

HPLC 测定大黄通气口服液中大黄酸、 大黄素及大黄酚的含量

谢六生, 刘光斌*, 张迅, 姜芳宁, 张宇博
(甘肃省嘉峪关市酒钢医院, 甘肃 嘉峪关 735100)

[摘要] 目的: 建立大黄通气口服液中大黄酸、大黄素及大黄酚的 HPLC 含量测定方法。方法: 采用 Inertsil ODS-SP(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-0.1% 磷酸(72:28), 柱温 25℃, 检测波长 440 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 测定大黄酸、大黄素及大黄酚的线性范围分别为 4.2~50.4 (r=0.999 9), 3.9~46.8 (r=0.999 7), 4.2~50.4 mg·L⁻¹ (r=0.999 9); 平均回收率(n=5) 为 97.68%, RSD 1.09%, 97.36%, RSD 5.9%, 97.27%, RSD 0.97%。结论: 方法简便、结果准确、重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 大黄通气口服液; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0087-03

Determination of Rhein, Emodin and Chrysophanol in Dahuangtongqi Oral Liquid by HPLC

XIE Liu-sheng, LIU Guang-bin*, ZHANG Xun, JIANG Fang-ning, ZHANG Yu-bo
(1. Jiugang Hospital of Gansu, Jiayuguan 735100, China)

[Abstract] Objective: To establish an HPLC method for separation and determination of rhein, emodin and chrysophanol in Dahuangtongqi oral liquid. **Method:** The chromatographic condition was as follows: Inertsil ODS-SP (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column was used with the mobile phase of methanol-0.1% phosphate acid (72:28); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was at 25℃ and detection wavelength was at 440 nm. **Result:** Rhein, emodin and chrysophanol in Dahuangtongqi Oral Liquid were linear in the range of 4.2-50.4 (r=0.999 9), 3.9-46.8 (r=0.999 7), 4.2-50.4 mg·L⁻¹ (r=0.999 9) respectively. The average recovery of rhein, emodin and chrysophanol was 97.68%, 97.36%, 97.27%, respectively. **Conclusion:** This method was simple. The results were accurate and reproducible. It can be used in the quality control of Dahuangtongqi oral liquid.

[Key words] Dahuangtongqi oral liquid; rhein; emodin; chrysophanol

大黄通气口服液为本院临床经验方, 由大黄、火麻仁、陈皮等多味药材组成。主要用于术后腹胀气、功能性消化不良等疾病的治疗。本文对方中君药的有效成分进行了研究, 选择该制剂中主要有效成分大黄酸、大黄素及大黄酚采用高效液相色谱法进行

含量测定。

1 仪器与试剂

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪(日本岛津), 岛津 LC solution 工作站; AUW120D 型电子分析天平(日本岛津, 十万分之一); TU-1221 紫外-可见分光光度计(北京普析通用); AS10200 超声仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

大黄酸(0757-200206)、大黄素(110756-200210)及大黄酚(110796-200310)均购自中国药品生物制品检定所。大黄通气口服液(酒钢医院试生

[收稿日期] 20100310(013)

[第一作者] 谢六生, 副主任药师, E-mail: Exieliusheng@jiugang.com

[通讯作者] * 刘光斌, 临床药学、医院制剂, E-mail: jgyylgb@sina.com

产,批号 20091110,20091112,20091114)。甲醇为色谱醇;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Inertsil ODS-SP(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.1%磷酸(72:28);柱温 25℃;检测波长 440 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹;进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品大黄酸 8.4 mg, 大黄素 7.8 mg 及大黄酚 8.4 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇制成含大黄酸 168.0 mg·L⁻¹; 大黄素 156.0 mg·L⁻¹; 大黄酚 168.0 mg·L⁻¹ 的混合对照品储备液(置冰箱保存)。精密量取对照品储备液 3 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇制成含大黄酸 25.2 mg·L⁻¹; 大黄素 23.4 mg·L⁻¹; 大黄酚 25.2 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 精密量取大黄通气口服液 5 mL, 置具塞锥形瓶中, 加 9% 盐酸 10 mL 超声 10 min, 再加入三氯甲烷 15 mL 超声 20 min, 冷却, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤锥形瓶。酸液用三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并提取液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 阴性对照液制备 取处方量药材(除去大黄)按大黄通气口服液生产工艺同法制备缺大黄的阴性对照样品。按 2.3 项下同法制备阴性对照溶液。

2.5 方法专属性试验 在上述色谱条件下, 取对照品溶液、阴性对照溶液及供试品溶液各 10 μL, 进行 HPLC 测定。结果见图 1。可见供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致, 并且主峰与杂质峰之间均有较好的分离, 而阴性对照溶液在相应位置无干扰峰。

2.6 线性范围考察 精密吸取对照品储备液各 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀即得不同浓度的对照品溶液, 分别吸取 10 μL, 注入高效液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行测定。以峰面积(A)为纵坐标, 对照品质量浓度(C)为横坐标, 进行线性回归。得线性方程为大黄酸 $A = 2.00056 \times 10^7 C - 6071.95$ ($r = 0.9999$); 大黄素 $A = 2.0408 \times 10^7 C - 4903.14$ ($r = 0.9997$); 大黄酚 $A = 3.59272 \times 10^7 C - 7924.7$ ($r = 0.9999$)。结果表明大黄酸在 4.2 ~ 50.4 mg·L⁻¹; 大黄素在 3.9 ~

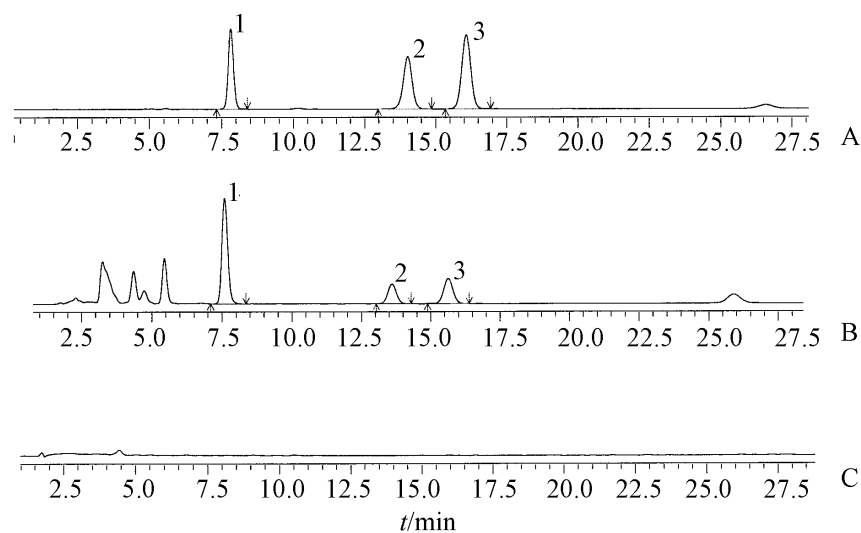


图 1 大黄通气口服液 HPLC 方法专属性考察
A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品
1. 大黄酸; 2. 大黄素; 3. 大黄酚

46.8 mg·L⁻¹; 大黄酚在 4.2 ~ 50.4 mg·L⁻¹ 均具有良好的线性关系。

2.7 精密度试验 取混合对照品溶液, 重复进样 5 次, 每次 10 μL, 混合对照品峰面积的 RSD 分别为大黄酸 0.64%; 大黄素 1.02%; 大黄酚 0.92% ($n = 5$)。均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一批号供试品溶液分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样, 按上述色谱条件测定大黄酸、大黄素、大黄酚的峰面积, 求得 RSD 分别为 0.67%, 1.04%, 0.88% ($n = 6$)。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.9 重复性试验 精密吸取同一批号的大黄通气口服液 5 份, 按样品含量测定方法测定, 结果测得平均含量大黄酸为 90.88 mg·L⁻¹; 大黄素为 21.29 mg·L⁻¹; 大黄酚为 21.87 mg·L⁻¹。RSD 分别为 0.39%, 0.71%, 0.51% ($n = 5$)。

2.10 回收率试验 精密取已知浓度的样品 2 mL (6 份), 分别精密加入混合对照品溶液 2 mL, 按样品含量测定方法依法测定, 结果测得大黄酸、大黄素、大黄酚的平均回收率分别为 97.68%, 97.36%, 97.27%; RSD 分别为 1.09%, 0.59%, 0.97% ($n = 6$), 结果见表 1。

2.11 样品含量测定 取大黄通气口服液 3 批, 按 2.3 供试品制备项下同法操作制备供试品溶液。精密取供试品溶液 10 μL 注入色谱仪, 按外标法计算大黄通气口服液中大黄酸 (C₁₅O₆H₄)、大黄素 (C₁₅O₆H₅)、大黄酚 (C₁₅O₆H₆) 的质量分数。结果见表 2。

表 1 加样回收率 (n=6)

样品	已知含量 / μg	加入量 / μg	测得值 / μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
大黄酸	181.76	50.4	231.16	98.02	97.68	1.09
	181.76	50.4	230.76	97.23		
	181.76	50.4	230.33	96.36		
	181.76	50.4	231.77	99.23		
	181.76	50.4	230.57	96.84		
	181.76	50.4	231.34	98.37		
大黄素	42.58	46.8	88.09	97.25	97.36	0.59
	42.58	46.8	87.99	97.02		
	42.58	46.8	88.29	97.68		
	42.58	46.8	88.54	98.21		
	42.58	46.8	87.76	96.54		
	42.58	46.8	88.20	97.48		
大黄酚	43.74	50.4	93.06	97.86	97.27	0.97
	43.74	50.4	92.79	97.32		
	43.74	50.4	92.13	96.01		
	43.74	50.4	93.29	98.32		
	43.74	50.4	92.24	96.23		
	43.74	50.4	93.06	97.86		

表 2 样品含量测定结果 (n=3)

样品	大黄酸 /mg·L ⁻¹	RSD /%	大黄素 /mg·L ⁻¹	RSD /%	大黄酚 /mg·L ⁻¹	RSD /%
090507	88.09	0.39	23.03	0.71	24.90	0.51
090508	81.09	0.75	24.51	0.53	26.18	0.7
091220	90.88	0.67	21.29	1.21	21.87	0.93

3 小结与讨论

本试验方法使混合对照品及样品中的 3 种有效成分均得到满意的分离。理论板数分别按大黄酸、大黄素及大黄酚峰面积计均大于 8 000。

文献报道, 大黄中蒽醌类成分的含量测定波长有 254, 290, 440 nm 等^[1-3]。考察发现, 本制剂在 254, 290 nm 测定时, 其他成分的干扰较大。在 440 nm 测定时, 分离度完全可以达到要求。

含量测定方法中对加入酸的量、加热、超声时间等分别进行了考察。发现加入 9% 的盐酸溶液 10 mL 较合适。按药典方法^[1] 加热回流提取后出现一些黏性物质影响萃取效果, 且耗时较长。经过考察, 本文样品处理方法已基本达到结合蒽醌水解的目的, 所以测得含量为大黄酸、大黄素、大黄酚及结合型的总和。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 17.
- [2] 薛继雄, 金瓯, 张雪萍, 等. 反相高效液相色谱法测定术后排气口服液中大黄素的含量[J]. 天津药学, 2008, 20(2): 19.
- [3] 张毓红, 宋丽丽, 吕永宁, 等. 高效液相色谱法测定肾衰丸中大黄酸和大黄酚的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(10): 854.

[责任编辑 仝燕]