高效液相色谱法测定痔疮片中大黄素和大黄酚的含量

薛漓(广西梧州药品检验所,广西　梧州 543002)

摘要:目的　建立痔疮片中大黄素和大黄酚的含量测定方法。方法　高效液相色谱法。Kromarsil C_{18}柱,甲醇-0.1%磷酸液(90∶10)为流动相,流速为1 mL/min,检测波长254nm。结果　痔疮片中大黄素和大黄酚能有效分离,且无杂质干扰。大黄素进样量在0.046~0.230μg,大黄酚进样量在0.100~0.500μg,均呈良好线性关系,r=0.9998。大黄素和大黄酚平均回收率分别为99.7%和96.1%(n=5,RSD分别为1.1%和1.9%)。结论　本法准确、可靠。可作为痔疮片的质量控制方法。

关键词:痔疮片;大黄素;大黄酚;高效液相色谱法

中图分类号:R917.01;R927.2　　文献标识码:B　　文章编号:1007-7693(2003)05-0404-02

Determination of emodin and chrysophanol in Zhichuang tablet by HPLC

XUE Li(*Guangxi Wuzhou City Institute for Drug Control, Wuzhou* 543002, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE　To establish an HPLC method for determination of emodin and chrysophanol in Zhichuang tablet. **METHOD**　The PHLC was performed on Kromarsil C_{18} column with the mobile phase containing methanol-0.1% phosphoric acid solution (90∶10) and set the UV director at 254nm. **RESULTS**　A satisfactory seperation between emodin and chrysophanol was obtained, and it is not disturbed by impurities. The standard curves for emodin and chrysophanol were linear over the range of 0.046~0.230μg and 0.100~0.500μg(r=0.9998) respectively. The average recoveries of emodin and chrysophanol were 99.7% and 96.1%(n=5), with RSDl.1% and 1.9% respectively. **CONCLUSION**　This method is accurate and reliable. It can be used as quality control method of Zhichuang tablet.

KEY WORDS: Zhichuang tablet; emodin; chrysophanol; HPLC

痔疮片由大黄、白芷、蒺藜、功劳木等六味中药组成。具有清热解毒、凉血止痛等功效,用于各种痔疮、肛裂、大便秘结。已收载于国家药品标准。但现行质量标准仅有TLC鉴别而无含量测定指标。为了更好地控制药品质量,我们选取本品中大黄的代表成分大黄素和大黄酚作为质控指标,对其含量测定方法进行了研究,为进一步完善其质量标准提供了参考依据。

1　仪器与试药

高效液相色谱仪:Waters 501泵,484检测器,U6K进样器,SP4290积分仪。

大黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:756-9023,大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0796-9404),甲醇、磷酸等溶剂均为分析纯。

痔疮片(广西梧州市玉兰药厂,批号:990504,980806,990705,990403,970301)。

2　色谱条件

色谱柱:Kromarsil C_{18}(250mm×4.6mm)。大连化学物理研究所。流动相:参照中国药典三黄片中大黄的测定条件调节比例,甲醇-0.1%磷酸(90∶10),流速:1 mL/min,检测波长:254nm。

系统适用性试验:按上述条件,理论塔板数按大黄素峰计算为5 300,按大黄酚峰计算为5 500,二者的分离度为4.9,连续进样5针,大黄素和大黄酚峰面积的RSD均为0.5%。

3　对照品及供试品的制备

对照品溶液的制备:分别精密称取大黄素和大黄酚对照品适量,加无水乙醇-醋酸乙醋(2∶1)制成每1 mL含大黄素0.01 mg,大黄酚0.025 mg的混合溶液,即得。

供试品溶液的制备:取本品20片,除去糖衣,精密称定,研细(过三号筛),精密称取适量(约相当于2片)置锥形瓶中,精密加乙醇25 mL,密塞,称定重量,加热回流1h,放冷,用乙醇补足减失的重量,滤过。精密量取续滤液10 mL,置烧瓶中,水浴蒸干,加30%乙醇-盐酸(10∶1)溶液15 mL,水浴加热水解1h,立即冷却,置分液漏斗中,加氯仿强力振摇提取4次,每次15 mL,合并氯仿液,水浴蒸干,残渣用无水乙醇-醋酸乙酯(2∶1)溶解,移入25 mL量瓶中,并稀至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45μm)滤过,取续滤液即得。

另取不含大黄的阴性样品适量,同法制成阴性对照溶液,按上述色谱条件测定,结果表明阴性对照品无干扰。

4　检测

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10μL,注入液相色谱仪,测定,以峰面积外标法计算含量,即得。

5　线性关系考察

精密吸取对照品溶液4,5,7.5,10,15,20μL,分别进样分析,测定峰面积,以峰面积值为纵坐标,对照品进样量为横坐标,作线性回归,得回归方程,大黄素　$Y=98.813X-10.807$;大黄酚　$Y=1.990X+146.334$;r=0.9998,结果表

http://www.chinjmap.com

明,大黄素在 0.046 ~ 0.230μg,大黄酚在 0.100 ~ 0.500μg 内呈良好的线性关系。

6 精密度试验

取同一批号样品的供试液,重复进样 5 次,测定,峰面积值分别为:大黄素 164,170,167,166,166,平均值:166.8,RSD=1.3%;大黄酚 485,490,489,489,487,平均值:487.8,RSD=0.4%,精密度良好。

7 稳定性试验

取同一批号的供试品液分别在 2,5,10,15h 进行测定,结果表明在 15h 内基本稳定(RSD=1.5%)。

8 重现性试验

取同一批号的样品,分别取样 5 份,按供试品溶液制备方法制备,进样,测定,结果(mg/g):大黄素 0.205,0.201,0.203,0.207,0.209,平均值:0.205,RSD=1.6%;大黄酚 0.822,0.828,0.823,0.831,0.802,平均值:0.821,RSD=1.4%,表明本方法重现性良好。

9 加样回收率试验

精密称取已测定含量的样品(批号:970301)约 0.4g,精密加入适量大黄素和大黄酚对照品,按含量测定方法测定,计算回收率,5 次实验结果分别为(%):大黄素 99.7,100.9,99.2,100.6,98.2,平均回收率 99.7%,RSD=1.1%;大黄酚 94.7,98.9,96.8,94.3,96.0,平均回收率 96.1%,RSD=1.9%。

10 样品测定

取样品 5 批,按上述方法测定含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果(%,$n=2$)

Tab 1 The contents of samples(%,$n=2$)

批号	大黄素	大黄酚	总量
990504	0.0611	0.2611	0.322
980806	0.0264	0.2311	0.257
990705	0.0747	0.2286	0.330
990403	0.0875	0.3626	0.450
970301	0.2048	0.8211	1.026

11 讨论

大黄作为痔疮片的主药之一,已知其主要有效成分为蒽醌类,其中又含结合蒽醌和游离蒽醌。为了便于测定,本实验参照三黄片的含量测定方法,把结合蒽醌水解后测定其苷元大黄素和大黄酚。实验证明,三黄片含量测定的提取、水解及 HPLC 条件也适合于本品的含量测定。

从所测 5 批样品结果看,其含量相差较远,可能主要与大黄原料的质量不同有关。至于其生产工艺对含量有何影响,生产中其蒽醌的提取率如何,产品含量限度指标的合理制定等,还有待于进一步研究。

为了更好地控制痔疮片的质量,建议修订本品的质量标准,增加大黄蒽醌的含量测定项目。

收稿日期:2002-04-05

中国医药工业杂志 http://www.chinjmap.com