

妇乐冲剂中非法成分土大黄苷的检测

蒋永海(浙江绍兴市食品药品检验所, 浙江 绍兴 312071)

摘要: 目的 建立妇乐冲剂中非法成分土大黄苷的定性检测方法。方法 采用薄层色谱法、液质联用技术对怀疑有非法成分土大黄苷的妇乐冲剂进行分离分析, 并采用高效液相色谱-二极管阵列检测法对其进行定性鉴别。结果 在妇乐冲剂中检测出非法成分土大黄苷。结论 该方法专属性强、灵敏度高、操作简便, 可作为检测非法成分土大黄苷的有效方法。
关键词: 薄层色谱法; 液质联用; 妇乐冲剂; 土大黄苷; 非法; 高效液相色谱-二极管阵列检测法
中图分类号: R917.103; R927.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2011)09-0863-04

Determination of Rhaponiticin Illegally Added in Fule Granule

JIANG Yonghai(*Shaoxing Food and Drug Control, Shaoxing 312071, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for qualitative determination of illegal composition of rhaponiticin in Fule granules. **METHODS** TLC and LC-MS were employed to isolate and analyze the extract from Fule granule suspected of illegal rhaponiticin and rhaponiticin was identified by HPLC-DAD. **RESULTS** The Fule granule was detected to contain illegal composition of rhaponiticin. **CONCLUSION** The established method is specific, sensitive, convenient, and can be used efficiently for control and surveillance of illegal composition of rhaponiticin.
KEY WORDS: TLC; LC-MS; Fule granule; rhaponiticin; illegal; HPLC-DAD

作者简介: 蒋永海, 男, 副主任中药师

Tel: (0575)88338271

E-mail: jyh1616@sina.com

中国现代应用药学 2011 年 9 月第 28 卷第 9 期

Chin JMAP, 2011 September, Vol.28 No.9

• 863 •

妇乐冲剂处方是由忍冬藤、大血藤、大黄(制)等10味中药制备而成的,具有清热凉血、活血化瘀、消肿止痛的功效,用于急性盆腔炎、急性附件炎、子宫内膜炎等妇科炎症引起的带下和腹痛^[1]。方中大黄为一种使用广泛的中药材,具有泻热通肠,凉血解毒,逐瘀通经的功效。中国药典2005年版在检查项下规定土大黄苷的检测,土大黄苷与正品大黄在化学成分和功能主治上有所差异(土大黄苷几乎无泻下清火作用),同时在价格上也相差较大^[2]。

在药品中擅自以伪品充正品投料,是当前药品制假售假的新动向。为了有效的打击这种违法行为,笔者运用TLC和LC-MS对妇乐冲剂中以伪品特有成分土大黄苷进行检测,在样品中检出土大黄苷,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括VWD检测器,二极管阵列检测器)、Agilent 6210 TOF飞行时间质量分析器(美国Agilent公司)。

1.2 试剂

土大黄苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110794-200504,供定性鉴别用),妇乐冲剂(福建某制药厂,批号:20091001,20090901,20091101,20100101,20100102,20100301,20100501)。甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为高纯水。硅胶G预制板(烟台市化学工业研究所)。阴性样品:按文献[3]规定制备而得。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱法

2.1.1 供试品溶液制备 取妇乐冲剂0.5g,研细,置锥形瓶中,加甲醇10mL,超声处理20min,滤过,滤液作为供试品溶液。

2.1.2 阴性样品溶液制备 取阴性样品0.5g,置锥形瓶中,加甲醇10mL,超声处理20min,滤过,滤液作为阴性样品溶液。

2.1.3 对照品溶液制备 取土大黄苷对照品,加甲醇制成0.1mg·mL⁻¹的溶液,作为对照品溶液。

2.1.4 薄层鉴别 ①吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液各5μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:7:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视,见图1A。②吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液各5μL,分别点于同一硅胶G

薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-甲酸-水(20:7:0.4:0.6)为展开剂,展开,取出,晾干,在置紫外光灯(365nm)下检视,见图1B。③吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液各5μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲苯-甲酸乙酯-丙酮-甲酸-甲醇(7.5:1.25:1.25:0.025:5)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视,见图1C。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,均显相同持久蓝紫色的荧光斑点。薄层色谱图见图1。

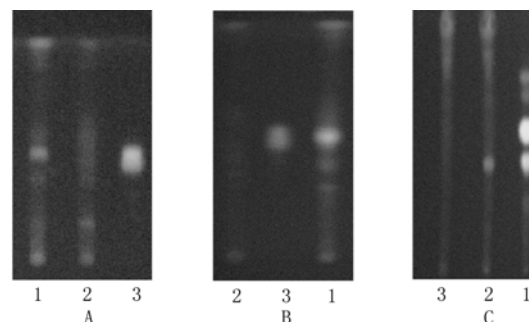


图1 薄层色谱图

A-①展开系统; B-②展开系统; C-③展开系统; 1-妇乐冲剂样品; 2-阴性样品; 3-土大黄苷对照品

Fig 1 TLC chromatograms

A-①development system; B-②development system; C-③development system; 1-Fule granule sample; 2-negative sample; 3-rhaponticin control

2.2 LS-MS

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈(250mm×4.6mm, 5μm), 柱温: 30℃, 流动相: 乙腈-甲醇-水(6:25:69), 检测波长: 320nm, 进样量: 10μL。

2.2.2 质谱条件 离子源: ESI(正模式); 干燥气(N₂)流速: 9.0mL·min⁻¹; 雾化气压力: 241.3kPa; 干燥气温度: 330℃; 毛细管电压: 3500V; Frag电压: 190V。

2.2.3 供试品溶液的制备 取“2.1.1”项下的供试品溶液, 即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 取“2.1.2”项下的阴性样品溶液, 即得。

2.2.5 对照品溶液的制备 精密称取土大黄苷对照品2mg, 置25mL量瓶中, 加50%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.6 测定方法 取供试品、阴性样品及对照品溶液各10μL分别注入液相色谱仪中, 记录色谱图, 结果见图2。根据质谱条件用正离子扫描方式

进行质谱分析,记录质谱图,结果见图3,得到土大黄苷与样品碎片离子一致,其主要碎片离子有 m/z : 421.15, 443.13, 459.11。如有与对照品色谱相应位置上呈现相同的色谱峰,按“2.2.1”项下

色谱条件采用DAD检测器在210~390 nm进行全波长扫描,其供试品的扫描图与对照品的扫描图相一致,相似度为99.9%,结果见图4。

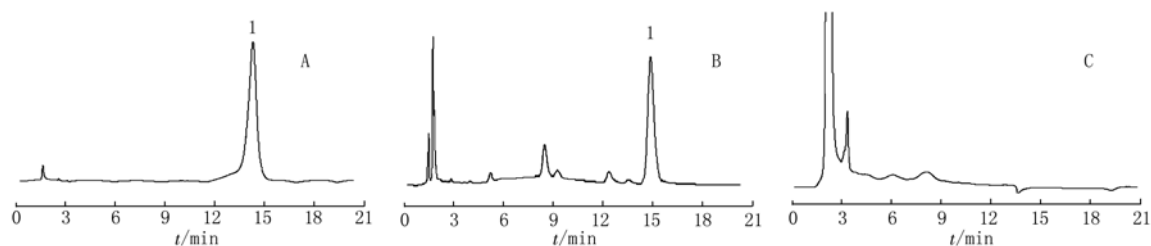


图2 高效液相色谱图

A-对照品; B-妇乐冲剂样品; C-阴性样品; 1-土大黄苷

Fig 2 HPLC chromatograms

A-control; B-Fule granule sample; C-negative sample; 1-rhaponticin

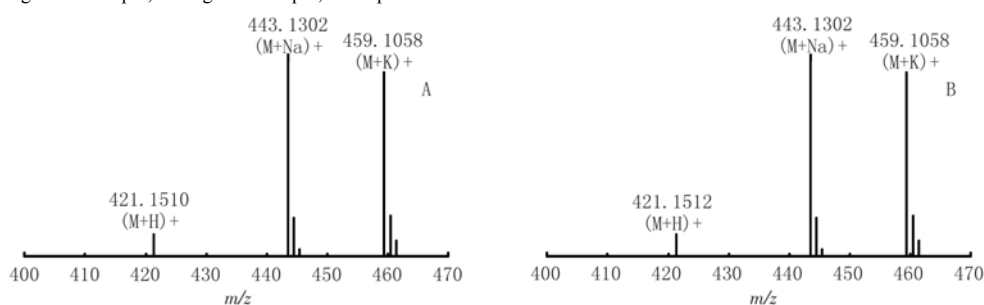


图3 土大黄苷及供试品质谱图

A-对照品; B-妇乐冲剂样品

Fig 3 The full scan spectra and ms/ms of rhaponticin and sample (ESI⁺)

A-control; B- Fule granule sample

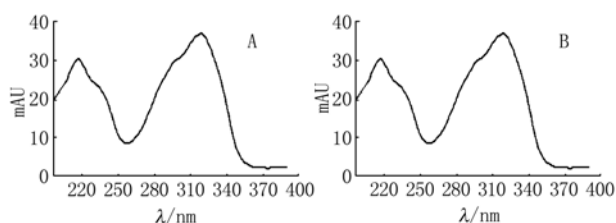


图4 高效液相-二极管阵列检测图谱

A-对照品; B-妇乐冲剂样品

Fig 4 UV chromatograms of HPLC-DAD

A-control; B- Fule granule sample

3 讨论

国家食品药品监督管理局尚未颁布妇乐冲剂中检测非法成分土大黄苷的补充检验方法,也未见妇乐冲剂中非法成分土大黄苷检测的报道。为此,笔者根据国家食品药品监督管理局颁布的非法成分土大黄苷检测补充检验方法^[4-6]以及相关报道^[7-8],建立了此类非法成分土大黄苷的检验方法。

为了慎重起见,笔者对该制药厂共7个批号中的非法成分土大黄苷采用3种不同的TLC展开系统、不同的高效液相色谱仪(Waters e2695 高效

液相色谱仪和 Agilent 1100 高效液相色谱仪)、不同的柱子色谱柱[色谱柱 1: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 色谱柱 2: Agilent Eclipse XDB-C₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 色谱柱 3: Waters Atlantis dC₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm)]、不同的流动相[流动相 1: 乙腈-甲醇-水(6:25:69), 流动相 2: 乙腈-水(20:80)]进行检测,使其准确无误,所得结果均为一致。

REFERENCES

- [1] SHENG Y, WANG P J, ZHANG W T, et al. Determination of emodin and chrysophanic acid in Fule granules by HPLC [J]. Chin Pharm(中国药业), 2010, 19(8): 46-47.
- [2] SHEN Y L, YANG M Z, LUAN J, et al. Study on detection method for rhaponticin in the drugs contained Rhubarb [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2010, 24(5): 493-495.
- [3] State Food and Drug Administration standard(for trail implementation)[国家食品药品监督管理局(试行)] [S]. WS3-10265(ZD-265)-2002.
- [4] State Food and Drug Administration drug inspection supplementary methods and project approval documents(国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件)

[S]. No.2008015.

- [5] State Food and Drug Administration drug inspection supplementary methods and project approval documents(国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件)

[S]. No.2008013.

- [6] State Food and Drug Administration drug inspection supplementary methods and project approval documents(国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件)

[S]. No.2010001.

- [7] JIANG Y H. Determination of gliclazide illegally added in Jiangtangning capsules [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2007, 22(4): 55-56.

- [8] JIANG Y H. Determination of acid orange II illegally added in salvia miltiorrhiza [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2010, 25(8): 245-246.

收稿日期: 2010-08-25