

# HPLC法同时测定腹痛酊中儿茶素和表儿茶素的含量

林 景\*(海南省皮肤病医院,海口 570206)

中图分类号 R283.662;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3323-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.19

**摘要** 目的:建立同时测定腹痛酊中儿茶素和表儿茶素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为0.04 mol/L 枸橼酸溶液-N,N-二甲基甲酰胺-四氢呋喃(45:8:2, V/V/V),检测波长为280 nm,柱温为30 ℃,流速为1.0 ml/min。结果:儿茶素和表儿茶素的质量浓度分别在0.008~7.800、0.006~5.200 mg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(*r*均为0.999 9);精密性、重复性、稳定性试验的RSD均<2%;平均加样回收率分别为99.11%和99.26%,RSD分别为1.04%和0.88%(*n*均为6)。结论:该方法准确、重复性好、灵敏度高,可用于腹痛酊的质量控制。

**关键词** 腹痛酊;儿茶素;表儿茶素;高效液相色谱法;含量测定

## Simultaneous Determination of Catechin and Epicatechin in Futong Tincture by HPLC

LIN Jing(Hainan Provincial Hospital of Skin Disease, Haikou 570206, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of catechin and epicatechin in Futong tincture. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of 0.04 mol/L methamo-N,N-dimethylformamide-tetrahydrofuran(45:8:2, V/V) at the flow of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 280 nm, and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear ranges were 0.008-7.800 mg/ml for catechin and 0.006-5.200 mg/ml for epicatechin(*r*=0.999 9). RSDs of precision, repeatability and stability tests were all lower than 2%. The average recoveries of catechin and epicatechin were 99.11% (RSD=1.04%, *n*=6) and 99.26% (RSD=0.88%, *n*=6), respectively. CONCLUSIONS: The method is accurate, repeatable and sensitive, which can be used for the quality control of Futong tincture.

**KEY WORDS** Futong tincture; Catechin; Epicatechin; HPLC; Content determination

腹痛酊是由儿茶酊、辣椒酊、蟾酥酊、薄荷油四味制成的中药复合制剂,用于治疗胃痛、腹痛、恶心腹胀、呕吐泄泻、急性胃肠炎、胃痉挛等症<sup>[1-2]</sup>。儿茶酊是其中的主药之一,其药效成分有儿茶素和表儿茶素。腹痛酊现行质量标准中暂未收载含量测定项目,为了更好地控制本制剂的质量,确保临床疗效,笔者参考相关文献<sup>[3-7]</sup>,采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中儿茶素和表儿茶素的含量进行了测定。

## 1 材料

### 1.1 仪器

P680A型HPLC仪(美国戴安公司);UV-2450型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);AS 256-S型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 药品与试剂

腹痛酊(本院自制,批号:120801、120803、120805,规格:100 ml/瓶);儿茶素、表儿茶素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为877-201001、110878-201002,纯度均为100%);四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺(色谱纯,美国TEDIA公司);枸橼酸(分析纯,广州化学试剂厂);水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[8-11]</sup>

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.04 mol/L 枸橼酸溶液-N,N-二甲基甲酰胺-四氢呋喃(45:8:

2, V/V/V);检测波长:280 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备<sup>[12]</sup>

2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称取儿茶素对照品15.0 mg和表儿茶素对照品10.0 mg,置于同一20 ml量瓶中,加甲醇-水(1:1, V/V)溶解并稀释至刻度,制成每1 ml含儿茶素0.75 mg和表儿茶素0.50 mg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品10 ml,置于20 ml量瓶中,加甲醇-水(1:1, V/V)溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方工艺制备不含儿茶酊的阴性样品,精密量取10 ml,按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

分别取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样检测。结果发现,阴性对照溶液在对照品峰相应保留时间处没有色谱峰出现,说明辅料不会干扰儿茶素和表儿茶素的含量测定。色谱见图1。

### 2.4 标准曲线的制备

精密称取儿茶素和表儿茶素对照品各适量,加甲醇-水(1:1, V/V)溶解并稀释制成儿茶素质量浓度分别为0.008、0.032、0.128、0.512、2.048、7.800 mg/ml和表儿茶素质量浓度分别为0.006、0.024、0.096、0.384、1.536、5.200 mg/ml的系列混合对照品溶液。分别精密吸取20 μl注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积。以对照品质量浓度(*x*, μg/ml)为横

\* 主管药师。研究方向:医院制剂。电话:0898-66744041。  
E-mail:13876300091@163.com

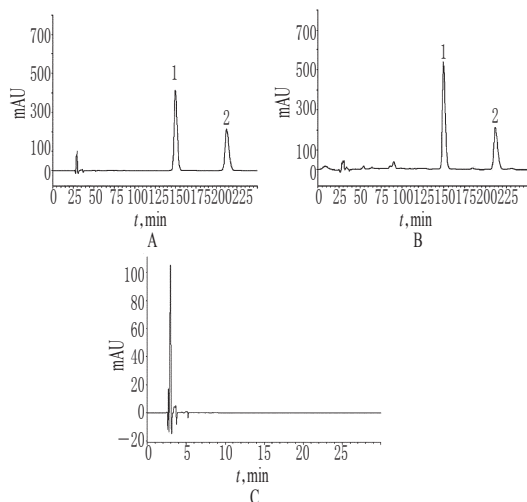


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.儿茶素;2.表儿茶素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.test samples;B.mixed control;C.negative control;1.catechin;2.epicatechin

坐标,峰面积积分值( $y$ )为纵坐标,绘制标准曲线,得儿茶素的回归方程为 $y=13\ 152.182\ 7x+108.265\ 7(r=0.999\ 9,n=6)$ ;表儿茶素的回归方程为 $y=13\ 658.059\ 6x+4.009\ 6(r=0.999\ 9,n=6)$ 。结果表明,儿茶素和表儿茶素的质量浓度分别在 $0.008\sim 7.800$ 、 $0.006\sim 5.200$  mg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

取同一混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件重复进样测定6次,每次 $20\ \mu\text{l}$ ,记录峰面积。结果显示,儿茶素、表儿茶素的RSD分别为1.14%和0.88%( $n$ 均为6),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液 $20\ \mu\text{l}$ ,分别于0、1、2、6、12、24 h按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,儿茶素和表儿茶素的RSD分别为1.06%和1.24%( $n$ 均为6),表明供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.7 重复性试验

取同一批样品 $20\ \mu\text{l}$ ,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,儿茶素和表儿茶素的RSD分别为0.96%和1.04%( $n$ 均为6),表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密吸取已知含量的同一批样品(批号:120803)10 ml,置于 $20\ \text{ml}$ 量瓶中,共9份,分别精密加入一定量的儿茶素对照品和表儿茶素对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果分别见表1、表2。

### 2.9 样品含量测定

分别取3批镇痛酊各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中儿茶素和表儿茶素的含量,结果见表3。

## 3 讨论

笔者曾采用乙腈-0.2%磷酸溶液(10:90,  $V/V$ )、甲醇-水

表1 儿茶素的加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests of catechin ( $n=9$ )

样品号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
1	1.702 3	1.647 2	3.328 8	98.74		
2	1.702 3	1.647 2	3.340 7	99.47		
3	1.702 3	1.647 2	3.327 4	98.66		
4	1.702 3	1.647 2	3.354 2	100.29		
5	1.702 3	1.647 2	3.326 7	98.62	99.11	1.04
6	1.702 3	1.647 2	3.340 5	99.45		
7	1.702 3	1.647 2	3.360 6	100.67		
8	1.702 3	1.647 2	3.332 6	98.97		
9	1.702 3	1.647 2	3.302 7	97.16		

表2 表儿茶素的加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of recovery tests of epicatechin ( $n=9$ )

样品号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
1	0.593 4	0.604 1	1.187 9	98.41		
2	0.593 4	0.604 1	1.190 6	98.86		
3	0.593 4	0.604 1	1.195 8	99.72		
4	0.593 4	0.604 1	1.201 5	100.66		
5	0.593 4	0.604 1	1.189 9	98.74	99.26	0.88
6	0.593 4	0.604 1	1.199 5	100.33		
7	0.593 4	0.604 1	1.186 5	98.18		
8	0.593 4	0.604 1	1.195 6	99.69		
9	0.593 4	0.604 1	1.189 8	98.73		

表3 样品含量测定结果(mg/ml,  $n=3$ )

Tab 3 Results of content determination of samples (mg/ml,  $n=3$ )

批号	儿茶素	表儿茶素	总含量
120801	2.27	1.15	3.42
120803	2.11	1.18	3.29
120805	2.20	1.23	3.43

(28:72,  $V/V$ ,冰醋酸调pH值至3.0)等作为流动相,但分离效果均不佳,最终以 $0.04\ \text{mol/L}$ 枸橼酸溶液- $N,N$ -二甲基甲酰胺-四氢呋喃(45:8:2,  $V/V/V$ )为流动相,色谱峰可得到良好分离。

儿茶素和表儿茶素同为黄酮类化合物,其母核上均连有5个酚羟基,在水和强极性溶剂中溶解度很好,故采用水或强极性溶剂进行提取。预试验中,笔者曾采用水、甲醇、甲醇-水(1:1,  $V/V$ )作为提取溶剂,结果表明采用甲醇-水(1:1,  $V/V$ )作为溶剂的提取效果最佳。

综上,本方法准确、重复性好、灵敏度高,可用于镇痛酊的质量控制。

## 参考文献

- [1] 魏春芳,陈金泉,李强. HPLC法测定镇痛水中的儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 中国药事, 2007, 21(7): 497.
- [2] 辛华雯,史霄燕,曾繁典,等. 聚酯型儿茶素的抗肿瘤及免疫调节作用[J]. 中国药房, 2001, 12(4): 204.
- [3] 唐丽琴,张善堂,刘圣,等. HPLC法测定制痲酊中儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 中国药师, 2009, 12(6): 754.
- [4] 刘刚,谭生建,姜韧,等. 高效液相色谱法测定茶黄酊中儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 解放军药学学报, 2008, 24(4): 363.
- [5] 雷玉萍,殷帅.RP-HPLC法同时测定溃疡灵片中儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 中医药导报, 2008, 14(6): 108.
- [6] 钟世红,何宇新,李羿. 高效液相色谱法测定黏膜溃疡含片中儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 时珍国医国药, 2007,

# 消脂通脉颗粒的质量标准研究

马秋菊\*, 孙萍(山东中医药大学附属医院, 济南 250012)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3325-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.20

**摘要** 目的:建立消脂通脉颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的半夏、大黄、白术、莪术;以高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量;色谱柱为YWG-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-6.15%醋酸溶液(29:71, V/V),检测波长为283 nm。结果:半夏、大黄、白术、莪术均可在TLC图中检出,阴性对照无干扰。橙皮苷的进样量在0.466~2.796 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ );平均加样回收率为99.47%,RSD=0.99%( $n=6$ )。结论:所建立的定性鉴别方法专属性强、重复性好,定量方法简便、准确、可靠,可用于消脂通脉颗粒的质量控制。

**关键词** 消脂通脉颗粒;质量标准;橙皮苷;薄层色谱法;高效液相色谱法;半夏;大黄;炒白术;莪术

## Study on Quality Standard for Xiaozhi Tongmai Granule

MA Qiu-ju, SUN Ping (The Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250012, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard of Xiaozhi tongmai granule. METHODS: *Pinellia ternata*, *Rhei Radix et Rhizoma*, *Atractylodes macrocephala* and *Curcumae Rhizoma* were identified by TLC qualitatively. The content of hesperidi was determined by HPLC. The separation was performed on YWG-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of methanol-6.15% acetic acid(29:71, V/V). The detection wavelength was 283 nm. RESULTS: *P. ternata*, *Rhei Radix et Rhizoma*, *A. macrocephala* and *Curcumae Rhizoma* could be identified by TLC without interference from negative control. The linear range of hesperidi were 0.466-2.796 μg ( $r=0.999\ 9$ ) with average recovery of 99.47% (RSD=0.99%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The qualitative identification is specific and reproducible, and quantitative method is simple, accurate and reliable, which can be used for the quality control of Xiaozhi tongmai granule.

**KEY WORDS** Xiaozhi tongmai granule; Quality standard; Hesperidi; TLC; HPLC; *Pinellia ternata*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Atractylodes macrocephala*; *Curcumae Rhizoma*

消脂通脉颗粒是根据山东中医药大学郭伟星教授采用祛痰化痰法治疗高脂血症的代表方所研制的颗粒剂,在临床应用中取得了较好的疗效。该处方由半夏、陈皮、泽泻、大黄、莪术、威灵仙、炒白术等8味中药组成。为了更好地控制该制剂质量,保证临床用药的安全、有效,笔者对其进行了质量标准研究,采用薄层色谱(TLC)法对方中半夏、大黄、白术、莪术进行了定性鉴别,并以高效液相色谱(HPLC)法测定陈皮中橙皮苷的含量。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-10AT<sub>VP</sub>型HPLC仪,含SPD-10A<sub>VP</sub>型检测器、N-2000型

双通道色谱工作站(日本岛津公司);电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];ZF-2型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂);5200H型超声波提取器(上海科导超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

消脂通脉颗粒(批号:100715、100811、100920、110113、110221)及各缺味阴性样品由山东中医药大学附属医院自制;橙皮苷、大黄素对照品与大黄、白术、莪术、半夏对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为110721-200211、110756-200310、120902-200408、120925-200206、121304-200303、121272-200401);硅胶H(青岛麦克硅胶干燥剂有限公司,批号:

- 18(6):1 421.
- [7] 王淑敏,李慧琳,刘志强,等.儿茶药材中儿茶素和表儿茶素的高效液相色谱法分析研究[J].时珍国医国药,2006,17(4):490.
- [8] 陈焯,周云鹏,徐利峰,等.HPLC法同时测定忒原胶囊中儿茶素和表儿茶素的含量[J].辽宁大学学报:自然科学版,2008,35(3):267.

- [9] 颜学伟.高效液相色谱法测定万应锭中儿茶素和表儿茶素含量[J].中国中医急症,2005,14(11):1 089.
- [10] 路飏,彭咏梅.HPLC法测定心脑健滴丸中儿茶素和表儿茶素的含量[J].湖南中医杂志,2007,23(1):78.
- [11] 康建斌.高效液相色谱法测定儿茶胶囊中儿茶素和表儿茶素的含量[J].吉林中医药,2009,29(1):80.
- [12] 洪建文,叶曼红,贾宜军.HPLC法测定腹痛水中儿茶的含量[J].中药材,2007,30(9):1 171.

\* 副主任药师,硕士。研究方向:中药制剂。电话:0531-68617403。E-mail:mqj1966@163.com

(收稿日期:2013-06-15 修回日期:2013-07-23)