

炎可宁片中大黄 5 种蒽醌类成分的含量测定

尹永芹, 严优芍, 沈志滨*, 崔红花, 房翠婷
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立同时测定炎可宁片中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量的高效液相色谱法。方法: 色谱柱 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇(A)-0.1% 的磷酸水(B)溶液, 采用梯度洗脱, 0~10 min, 75%~85% A, 10~20 min, 85%~90% A; 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 254 nm。结果: 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚分别在 0.016 0~0.096 0 μg, 0.012 0~0.072 0 μg, 0.016 0~0.096 0 μg, 0.036 4~0.218 4 μg, 0.015 6~0.093 6 μg 与峰面积呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 96.6% (RSD 0.76%, n=5)、97.2% (RSD 1.35%, n=5)、96.9% (RSD 1.57%, n=5)、98.1% (RSD 1.25%, n=5) 和 96.2% (RSD 0.62%, n=5)。结论: 本方法快速简便, 专属性强, 可作为炎可宁片质量控制方法之一。

[关键词] 炎可宁片; 大黄; 蒽醌; 高效液相色谱法

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0122-03

Determination the Five Kinds of Rhubarb Anthraquinones in Yankening Tablets by HPLC

YIN Yong-qin, YAN You-shao, SHEN Zhi-bin*, CUI Hong-hua, FANG Cui-ting
(College of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University,
Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion in Yankening Tablets by HPLC. **Method:** Using Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the methanol(A)-0.1% phosphoric acid (B) was used as the mobile phase. Using gradient elution, 0~10 min, 75%~85% A, 10~20 min, 85%~90% A. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 25 °C and the detection wavelength was 254 nm. **Result:** The linearity of this method were for 0.016 - 0.0960 mg, 0.120 - 0.072 0 μg for rhein, 0.016 0 - 0.096 0 μg for emodin, 0.036 4 - 0.218 4 μg for chrysophanol, 0.015 6 - 0.093 6 μg for physcion. There coveries of aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion were 96.6%, 97.2%, 96.9%, 98.1% and 96.2%. RSD were 0.76% (n=5), 1.35% (n=5), 1.57% (n=5), 1.25% (n=5) and 0.62% (n=5), respectively. **Conclusion:** This method was rapid, accurate and can be used as one kind of Yankening Tablets' quality control method.

[Key words] Yankening Tablets; rhubarb; anthraquinones; HPLC

炎可宁片由黄柏、大黄、黄芩、板蓝根和黄连 5 味药组成, 有清热泻火, 消炎止痢的功效^[1]。大黄作

为主要组成药物, 蒽醌类成分为主要有效成分, 目前往往只是测定其中一种成分的含量, 不利于对产品进行科学全面的评价。故本研究选择同时测定大黄中的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 5 种蒽醌类成分, 以便更全面、更方便地控制药品质量, 保证用药安全。

[收稿日期] 2009-11-30

[基金项目] 广东省中医药管理局科研基金(2009248)

[通讯作者] * 沈志滨, Tel: (020) 39352179, E-mail: szb8113@yahoo.com.cn

1 仪器与试剂

Waters 2695 型高效液相色谱仪、赛多利斯-sartorius/BP211D 电子天平、岛津-AY120 电子天平、TC-15 套式恒温器、RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、DL-180A 超声波清洗器(上海文信仪器有限公司)。

炎可宁片(自制, No. 1, 2, 3); 芦荟大黄素对照品(批号 110795-200504)、大黄酸对照品(批号 0757-200206)、大黄素对照品(批号 0756-200110)、大黄酚对照品(批号 110796-200513)和大黄素甲醚对照品(批号 110758-200610), 均购自中国药品生物制品检定所; MERCK 色谱甲醇; 水为屈臣氏蒸馏水; 磷酸为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇(A)-0.1% 的磷酸水(B)溶液, 采用梯度洗脱, 0~10 min, 75%~85% A, 10~20 min, 85%~90% A; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 254 nm^[2]; 柱温 25 °C; 进样量 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解, 配制成质量浓度分别为 0.016 0, 0.012 0, 0.016 0, 0.036 4, 0.015 6 mg · mL⁻¹ 的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液各 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 即为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 参照 2005 年版药典中大黄药材的含量测定方法, 取自制编号为 1、2、3 的炎可宁片各 10 片, 除去糖衣, 研成细粉。称取约 0.2 g 细粉, 精密称定。置 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 5 min, 再加三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置 100 mL 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 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 5 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀即得。

2.3 线性关系考察 分别取对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL 进样分析。以进样量 X 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行线性回归。如下: 大黄素 $Y = 6\ 260.8X - 8\ 787.9, r = 0.999\ 5$; 大黄酸 $Y = 5\ 189.2X - 1\ 783.6, r = 0.999\ 1$; 芦荟大黄素 $Y = 12\ 083\ X - 9\ 612.1, r = 0.999\ 7$; 大黄酚 $Y = 24\ 400\ X - 23\ 258, r = 0.999\ 6$; 大黄素甲醚 $Y = 8\ 633.8X - 8\ 338.9, r = 0.998\ 6$ 。结果表明, 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚分别在 0.016 0 ~ 0.096 0 μg, 0.012 0 ~ 0.072 0 μg, 0.016 0 ~ 0.096 0 μg, 0.036 4 ~ 0.218 4 μg, 0.015 6 ~ 0.093 6 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取对照品溶液, 按上述色谱条件进样分析, 重复进样 5 次, 测定峰面积。实验结果表明: 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 均小于 2%, 精密度良好。

2.5 重复性试验 取同一批(No. 1)样品 5 份, 精密称定, 按 2.2.2 项方法制备样品溶液, 按上述色谱条件进样分析, 测定峰面积。实验结果表明: 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 均小于 2%, 说明此方法的重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于开机平衡好柱子后的 0, 2, 4, 6, 8 h 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果供试品溶液在配制后 8 h 内, 大黄素峰面积 RSD 为 1.34%。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的供试品粉末 6 份, 每份约 0.1 g, 精密称定。每份各精密加入 1 mL 的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品储备液, 按 2.2.2 项方法制备样品溶液并进样分析, 按下式计算回收率: 回收率(%) = (测得值 - 样品中所含被测成分量) / 加入对照品量 × 100%。按上述方法测定, 计算回收率, 见表 1。

表 1 加样回收率试验 (n=6)

对照品	含有量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
芦荟大黄素	0.795 0	1.596 2	100.2	100.1	0.27
	0.795 2	1.598 8	100.5		
	0.803 1	1.601 1	99.8		
	0.806 5	1.604 6	99.8		
	0.799 6	1.600 8	100.2		
	0.794 4	1.595 8	100.2		

续表 1

对照品	含有量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 值/%	RSD /%
大黄酸	0.626 8	1.247 9	100.2	98.7	0.81
	0.623 6	1.231 5	98.0		
	0.631 2	1.239 9	98.2		
	0.623 6	1.233 1	98.3		
	0.621 9	1.236 1	99.1		
	0.626 6	1.237 2	98.5		
大黄素	0.935 2	1.874 6	101.0	100.3	1.39
	0.935 4	1.877 1	101.3		
	0.936 0	1.883 1	101.8		
	0.931 2	1.855 7	99.4		
	0.932 8	1.863 2	100.0		
	0.934 2	1.845 9	98.0		
大黄酚	1.918 2	3.845 3	100.4	99.1	0.65
	1.918 8	3.817 6	98.9		
	1.910 8	3.809 6	98.9		
	1.912 2	3.807 6	98.7		
	1.910 6	3.807 5	98.8		
	1.914 3	3.809 8	98.7		
大黄素甲醚	0.268 5	0.534 1	98.4	98.5	0.87
	0.268 8	0.535 4	98.7		
	0.267 8	0.536 5	99.5		
	0.269 0	0.531 2	97.1		
	0.269 3	0.537 2	99.2		
	0.269 7	0.534 7	98.1		

注:加入量分别为芦荟大黄素0.800 0 mg;大黄酸0.620 0 mg;大黄素0.930 0 mg;大黄酚1.920 0 mg;大黄素甲醚0.270 0 mg。

2.8 样品测定 分别称取 3 个编号的样品约 0.2 g,精密称定,按 2.2.2 项方法制备样品溶液,按上述色谱条件进样分析。用标准曲线法计算含量,结果见表 2。

表 2 炎可宁片中 5 种蒽醌成分含量测定 /mg/片

No.	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄甲醚
1	0.158 2	0.128 8	0.186 0	0.377 8	0.053 0
2	0.159 5	0.123 6	0.187 2	0.384 1	0.053 9
3	0.159 4	0.123 7	0.1878	0.384 1	0.054 2

3 讨论

《中国药典》记载大黄具有泻热通便,凉血解毒,逐瘀通经的功效,用于实热便秘,积滞腹痛,血热吐衄,目赤,咽肿,肠痈腹痛,痈肿疔疮等症^[3]。炎可宁片处方已清热消炎为主要功效,因此大黄作为制剂功能主治的重要组成部分。大黄 5 种蒽醌类成分是其有效成分,因此综合 5 个指标的含量更好的控制炎可宁片的质量。实验结果显示,HPLC 法测定炎可宁片中大黄 5 种蒽醌成分的方法简便、准确、重现性好,可为本品的质量控制提供依据。

[参考文献]

- [1] WS3-B-1368-93,卫生部药品标准中药成方制剂[S].第七册.1993:104.
- [2] 王洪志,范俊婷,刘勇,等. HPLC 法测定清胰片中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(9):13.
- [3] 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.

[责任编辑 仝燕]