

高效液相色谱法测定大败毒胶囊中大黄素和大黄酚的含量

赵晓春¹, 闫淑伟² (1. 河北省药品检验所, 石家庄 050011; 2. 河北友爱医院, 石家庄 050031)

摘要:目的 建立大败毒胶囊中黄芩素和大黄酚的 HPLC测定方法。方法 采用 SHIMADZU LC-2010A HT高效液相色谱仪, Agilent Hypersil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm) 甲醇-0.1%磷酸 (75:25) 为流动相, 检测波长 254 nm。流速: 1 mL · min⁻¹, 柱温为室温。结果 黄芩素在 0.017 84 ~ 0.892 0 μg ($r=0.999\ 9$), 大黄酚在 0.012 07 ~ 0.603 6 μg ($r=0.999\ 9$) 内线性关系良好。结论 方法简便、快速、准确, 适用于大败毒胶囊的质量控制。

关键词:高效液相色谱法;大败毒胶囊;大黄素;大黄酚

中图分类号: R917.101; R917.72 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)06-0498-02

Determination of Emodin and Chrysophanol in Dabaidu Capsules by HPLC

ZHAO Xiao-chun¹, YAN Shu-wei^(1. Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China; 2. Hebei You Ai Hospital, Shijiazhuang 050031, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of emodin and chrysophanol in Dabaidu capsules. **METHODS** A Agilent Hypersil C₁₈ column(4. 6 mm × 200 mm, 5 μm) was used with a mobile phase of methanol:0. 1% phosphoric acid solution (75: 25). The detect wavelength was 254 nm. **RESULTS** Emodin calibration curve was linear within the range of 0. 017 84 ~ 0. 892 0 μg (*r*=0. 999 9), and the average recovery of Emodin was 97. 48%; Chrysophanol calibration curve was linear within the range of 0. 012 07 ~ 0. 603 6 μg (*r*=0. 999 9), and the average recovery of Chrysophanol was 98. 19%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate. It can be used for quantitative analysis of Dabaidu capsule.

KEY WORDS: HPLC; Dabaidu capsule; Emodin; Chrysophanolin

大败毒胶囊收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十二册,具清血败毒、消肿止痛之功效。由大黄、黄柏、蒲公英、陈皮、白芷等十七味药材组成。大黄为方中君药。其中蒽醌类成分为杀菌败毒的有效成分。但原标准仅收载了大黄、黄柏的薄层色谱鉴别。为更有效的控制药品质量,笔者以大黄素、大黄酚为对照品对君药大黄进行了含量测定。使本品质量标准更加完善。

1 仪器与试药

SH IMADZU LC - 2010A HT高效液相色谱仪 (包括四元梯度泵、紫外检测器、SH IMADZU液相工作站、自动进样器), 大败毒胶囊 (批号 030401、030402、030403) 及处方中的用于制备阴性供试品的药材由秦皇岛岛威药业有限公司提供。

对照品:大黄素、大黄酚(中国药品生物制品检定所提供,批号:0756-200110,0796-200107供含量测定用)。

试剂:甲醇为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Hypersil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸 (75:25), 流速: 1.0 mL · min⁻¹ 检测波长: 254 nm, 柱温为室温, 进样量 10 μL。理论板数按大黄素峰计算应不低于 3 000。

2.2 线性范围考察

精密称取大黄素对照品 (0756 - 200110) 0.011 5 g, 加甲醇溶解并定容至 25 mL, 为大黄素对照品储备液。精密称取大黄酚对照品 (796 - 200107) 0.015 09 g, 加甲醇溶解并定容至 25 mL, 为大黄酚对照品储备液。精密吸取大黄素对照品储备液 10 mL, 大黄酚对照品储备液 5 mL 于 50 mL 量瓶中, 加甲醇

作者简介:赵春晓,男,副主任药师 Tel: (0311)85212008-8045

E-mail: zhaoxiaochun123@126.com

定容至刻度,为对照品 A。精密吸取大黄素对照品溶液 10 mL,大黄酚对照品溶液 5 mL于 500 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,为对照品 B。对照品 B分别进样 2,4,8,10 μ L;对照品 A 分别进样 4,6,10 μ L以进样量 X(μ g)为横坐标,峰面积 Y为纵坐标,得回归方程:大黄素: $Y = -8\,687.362 + 3\,852\,579.146 X$, $r = 0.999\,9$,线性范围为 0.017 84 ~ 0.892 0 μ g;大黄酚: $Y = 2\,270.268 + 5\,037\,268.512 X$, $r = 0.999\,9$,线性范围为 0.012 07 ~ 0.603 6 μ g。

2.3 精密度试验

取对照品 B溶液,连续进样 6次,每次进样 10 μ L,测定峰
表 1 大黄素加样回收率实验结果

Tab 1 Emodin Recovery results

取样量 /g	带入量 /mg	加入量 /mg	测的总量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
2.051 5	0.395 1	0.446 0	0.835 0	0.439 9	98.63	97.48	0.69
2.030 9	0.391 2	0.446 0	0.826 7	0.435 5	97.65		
2.049 8	0.394 8	0.446 0	0.828 2	0.433 4	97.17		
2.035 4	0.392 0	0.446 0	0.827 6	0.435 6	97.67		
2.050 3	0.394 9	0.446 0	0.826 5	0.431 6	96.77		
2.029 9	0.391 0	0.446 0	0.823 6	0.432 6	97.00		

表 2 大黄酚加样回收率实验结果

Tab 2 Chrysophanolin Recovery results

取样量 /g	带入量 /mg	加入量 /mg	测的总量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
2.051 5	0.300 8	0.301 8	0.602 1	0.301 3	99.83	98.19	0.69
2.030 9	0.297 7	0.301 8	0.597 1	0.294 4	99.20		
2.049 8	0.300 5	0.301 8	0.595 7	0.295 2	98.24		
2.035 4	0.298 4	0.301 8	0.595 2	0.296 8	98.34		
2.050 3	0.300 6	0.301 8	0.590 8	0.290 2	96.16		
2.029 9	0.297 6	0.301 8	0.591 5	0.293 9	97.38		

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,每 2 h进样分析一次,结果在 24 h 内大黄素峰面积的 RSD为 0.67%;大黄酚峰面积的 RSD为 0.48%。表明供试品在 24 h内测定结果稳定。

2.7 专属性试验

按处方比例,制备不含大黄的空白样品,按样品测定方法制备阴性对照溶液。结果阴性对照品在与大黄素、大黄酚对应位置上无色谱峰,对大黄测定无干扰。

2.8 样品测定

取本品装量差异项下的内容物约 4 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,充分振摇,超声处理 30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,滤过,精密量取续滤液 25 mL置锥形瓶中,加盐酸 1.5 mL,置水浴中加热水解 1 h,迅速冷却,溶液转移至 50 mL量瓶中,用甲醇分次洗涤容器,洗液转入量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。取上述溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,即得。结果见表 3。

3 讨论

3.1 大黄素和大黄酚显弱酸性,在流动相中加入少量磷酸

面积值,计算。大黄素 RSD=0.19%,大黄酚 RSD=0.15%。

2.4 重复性试验

取同一批号(040301)样品,按“2.8”项下方法重复测定 6次,大黄素平均含量为 0.192 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD=0.93%;大黄酚平均含量为 0.146 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD=0.75%。

2.5 加样回收率试验

精密称取已知含量的大败毒胶囊样品(大黄素含量为 0.192 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,大黄酚含量为 0.146 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 2.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入对照品 B 5 μ L,按“2.8”项下方法试验,计算回收率,结果见表 1,2。

表 3 样品测定结果

Tab 3 Results of sample determination

批号	大黄素和大黄酚总量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
030401	0.348 2
030402	0.355 2
030403	0.352 2

溶液可改善峰形及分离效果,但酸浓度太大对色谱柱会有损害。通过试验发现,选用甲醇-0.1%磷酸溶液(75:25)可以使大黄素、大黄酚与其他成分较好的分离,且不损害色谱柱。故选定此条件。

3.2 在中国药典 2000年版大黄项下采用甲醇提取后蒸干加水水解后三氯甲烷萃取的方法进行含量测定。但此法不但操作较为繁琐,而且因为大黄素和大黄酚对热不稳定,在蒸干时若操作不当容易被破坏造成结果偏低,本实验方法没有蒸干萃取过程,不但操作简便而且保证了结果的重复性。

收稿日期:2006-04-12