

# HPLC 法测定复方参乌口服液中大黄素的含量

谢 东 黄 捷(南宁 530021 广西壮族自治区药品检验所)

**摘要** 目的: 为复方参乌口服液建立专属性含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法测定。色谱柱: Inertsil ODS-3 柱, 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(82: 18), 检测波长: 254nm。结果: 大黄素在进样量为 0.5~ 5.0 $\mu\text{g}$  范围内呈良好的线性关系; 平均加样回收率为 98.43%, RSD 为 0.97% ( $n=6$ )。结论: 本法操作简便, 易行, 具有实用性。

**关键词** 复方参乌口服液; 大黄素; HPLC

## Determination of chrysophanol in Fufang Shenwu oral liquid by HPLC

Xie Dong(Xie D), Huang Jie(Huang J) (Guangxi Institute for Drug Control, Nanning, 530021)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To establish a special determination method for Fufang shenwu oral liquid. **METHOD:** It was assayed by HPLC. The column was ODS-3, the mobile phase was methyl-0.1% phosphoric acid solution(82: 18), and the detection wavelength was at 254 nm. **RESULTS:** The linearity was good within the range of 0.05~ 0.50 $\mu\text{g} \cdot 10\mu\text{l}^{-1}$  ( $r=0.9999$ ). The average recovery were 98.43% with RSD 0.97% ( $n=6$ ). **CONCLUSION:** This method is rapid, simple and accurate.

**KEY WORDS** Fufang Shenwu oral liquid, chrysophanol, HPLC

复方参乌口服液是由红参、制何首乌、蛤蚧、石菖蒲等药味经适当加工而制成, 具有益气补血, 养心安神之功效, 用于气血两虚引起的头晕目眩, 神疲乏力, 气短自汗, 面色少华, 心悸怔忡, 失眠健忘等症。本文以大黄素为指标, 采用 HPLC 法, 对本品中所含制何首乌中的大黄素含量建立专属性测定方法, 可作为本品质量控制指标。

### 1 仪器、试剂与样品

iSP 公司 P4000 泵, UV6000LP 二极管阵列检测器, ASI1000 自动进样器, SN4000 系统控制器; IBM PC300GL 电子计算机; MILLI-Q Labo 超纯水处理器。

大黄素对照品: 中国药品生物制品检定所提供, 供含量

测定用, 经纯度检查, 其含量为 98.8%。

甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其它试剂均为分析纯。复方参乌口服液样品: 广西三金药业集团公司提供。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Intertsil ODS-3 柱(5 $\mu\text{m}$ , 4.6mm $\times$ 250mm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(82: 18), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 254nm, 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数( $n$ )为 5000 以上, 进样量为 10 $\mu\text{l}$ 。在以上色谱条件下, 大黄素峰保留时间约为 11.5min, 见图 1。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密量取本品 20ml, 置分液漏斗中, 加氯仿提取 2 次, 每次 10ml, 合并氯仿液备用。水层加氯

仿及 2.5 ml/L 硫酸溶液各 30 ml, 60℃ 加热回流 1h, 放冷, 移置分液漏斗中, 分取氯仿层, 水液加氯仿提取 3 次, 每次 20 ml, 合并氯仿液, 滤过, 60℃ 低温蒸干, 残渣加甲醇使溶解并定容至 25 ml, 作为供试品溶液。

对照品溶液的制备 取大黄素对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 0.25 mg 的溶液, 摇匀, 即得。

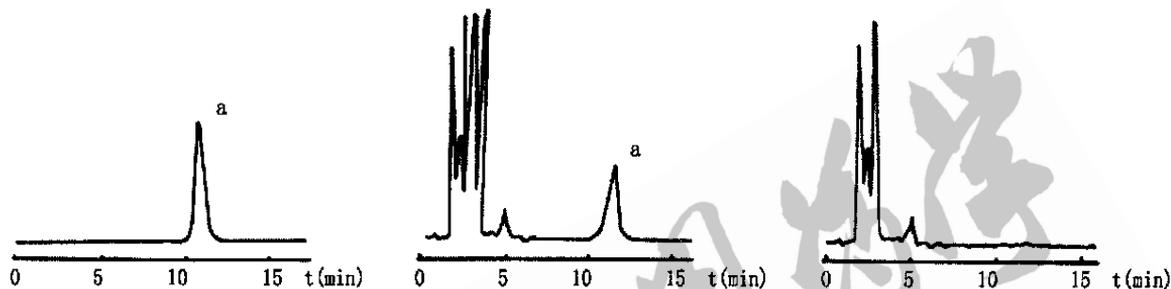


图 1 HPLC 色谱图

1 大黄素对照品 2 复方参乌口服液样品 3 缺制何首乌的阴性对照液 a 大黄素峰

2.4 精密度的试验 对同一供试品溶液, 连续测定 5 次, 结果其峰面积值的 RSD 为 0.25%。

2.5 重复性试验 对同一批样品, 分别取 6 份, 同法提取, 依法测定, 结果含量平均为  $0.12 \text{ mg} \cdot \text{支}^{-1}$ , RSD = 0.24%。

2.6 稳定性考察 对同一供试品溶液, 每隔 2h 测定一次, 共测定 6 次, 结果 RSD 为 0.35%, 表明稳定性良好。

2.7 加样回收率测定 精密量取已知含量 ( $0.1245 \text{ mg} \cdot \text{支}^{-1}$ ) 的本品 10 ml, 精密添加大黄素对照品, 按供试品溶液制备项下的方法提取, 测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

测得量 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
223.88	97.51	98.43	0.97
226.19	99.77		
223.60	97.23		
224.97	98.58		
225.52	99.12		
224.77	98.38		

注: 样品含量均为  $124.51 \mu\text{g}$ , 加入量均为  $101.92 \mu\text{g}$ 。

2.8 样品测定 按上述色谱条件, 依法进样测定, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 ( $n=3$ )

批号	含量 ( $\text{mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )	RSD (%)
000601	0.124	0.58
000602	0.130	1.06
000603	0.111	0.75

2.3 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1, 2, 3, 5, 10 ml, 分别置 50 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样测定。以对照品进样量为纵坐标, 峰面积: 积分值为横坐标绘制标准曲线, 结果大黄素在进样量 0.5~5.0  $\mu\text{g}$  范围内呈良好的线性关系。回归方程为:

$$Y = 3.46 \times 10^{-5} X + 0.2696, r = 0.9999.$$

### 3 讨论

3.1 流动相的 pH 值对实验有较大的影响, 因为蒽醌类化合物呈弱酸性, 在酸性条件下, 色谱行为得到明显改善, 采用 0.1% 磷酸代替水取得了较好的分离效果。采用建立的 HPLC 法测定样品中所含的游离型和结合型大黄素, 该法灵敏、可靠, 可作为该样品的含量测定方法。

3.2 试验时, 对加 2.5 ml/L 硫酸溶液的用量作了考察, 分别加 30、40、50 ml, 考察其水解情况, 结果发现用量对水解结果影响不大, 只是加酸量大, 水解后有絮状沉淀生成, 样品萃取较困难, 且有因吸附大黄素而使含量偏低的趋势; 若水解温度过高, 则易产生黑色的不溶性沉淀, 故采用 30 ml 的用量, 60℃ 水解较适宜。

### 参考文献

- 1 姚鸣春, 罗碧如, 蓝开蔚, 等. 中药何首乌抗衰老作用的研究. 药学通报, 1984, 19(11): 28.
- 2 叶定江, 朱荃, 祁辉林, 等. 何首乌及其炮制品的免疫药理学研究. 中药通报, 1987, (3): 21.
- 3 甄汉深, 李公亮, 张同心, 等. 何首乌不同炮制品体外抑菌实验的研究. 中药通报, 1986, (3): 53.
- 4 赵斌, 胡蔚花, 朱承伟, 等. 制剂用何首乌的研究. 中成药研究, 1984, (10): 6.

收稿日期: 2001-02-06