, 吴爱英, 曹志胜, 等. HPLC 法测定木香顺气丸中厚朴酚与和厚朴酚的含量[J]. 中国药业, 2000, 9(10): 10-20.
- [7] 马俊, 冯端浩, 曹红. 舒肝平胃丸中厚朴酚与和厚朴酚的含量测定[J]. 中国药业, 2010, 19(21): 22-23.
- [8] 许景景, 吴纤悛. 高效液相色谱法测定吐泻肚痛胶囊中厚朴酚与和厚朴酚含量[J]. 中国药业, 2010, 19(21): 36.
- [9] 张柳, 罗干明, 霍永昌. 高效液相色谱法测定保济丸中厚朴酚与和厚朴酚的含量[J]. 中国药业, 2003, 12(10): 37-38.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 251.

(收稿日期: 2017-12-28)