

图 3 18 例健康志愿者口服 2 种制剂后的平均血药浓度-时间曲线

Fig 3 Mean drug plasma concentration-time profile of roxithromycin in 18 healthy volunteers after oral administration of roxithromycin capsules (test and reference)

2 种制剂的主要药动学参数  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  经对数转换后进行方差分析及双单侧检验, 并计算 90% 置信区间, 表明 2 种制剂生物等效, 受试制剂相对生物利用度为  $(100.655 \pm 9.552)\%$  ( $P=0.5\%$ )。

### 3 讨论

采用 LC-MS/MS 测定血浆中罗红霉素的含量, 样品用乙腈沉淀后进样测定, 操作简单, 可

靠, 可完全满足其制剂生物等效性研究的需要。相对于微生物法、HPLC-UV 和 HPLC-EC, 采用质谱检测器方法灵敏度和专属性更好, 而相对于 LC/MS(SIM), SRM 由于采用了两级过滤策略, 有效降低了背景噪声以及干扰, 进一步提高了方法的灵敏度和专属性。

### REFERENCES

- [1] YU J C, ZHANG J, CAO Y J, et al. The pharmacokinetics and relative bioavailability of domestic roxithromycin [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2001, 10(9): 685-688.
- [2] FENG P, QIN Y P, YU R J, et al. Relative bioavailability study in human of roxithromycin dispersed tablet versus roxithromycin tablet [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2000, 25(3): 207-209.
- [3] TIAN L, ZHONG D F. Determination of roxithromycin in human plasma using highperformance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 1999, 34(7): 480-483.
- [4] ZHU Y B, XIAO D W, ZOU J J, et al. Study on bioequivalibility in human body between domestic and imported roxithromycin [J]. China Pharm(中国药房), 2005, 16(16): 1245-1247.

收稿日期: 2012-02-02

## HPLC 测定红曲黄酮片中总蒽醌的含量

李樱红<sup>1</sup>, 汪瑾<sup>2</sup>, 胡磊<sup>1</sup>, 熊英<sup>2</sup>, 罗金文<sup>1\*</sup> (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004; 2.浙江杭州鑫富药业股份有限公司, 杭州 311300)

**摘要:** 目的 建立高效液相色谱法测定红曲黄酮片中总蒽醌的含量。方法 以 Waters Sunfire C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 甲醇-乙腈-0.1%磷酸(25:40:35)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 检测波长 254 nm。结果 色谱峰分离度良好, 大黄素在 11.50~115.04 ng、大黄酚在 12.24~122.40 ng、大黄素甲醚在 4.87~48.71 ng 内呈良好线性关系。平均加样回收率大黄素为 100.6%, 大黄酚为 101.4%, 大黄素甲醚为 97.7%。结论 该方法简单、快速、重复性好, 可用于红曲黄酮片中总蒽醌的质量控制。

**关键词:** 总蒽醌; 决明子; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)12-1131-04

### Determination of Anthraquinone in Hongquhuangtong Pill by HPLC

LI Yinghong<sup>1</sup>, WANG Jin<sup>2</sup>, HU Lei<sup>1</sup>, XIONG Ying<sup>2</sup>, LUO Jinwen<sup>1\*</sup> (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhejiang Hangzhou Xinfu Pharmaceutical Co.,Ltd, Hangzhou 311300, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determining the content of anthraquinone in Hongquhuangtong pill by HPLC. **METHODS** Waters sunfire C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was consisted of methanol, acetonitrile and 0.1% phosphoric acid (25:40:35). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was

作者简介: 李樱红, 女, 硕士, 主管药师  
Tel: (0571)86458914 E-mail: luojw31@163.com

Tel: 13867465051

E-mail: li-y-h@tom.com

\*通信作者: 罗金文, 男, 硕士, 主任药师

set at 35 °C. The detector wavelength was 254 nm. **RESULTS** Emodin, chrysophanol, and physcion showed a good linear relationship with range in 11.50–115.04 ng, 12.24–122.40 ng, and 4.87–48.71 ng, respectively; and the recovery were 100.6%, 101.4%, and 97.7%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and reliable. And it can be applied to control the quality of anthraquinone from Hongquhuangtong pill.

**KEY WORDS:** anthraquinone; Cassiae Semen; emodin; chrysophanol; physcion

红曲黄酮片由红曲、决明子、山楂、泽泻及大豆提取物等组成，具有化浊降脂、活血化癥的功能。其中决明子为豆科植物决明或小决明的干燥成熟种子，性味甘、苦、咸，微寒，归肝、大肠经，具有清肝明目、润肠通便之功效。决明子中主要化学成分是蒽醌类化合物，其中包括大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、大黄素甲醚、大黄酚以及与葡萄糖形成的苷类。蒽醌及其苷具有多方面的生理活性，主要表现在降血糖、降胆固醇、利尿通便、抗氧化和促智、抗衰老等方面，但是蒽醌类化合物也有一定的不良反应，剂量过大会引起胃肠的各种不适，严重可能会导致胃肠出血、呼吸困难、心悸，所以决明子类中成药及保健品中总蒽醌含量的质控显得尤为重要。

目前，决明子中蒽醌类成分的测量方法主要为紫外分光光度法和高效液相色谱法<sup>[1-3]</sup>。紫外分光光度法虽然操作简单，但干扰大，影响因素多，并且显色不稳定，所以实际难以准确测定总蒽醌的含量。本实验采用高效液相色谱法测定决明子中蒽醌类成分，方法快速、灵敏、准确，根据厂方提供的样品和决明子对照药材中蒽醌类成分含量情况，确定以大黄素、大黄酚、大黄素甲醚为标志成分，以其含量总和作为总蒽醌含量指标，并对本测定方法进行了一系列的方法学验证，结果良好。

## 1 仪器与试剂

Agilent1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)，二极管阵列检测器，Agilent 色谱工作站。大黄素(批号：110756-200110，含量：100%)、大黄酚(批号：110796-200716，含量：100%)、大黄素甲醚(批号：110758-200912，含量：98.4%)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。乙腈、甲醇为色谱纯，其他试剂均为分析纯。红曲黄酮片(批号：20110201，20110202，20110203，规格：0.6 g·片<sup>-1</sup>)及阴性样品均由浙江杭州鑫富药业股份有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 供试品溶液的制备

取本品适量，研细，取约 2 g，精密称定，置

回流瓶中，精密加入盐酸-乙醇(1:25)的混合溶液 25 mL，密塞，称定重量，置 90 °C 水浴中加热回流 1 h，放冷，再称定重量，用盐酸-乙醇(1:25)的混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，精密吸取续滤液 5 mL，置蒸发皿中，蒸干，残渣加甲醇适量使溶解，转移至 5 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

### 2.2 对照品溶液的制备

取经五氧化二磷减压干燥过夜的大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量，精密称定，用甲醇制成每 1 mL 含大黄素 6 μg、大黄酚 6 μg、大黄素甲醚 3 μg 的混合溶液，即得。

### 2.3 色谱条件

色谱柱：Waters Sunfire C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇-乙腈-0.1%磷酸(25:40:35)；检测波长：254 nm；柱温：35 °C；流速：1.0 mL·min<sup>-1</sup>；进样量 20 μL，理论板数按大黄酚计算应不低于 2 000。在此条件下色谱能达到很好分离，对照品、样品及阴性样品无干扰，结果见图 1。

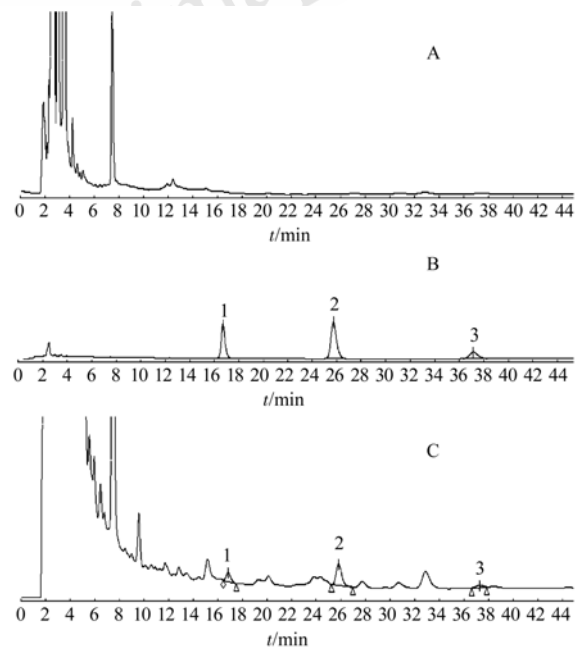


图 1 高效液相色谱图

A-对照品；B-供试品；C-阴性对照；1-大黄素；2-大黄酚；3-大黄素甲醚

Fig 1 HPLC Chromatograms

A-standard solution; B-sample; C-blank control; 1-emodin; 2-chrysophanol; 3-physcion

## 2.4 线性关系的考察

分别精密吸取混合对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{L}$ , 注入高效液相色谱仪, 以进样量( $\text{ng}$ )为  $X$  轴, 峰面积为  $Y$  轴, 得线性回归方程大黄素  $Y=3.670 3X-4.143 7(r=0.999 7)$ , 大黄酚  $Y=5.462 8X-6.236 1(r=0.999 9)$ , 大黄素甲醚  $Y=3.595 5X-1.843 9(r=0.999 3)$ , 结果表明大黄素在 11.50~115.04  $\text{ng}$ 、大黄酚在 12.24~122.40  $\text{ng}$ 、大黄素甲醚在 4.87~48.71  $\text{ng}$  内呈良好线性关系。

## 2.5 仪器适应性试验

精密吸取混合对照品溶液连续进样 5 次, 分别以大黄素, 大黄酚, 大黄素甲醚的峰面积为指标, RSD 依次为 0.54%, 0.73%, 0.88%。说明在该条件下, 仪器精密度良好。

表 1 回收率试验( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n=6$ )

指标	称样量/g	原有量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
大黄素	1.012 4	24.20	64.71	90.07	101.80	100.6	0.70
	1.012 5	24.20	64.71	89.45	100.84		
	1.011 1	24.17	64.71	89.25	100.57		
	1.002 8	23.97	64.71	88.50	99.73		
	1.014 8	24.25	64.71	89.08	100.18		
	1.014 5	24.25	64.71	89.22	100.40		
大黄酚	1.012 4	45.46	76.50	122.85	101.16	101.4	0.29
	1.012 5	45.46	76.50	122.99	101.34		
	1.011 1	45.40	76.50	122.95	101.37		
	1.002 8	45.03	76.50	122.77	101.62		
	1.014 8	45.57	76.50	123.53	101.92		
	1.014 5	45.55	76.50	122.93	101.15		
大黄素甲醚	1.012 4	24.50	9.13	33.54	98.92	97.7	1.80
	1.012 5	24.50	9.13	33.67	100.34		
	1.011 1	24.47	9.13	33.28	96.45		
	1.002 8	24.27	9.13	33.05	96.17		
	1.014 8	24.56	9.13	33.34	96.11		
	1.014 5	24.55	9.13	33.54	98.44		

## 2.8 稳定性试验

精密吸取同一份供试品溶液(批号: 20110201), 分别在 0, 4, 12, 24, 36, 54 h 进样 1 次, 并计算含量, 54 h 内大黄素峰面积的 RSD 为 1.6%, 大黄酚为 0.5%, 大黄素甲醚为 1.1%, 表明供试品溶液在 54 h 内稳定性良好。

## 2.9 样品测定

分别测定了厂家提供的 3 批样品(批号: 20110201, 20110202, 20110203), 结果见表 2。

## 3 讨论

### 3.1 检测指标的确定

在中国药典 2010 年版一部中收录了多种蒽醌类成分检测方法, 如决明子药材中蒽醌类成分测

## 2.6 重复性试验

分别称取同一批供试品(批号: 20110201)6 份, 按“2.1”项下方法进行制备, 以大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量总和作为总蒽醌含量指标, 结果测得平均总含量为  $0.09 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 1.22%, 表明方法重复性良好。

## 2.7 回收率试验

取已知含量的供试品(批号: 20110201)适量, 研细, 分别取 6 份, 精密称定, 分别加入大黄素, 大黄酚, 大黄素甲醚对照品适量, 并按“2.1”项下方法操作, 测定其中总蒽醌含量, 并计算加样回收率。大黄素平均加样回收率为 100.6%(RSD 为 0.70%), 大黄酚为 101.4%(RSD 为 0.29%), 大黄素甲醚为 97.7%(RSD 为 1.80%)。说明方法准确度较高。结果见表 1。

表 2 样品测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of sample determination( $n=3$ )

批号	大黄素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	大黄酚/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	大黄素甲醚/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	总量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
20110201	0.024	0.045	0.024	0.09
20110202	0.022	0.044	0.032	0.10
20110203	0.022	0.043	0.030	0.09

定, 清宁丸、麻仁丸等含量测定中均有涉及。通过比较各种提取方法, 确定了能准确测定红曲黄酮片中总蒽醌含量的预处理及测定方法。在预实验中发现, 厂家提供的决明子药材中主要含有的蒽醌类成分为大黄素、大黄酚、大黄素甲醚, 所以选择这 3 种成分为检测指标, 3 者之和用来表征成药的总蒽醌含量。

(下转第 1139 页)

近曲小管对尿酸的再吸收,这种再吸收作用是OH<sup>-</sup>依赖的在近曲小管刷状缘膜上进行的,并不依赖于阻断血管紧张素II受体。③通过碱化尿液增加尿酸在肾小管的分泌。这一机制已在动物及临床实验中得到证实<sup>[7]</sup>。

综上所述,高血压合并高尿酸血症患者,以氯沙坦作为首选降压药无疑是最佳选择。

## REFERENCES

- [1] QIU Z H, CAO Y. The relationship between hyperuricemia and hypertension [J]. Cardiovas Dis For Med Sci(国外医学心血管疾病分册), 2001, 28(1): 9-11.
- [2] DANG A M, LIU G Z. Uric acid and cardiovascular events [J]. Chin J Cardiol(中华心血管病杂志), 2003, 31 (6): 478-480.
- [3] LI Y P. The effects of losartan and amlodipine compared with valsartan and amlodipine in hypertensive patients with

complicated hyperuricaemia [J]. J Nanhua Univ(Med Ed)(南华大学学报: 医学版), 2007, 35(3): 404-406.

- [4] EDWARDS R M, TRIZNA W, STACK E J. Interaction of nonpeptide angiotension II receptor antagonists with the urate transporter in rat renal brush border membranes [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1996, 276(1): 125-129.
- [5] DANG A M, LIU G Z, ZHANG Y H, et al. The effects of angiotensin II receptor blockers in hypertensive patients complicating hyperuricaemia [J]. Chin J Cardiol(中华心血管病杂志), 2006, 34(10): 882-885.
- [6] HAMADA T, ICHIDA K, HOSOYAMADA M, et al. Uricosuric action of losartan via the inhibition of urate transporter 1 (URAT 1) in hypertensive patients [J]. Am J Hypertens, 2008, 21(10): 1157-1162.
- [7] MALLION J M, BRADSTREET D C, MAKRIS L, et al. Antihypertensive efficacy and tolerability of once daily losartan potassium compared with captopril in patients with mild to moderate essential hypertension [J]. J Hypertens, 1995, 13(Suppl 1): 35-41.

收稿日期: 2012-03-02

(上接第 1133 页)

### 3.2 提取方法的选择

参照中国药典 2005 版一部清宁丸的含量测定方法<sup>[4]</sup>,对提取方式(浸泡过夜、索氏提取、超声、回流),提取溶剂[盐酸-乙醇(1:25),盐酸-甲醇(1:10),盐酸-氯仿(1:20)],以及提取时间(回流 1, 3, 5 h)3 方面进行全面比较。最终确定提取方法为“以盐酸-乙醇(1:25)混合溶液为回流溶剂,90℃水浴回流提取 1 h”为最佳提取方法。

### 3.3 色谱柱的选择

在色谱柱的选择中,比较了 Agilent Zorbax SB C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和 Waters Sunfire C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)2 种色谱柱,结果 Waters Sunfire C<sub>18</sub>基线较为平稳,分离度较好,理论板数较高,3 个对照品的出峰时间在 12~30 min,因此采用色谱柱为 Waters Sunfire C<sub>18</sub>。

### 3.4 流动相的选择

在流动相的选择中,比较了甲醇-磷酸溶液,乙腈-磷酸溶液,甲醇-乙腈-磷酸溶液这 3 种流动相系统。甲醇-乙腈-0.1%磷酸溶液(25:40:35)为

流动相时柱效高、分离度好、保留时间合适,最终采用该系统为流动相。

### 3.5 制备工艺的探索性分析

厂家在制备该品种时,决明子在整个投料体系中所占比例不大,决明子的提取工艺为水提醇沉。在实验中,笔者用决明子对照药材模拟了该制备工艺,发现蒽醌类成分主要集中于水提后的滤渣层,而水提液中含量很低,这也解释了最终成药中蒽醌类成分含量较低的现象,有效控制了成品中蒽醌的限度。

## REFERENCES

- [1] YE B S, ZHAO L, SONG Y H. Determination of total anthraquinones in health food [J]. Chin J Health Lab Technol (中国卫生检验杂志), 2007, 17(5): 830-831.
- [2] ZHANG Y, HUANG X P, WENG D Q, et al. Determination of anthraquinone in Semen Cassiae from different regions by HPLC [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(23): 2797-2799.
- [3] XIAO L. Determination of anthraquinones in different varieties of Rumex by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(4): 353-356.
- [4] Ch.P(2005) Vol I(中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 613.

收稿日期: 2012-03-06