

HPLC 测定益心康泰胶囊中大黄素大黄酚含量

陈志琦*

(海北州药品检验所, 青海 海北 810200)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定益心康泰胶囊中大黄素、大黄酚含量。方法: 以 Hypersil-ODS2 C₁₈(4.6 mm ×250 mm, 5 μm) 为分析柱, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(80:20), 检测波长为 254 nm, 流速为 1 mL · min⁻¹, 柱温 20 ℃, 进样量 10 μL。结果: 大黄素在 0.04 ~0.80 mg · L⁻¹ 线性关系良好 ($r=1.0000$), 平均回收率为 99.5% (RSD 1.81%); 大黄酚在 0.110 2 ~2.204 mg · L⁻¹ 线性关系良好 ($r=1.0000$), 平均回收率为 99.1% (RSD 1.80%)。结论: 样品处理方法简便, 灵敏度高, 结果准确。

[关键词] 高效液相色谱法; 益心康泰胶囊; 大黄素; 大黄酚

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0088-03

Determination of Emodin and Chrysophanol in Yixin Kangtai Capsule by HPLC

CHEN Zhi-qi*

(Haibei Institute for Drug Control, Qinghai Province Haibei 810200, China)

[Abstract] Objective: To establish a HPLC method for the determination of emodin and chrysophanol in yixinkangtai capsules. **Method:** Hypersil-ODS2 C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used with methanol - 0.1% phosphoric acid (80:20) as mobile phase; the detection wavelength was at 254 nm, flow rate was 1 mL · min⁻¹, column temperature 20 ℃, injection volume was 10 μL. **Result:** The linear range of emodin and chrysophanol was 0.04-0.80 mg · L⁻¹ ($r=1.0000$) and 0.110 2-2.204 mg · L⁻¹ ($r=1.0000$) respectively. The average recovery was 99.5% with RSD 1.81% and 99.1% with RSD 1.80% respectively. **Conclusion:** The sample preparation method is simple, sensitive and accurate.

[Key words] HPLC; Yixin Kangtai capsule; emodin; chrysophanol

益心康泰胶囊由唐古特铁线莲、黄芪、大黄^[1]、多腺悬钩子、锁阳、甘草 6 味中药组成, 具有益气行滞, 化瘀通脉, 通腑降浊之功效的藏成药。用于查隆紊乱所致胸痹心痛, 心悸气短, 倦怠乏力, 大便秘结, 冠心病心绞痛, 高血脂症等, 临床上较为常用。原标准收载于《国家中成药标准汇编内科心系分册》^[2], 规定薄层色谱扫描测定大黄含量, 在实际检验当中操作繁琐、费时, 现采用高效液相色谱法对益心康泰胶囊中大黄素与大黄酚进行总量测定, 并对其方法学进行全面考察和验证。

1 仪器与试剂

Aglient 1100 型高效液相色谱仪, Aglient G1314 VWD 紫外检测器, HP 化学工作站(美国 Aglient 公司); BT224S, CP225D 电子分析天平(北京赛多力斯仪器公司); 超声波清洗器(B2500s-MI, 上海必能信超声波清洗仪有限公司)。大黄素对照品(含量测定用, 批号 110756-200110)、大黄酚对照品(含量测定用, 批号 110796-200412), 均购自中国药品生物制品检定所。益心康泰胶囊(规格为 0.5 g ×20 粒/盒; 青海益欣药业有限责任公司; 批号 06031607, 20050206, 20041208)。甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Hypersil-ODS2 C₁₈ 柱(4.6

[收稿日期] 20100319(004)

[通讯作者] * 陈志琦, Tel: 0970-8647363, E-mail: chen_zhiqi700325@

163.com

mm ×250 mm, 5 μm); 柱温 20 ; 流动相甲醇-0.1% 磷酸(80:20); 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 254 nm; 进样量 10 μL; 理论板数按大黄素峰计算, 应不低于 3 000; 大黄素与大黄酚的分离度应符合要求。

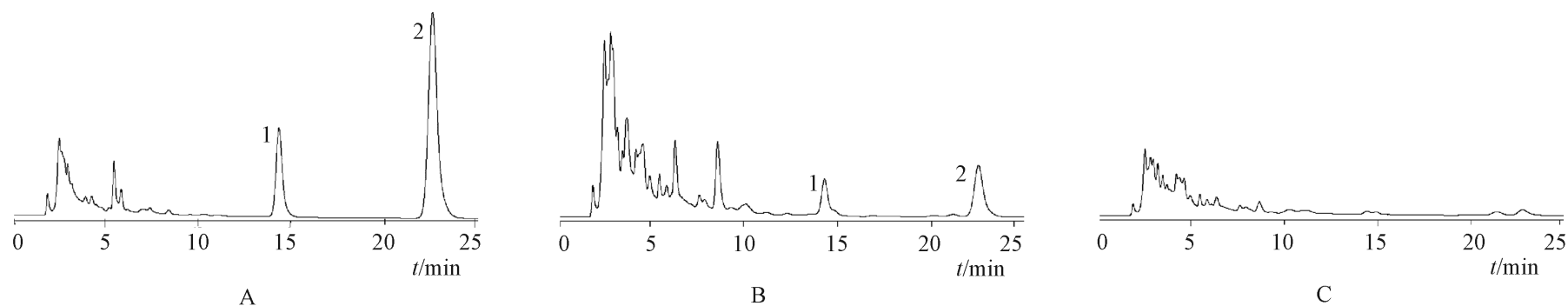
2.2 对照品溶液的制备 取大黄素、大黄酚对照品适量, 精密称定, 置量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含大黄素 20 μg、大黄酚 55 μg 的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品胶囊内容物 0.5 g 精密称定, 置 250 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定重量, 加热回流 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 置 100 mL 锥形瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸液 10 mL, 超声处理 2 min(50 Hz, 120 W), 再加三氯甲烷

10 mL, 加热回流 1h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 3 次, 每次约 10 mL, 合并三氯甲烷液, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.4 阴性对照溶液制备 按处方比例除去大黄, 制成阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法制备, 即得。

2.5 干扰试验 精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 10 μL, 在上述色谱条件下分别进样, 记录色谱图。结果与对照品溶液色谱图相比较, 供试品溶液在相应位置上有大黄素、大黄酚色谱峰且分离完全, 而阴性对照溶液在相应位置上无干扰峰。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 大黄素; 2. 大黄酚

图 1 益心康泰胶囊高效液相色谱图

2.6 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液 2, 10, 20, 30, 40 μL, 直接进样, 记录峰面积。以峰面积(A)对进样浓度(C)作线性回归, 得大黄素回归方程为 $A=36.526 C-0.6727$ ($r=1.000 0$); 大黄酚回归方程为 $A=142.88 C-1.8583$ ($r=1.000 0$), 结果表明其大黄素在 $0.04 \sim 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、大黄酚在 $0.1102 \sim 2.204 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.7 精密度试验 取对照品溶液按上述色谱条件重复进样 5 次, 结果大黄素、大黄酚峰面积的 RSD 分别为 0.22%, 0.24%, 表明精密度良好。

2.8 重复性试验 取同一批样品(06031607) 5 份, 按上述方法和色谱条件制成供试品溶液并测定, 计算大黄素和大黄酚的总含量, RSD 为 1.74%, 表明重复性良好。

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12 h 在上述色谱条件下进样, 结果大黄素、大黄酚峰面积的 RSD 为 0.92%, 0.95%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.10 回收率试验 取同一批次已知含量的样品约 0.26 g, 精密称定, 共取 6 份, 分别精密加入大黄素

($0.315 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 与大黄酚($0.912 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对照品混合溶液 1 mL, 按上述方法和色谱条件制成供试品溶液并测定, 分别计算回收率。结果见表 1, 表 2。

表 1 大黄素加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.288 8	0.335 0	0.315	0.644 7	98.32	99.5	1.81
2	0.284 6	0.330 1	0.315	0.636 8	97.37		
3	0.277 9	0.322 4	0.315	0.633 2	98.67		
4	0.295 3	0.342 5	0.315	0.656 7	99.75		
5	0.272 5	0.316 1	0.315	0.633 3	100.70		
6	0.269 9	0.313 1	0.315	0.635 5	102.35		

表 2 大黄酚加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.2888	0.6024	0.912	1.5174	100.33	99.1	1.80
2	0.2846	0.5937	0.912	1.4952	98.85		
3	0.2779	0.5797	0.912	1.4891	99.71		
4	0.2953	0.6160	0.912	1.5423	101.57		
5	0.2725	0.5684	0.912	1.4529	96.98		
6	0.2699	0.5630	0.912	1.4499	97.25		

2.11 样品测定 取 3 批样品,用供试品溶液制备方法制备,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,依上述色谱条件测定,按外标法以峰面积计算大黄素与大黄酚的总含量,结果 3 批样品分别为 1.73, 1.67, 1.71 mg/粒。

3 讨论

试验对供试品溶液制备中甲醇不同时间提取率、8% 盐酸-三氯甲烷液不同时间提取率和三氯甲烷不同次数提取率分别进行考察,结果用甲醇回流 30 min、8% 盐酸-三氯甲烷液回流 1h 三氯甲烷提取 3 次时提取完全。采用高效液相色谱法测定益心康

泰胶囊中大黄素与大黄酚总含量,样品处理方法简便,重现性好,阴性无干扰,可作为该制剂新的质量控制方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 17.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 国家中成药标准汇编[S]. 内科心系分册, 2002: 290.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 87 页)

的物理化学性质,考察了多种提取溶剂,结果表明乙腈提取效果较好,且阴性无干扰,故采用乙腈提取。

曾比较了乙腈-水(30 70)、甲醇-水(45 55)、甲醇-水(55 45)和乙腈-水(45 55)的分离效果,结果以乙腈-水(45 55)的分离效果较为理想,故确定为流动相。

苜基丙酮的沸点为 235 ~237 ,具有一定的挥发性,虽可采用水蒸气蒸馏法进行提取,但提取时间较长,一般在 4 h 以上^[4]。本试验采用乙腈超声提取,样品制备时间短,并可提取完全。

采用高效液相色谱法,以烈香杜鹃有效成分苜基丙酮为指标性成分,可有效的控制烈香杜鹃油滴丸的质量,且该方法重复性好,操作简便、灵敏、准确。

[参考文献]

- [1] 杨永昌,何延农,卢生莲,等. 藏药志[M]. 北京: 人民军医出版社, 1996.
- [2] 党月兰,李淑玉,张玉珠. 4-苜基丁酮-2 对离体平滑肌的影响[J]. 中国药理学通报, 1989, 5(5): 321.
- [3] 董钰明,唐兴文,张树江,等. 烈香杜鹃叶挥发油化学成分的 GC/MS 研究[J]. 兰州医学院学报, 2003, 29(3): 15.
- [4] 秦战勇,周玉新,杜树山,等. 黄花杜鹃油滴丸中苜基丙酮的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(14): 1865.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国中药杂志》2010 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1995 年 7 月,是创早最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、科研院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2010 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11 - 2272/R,国际刊号 1101 - 5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjcmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询 010 - 64045830 转 602;主任电话 010 - 64058556;资源与栽培栏编辑:010 - 64048925;制剂栏编辑:010 - 64040392;化学栏编辑:010 - 64040113;药理栏编辑:010 - 84022522;临床栏编辑:010 - 64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010 - 64030625。