

# HPLC法测定九味羌活丸中5-羟甲基糠醛的含量

张锋忠\*, 骆天功<sup>#</sup>(青海省交通医院药剂科, 西宁 810008)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)44-4206-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.44.27

**摘要** 目的:建立测定九味羌活丸中5-羟甲基糠醛含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomenex Luna C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(3:97, V/V), 流速为1 ml/min, 柱温为25 ℃, 进样量为5 μl, 检测波长为280 nm。结果:5-羟甲基糠醛进样量在0.066 64~0.333 2 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 2$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.15%;平均加样回收率为100.84%, RSD=4.06%( $n=6$ )。结论:该方法简便、快速,重复性好,可用于九味羌活丸中5-羟甲基糠醛的含量测定。

**关键词** 5-羟甲基糠醛;九味羌活丸;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of 5-hydroxymethyl Furfural in Jiuwei Qianghuo Pill by HPLC

ZHANG Feng-zhong, LUO Tian-gong (Dept. of Pharmacy, Qinghai Provincial Traffic Hospital, Xining 810008, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of 5-hydroxymethyl furfural in Jiuwei qianghuo pill. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (3:97, V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The column temperature was set at 25 ℃, and sample size was 5 μl. The detection wavelength was set at 280 nm. RESULTS: The linear range of 5-hydroxymethyl furfural was 0.066 64-0.333 2 μg ( $r=0.999\ 2$ ) with an average recovery of 100.84% (RSD=4.06%,  $n=6$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.15%. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and reproducible for the content determination of 5-hydroxymethyl ethyl furfural in Jiuwei qianghuo pills.

**KEYWORDS** 5-hydroxymethyl ethyl furfural; Jiuwei qianghuo pill; HPLC; Content determination

- ~~~~~
- [4] 柳宝,张丽敏. 鸦胆子油乳联合顺铂胸腔内灌注治疗肺癌所致恶性胸腔积液的疗效观察[J]. 中国当代医药, 2012, 19(7):47.
- [5] 谢艳萍,聂森,王飞,等. 鸦胆子油乳联合顺铂胸腔灌注治疗恶性胸腔积液临床观察[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(8):809.
- [6] 徐春华. 鸦胆子油乳联合丝裂霉素治疗恶性胸腔积液的研究[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(1):70.
- [7] 莫绍雄,杨小平,赵文,等. 鸦胆子油乳剂联合顺铂胸腔灌注治疗癌性胸水疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2009, 19(11):683.
- [8] 孙大兴,沈汉澄,季春莲,等. 鸦胆子油乳联合顺铂治疗恶性胸腔积液的疗效观察[J]. 中成药, 2002, 24(8):605.
- [9] 王红梅,廖国清,刘鹏辉,等. 鸦胆子油乳剂联合顺铂治疗肺癌胸水70例[J]. 中国肿瘤, 2007, 16(12):1 035.
- [10] 吉佑华. 顺铂联合鸦胆子油乳剂内治疗30例恶性胸腔积液[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(5):474.
- [11] 尤建良,薛青,赵义纯,等. 鸦胆子乳胸腔内注射治疗癌性胸水临床研究[J]. 长春中医药大学学报, 2001, 17(3):11.
- [12] 杨洁,何琳. 鸦胆子油乳联合顺铂腔内注射治疗癌性胸水[J]. 河南肿瘤学杂志, 2002, 15(4):281.
- [13] 宋应健,王立新,洪永青,等. 鸦胆子油乳剂联合顺铂治疗恶性胸腔积液的疗效[J]. 江苏医药, 2011, 37(21):2 527.
- [14] 张昊,靳端阳,赵燕. 鸦胆子油乳联合顺铂治疗恶性胸腔积液34例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(5):41.
- [15] 吴述洪,芮磊,洪原城. 鸦胆子油乳联合顺铂胸腔注射治疗癌性胸水68例疗效观察[J]. 海南医学, 2009, 20(9):15.
- [16] 武四超. 鸦胆子油乳联合卡铂胸腔灌注治疗癌性胸水的临床观察[J]. 医学信息, 2011, 24(9):5 749.
- [17] 司品现,刘厚林,国桂松,等. 鸦乳辅助治疗恶性胸水32例疗效分析[J]. 临床荟萃, 1995, 10(12):546.
- [18] 贾琳,王亚利,耿立梅. 鸦胆子油乳联合奥沙利铂胸腔注入治疗恶性胸腔积液35例[J]. 中医杂志, 2011, 52(22):1 956.
- [19] 陈勇. 鸦胆子油乳联合顺铂治疗恶性胸腔积液疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2011, 21(10):713.
- [20] 高作文,娄金书,丁太良,等. 鸦胆子油乳联合顺铂及白介素-Ⅱ治疗肺癌恶性胸腔积液临床观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2013, 20(2):153.
- [21] 赵红霞. 鸦胆子油乳剂联合顺铂胸腔内注射治疗恶性胸腔积液的护理[J]. 职业与健康, 2010, 26(22):2 719.

(收稿日期:2013-12-19 修回日期:2014-09-26)

\* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0971-6185966。E-mail:qhjtzfz@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:主管药师。研究方向:临床药学。电话:0971-6185886。E-mail:ltgz@126.com

九味羌活丸是由羌活、防风、苍术、细辛、川芎、白芷、生地、黄芩、甘草等药材制成的蜜丸制剂<sup>[1]</sup>。蜜丸中蜂蜜作为黏合剂,占比较大。目前,市场上蜂蜜存在掺伪现象,主要掺加一些转化糖类,转化糖类在生产过程中可产生5-羟甲基糠醛,而地黄药材在炮制过程中也会产生5-羟甲基糠醛。有文献报道,5-羟甲基糠醛对人体横纹肌及内脏有损害,具有神经毒性<sup>[2]</sup>,能与蛋白结合产生蓄积中毒<sup>[3]</sup>。因此,控制5-羟甲基糠醛的含量可间接地了解地黄的质量、投料和蜜丸中蜂蜜的质量及生产工艺的控制状况。本研究中,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对九味羌活丸中5-羟甲基糠醛的含量进行了测定,以为该制剂的质量控制提供依据。

## 1 材料

1100型HPLC仪,包括G1313A自动进样系统、G1328B可变波长检测器、Instrument 1 online色谱工作站(美国安捷伦公司);KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);CP225D电子天平(德国赛多利斯公司);Sartorius BS124S电子天平(德国赛多利斯公司)。

5-羟甲基糠醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111626-201007);九味羌活丸(太极集团四川绵阳制药有限公司,批号:20101112、20101221、20110309、20110418、20110526、20110724、20110823、20110912、20111022、20111108、20111213、20120128、20120201、20120426、20120503、20120604);磷酸为分析纯,甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(3:97, V/V);流速:1 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:25℃;进样量:5 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取5-羟甲基糠醛对照品适量,加入甲醇溶液溶解,制成质量浓度为0.033 32 mg/ml的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取重量差异或装量差异项下的本品,研细,取约2 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液25 ml,称定质量,超声处理30 min(功率:200 W,频率:40 kHz),称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取除去地黄和辅料蜂蜜的模拟制剂,按“2.2.2”项下方法进行操作,即制得阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各5 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,分离度较好,理论板数按5-羟甲基糠醛峰计算应不低于4 000。

### 2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液2、4、6、8、10 μl,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。以峰面积(y)为纵坐标,进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得到回归方程 $y=25.759+456.443x$ ( $r=0.9992$ )。结果表明,5-羟

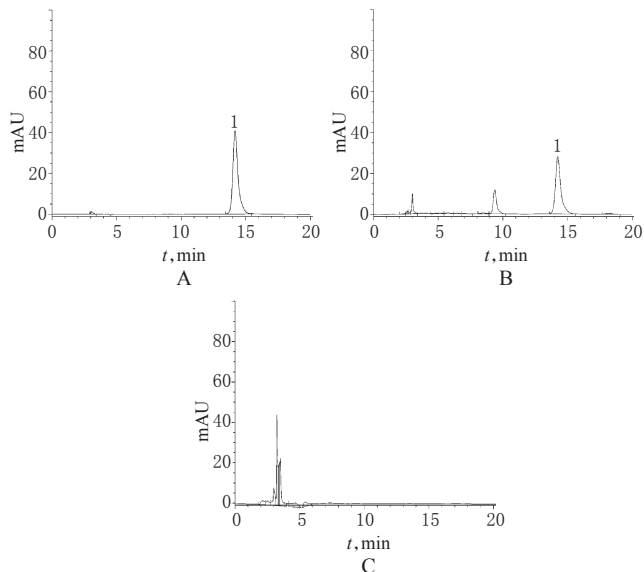


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.5-羟甲基糠醛

Fig 1 HPLC chromatograms

A.substance control; B.test sample; C.negative control; 1.5-hydroxymethyl furfural

甲基糠醛进样量在0.066 64~0.333 2 μg范围内与峰面积积分值的呈良好线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样5次,记录峰面积。结果,5-羟甲基糠醛峰面积的RSD=0.16%,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品试验(批号:20101112)适量,分别放置0、1、2、3、4、5 h时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,5-羟甲基糠醛峰面积的RSD=0.86%,表明供试品溶液在5 h内稳定性较好。

### 2.7 重复性试验

取样品(批号:20101112)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,5-羟甲基糠醛峰面积的RSD=1.15%,表明本方法的重复性较好。

### 2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:20101112)适量,共6份,加入“2.2.1”项下对照品溶液适量,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并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

所含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.998 0	0.416 5	1.491 6	105.45	100.84	4.06
1.012 5	0.416 5	1.383 9	96.85		
1.004 1	0.416 5	1.357 5	95.56		
1.001 7	0.416 5	1.464 9	103.26		
0.998 4	0.416 5	1.475 3	104.27		
1.008 9	0.416 5	1.420 9	99.69		

## 2.9 样品含量测定

取16批样品适量,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5-羟甲基糠醛的峰面积并计算含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab 2 Content determination of sample(mg/g, n=3)

批号	5-羟甲基糠醛含量
20101112	0.592 4
20101221	0.692 8
20110309	0.586 0
20110418	0.273 5
20110526	0.542 4
20110724	0.736 5
20110823	0.280 7
20110912	0.229 3
20111022	0.230 2
20111108	0.251 8
20111213	0.892 2
20120128	0.513 9
20120201	0.583 2
20120426	0.694 3
20120503	0.632 5
20120604	0.683 4

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

有文献报道,5-羟甲基糠醛在280 nm波长处有最大吸收<sup>[4-5]</sup>。本研究采用文献报道的波长280 nm进行试验,发现在此波长处5-羟甲基糠醛峰形较好<sup>[4]</sup>,峰值稳定。故选择280 nm为本研究的检测波长<sup>[5]</sup>。

### 3.2 流动相的选择

参照有关文献,笔者分别选择了甲醇-0.1%磷酸溶液(3:97, V/V)、乙腈-0.1%磷酸溶液(5:95, V/V)、甲醇-乙腈-0.1%磷酸溶液(2:3:95, V/V/V)为流动相,进行研究<sup>[6-8]</sup>。结果发现,以甲

醇-0.1%磷酸溶液(3:97, V/V)为流动相时,5-羟甲基糠醛峰形无拖尾现象。故选择甲醇-0.1%磷酸溶液(3:97, V/V)为本研究的流动相。

### 3.3 样品含量的差异

同一企业的16批样品中5-羟甲基糠醛含量存在一定差异,表明企业在投料和生产工艺上存在差异<sup>[9]</sup>。

综上所述,本方法简便、快速,重复性好,可用于九味羌活丸中5-羟甲基糠醛的含量测定。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:448.
- [2] 迟文,张昌斌,曹永红,等.限制5-羟甲基糠醛生成条件的探讨[J].人民军医药学专刊,1998,14(2):101.
- [3] 汪祺,谢黔峰,刘丽娜,等.六味地黄丸(大蜜丸)中蜂蜜辅料的质量考察(2)糖转化产物5-羟甲基糠醛的测定[J].药物分析杂志,2010,30(12):2349.
- [4] 雒翠霞,孙国祥.反相高效液相色谱法测定知柏地黄丸中5-羟甲基糠醛含量[J].中南药学,2008,6(2):188.
- [5] 张清波,乔菲,陈晓雪,等.HPLC测定5-羟甲基糠醛的含量[J].中国药品标准,2001,2(4):33.
- [6] 邱小红.炼蜜在蜜丸制备中的质量控制[J].北京中医,2006,25(3):169.
- [7] 张翠,柴欣生,罗小林,等.紫外光谱法快速测定生物质提取液中的糠醛和羟甲基糠醛[J].光谱学与光谱分析,2010,30(1):247.
- [8] 曾珊珊,林鹿,刘娣,等.固体酸催化5-羟甲基糠醛的降解动力学研究[J].林产化学与工业,2013,33(4):32.
- [9] 解佳翰,聂俊芳,刘海超,等.碱性条件下Ru/C催化5-羟甲基糠醛选择氧化反应[J].催化学报,2014(6):937.

(收稿日期:2014-08-12 修回日期:2014-10-15)

# 国家卫生计生委副主任王国强调研北京市埃博拉出血热防控工作

本刊讯 2014年10月29日,国家卫生计生委副主任王国强带队对北京市埃博拉出血热防控工作情况进行了调研。调研期间,听取了北京市相关工作汇报,考察了北京市疾病预防控制中心和朝阳区疾控中心防控工作落实情况,并就进一步加强埃博拉出血热防控工作,保障2014年亚太经合组织会议(以下简称APEC会议)顺利召开提出了工作要求。

王国强指出,北京市委、市政府高度重视埃博拉出血热防控工作,及时启动市突发公共卫生事件应急指挥部工作机制,提早布控、制定方案,认真落实属地、部门、单位、个人等“四方责任”,共同做好传染病防控工作。加强与口岸检疫等相关部门协作,启用“北京市埃博拉出血热疫情联防联控信息系统”,强化对疫区来京人员的健康监测管理,及时掌握疫区国家来京人员情况。强化联防联控机制,与教委、商务、住建、旅游、外事、食药监等部门协调联动,针对重点对象、重点环节完善细化了防范应对措施。坚持每日会商制度,建立了北京地区疾病预防预警报告体系,科学研判疫情形势,各项防控措施落

实有力有效。

王国强强调,为进一步加强埃博拉出血热防控工作,北京市要继续强化落实各项防控措施。一是要认真学习领会中央领导同志重要指示精神,把人民群众的生命健康安全放在首位,极端重视埃博拉出血热疫情防范应对工作。二是充分发挥联防联控机制作用,根据形势变化及时调整防控策略,不断健全防控预案体系,确保防控工作信息互通、资源共享、措施联动,切实把防控工作落实、落细、落小。三是加强疫情防范与应对准备,及时组织疫情研判和风险评估,细化防控措施,从实战出发,组织好防范埃博拉出血热疫情演练,并根据演练情况进一步梳理工作流程,查漏补缺,及时整改。四是要继续完善中医药参与防治传染病工作机制,发挥好中医药专家的作用,共同做好防控工作。五是开展多种形式的宣传教育工作,制订有针对性的宣传方案,利用互联网、移动客户端等新媒体传播健康知识,及时回应社会关切。