

RP-HPLC 法测定舒筋定痛片中大黄素和大黄酚的含量

王苏静, 赵新杰*
(河南省洛正制药厂, 河南 洛阳 471013)

[摘要] 目的: 建立舒筋定痛片中大黄素和大黄酚的高效液相含量测定方法。方法: 采用 Apollo C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-0.1% 磷酸溶液(85: 15)为流动相, 检测波长为 290 nm。结果: 大黄素在 0.019 4~ 0.058 2 μg 进样量范围内线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率为 96.74%, RSD 为 1.99%; 大黄酚在 0.055 1~ 0.165 μg 进样量范围内线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率为 99.02%, RSD 为 2.48%。结论: 该方法简单, 重复性好, 可用于舒筋定痛片的质量控制。

[关键词] 舒筋定痛片; 反相高效液相色谱法; 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(2009)10-0034-02

舒筋定痛片是我厂研制的中药新制剂, 由大黄、当归、红花等 9 味中药组成, 具有活血散瘀、消肿止痛的作用, 用于跌打损伤、慢性腰腿疼、风湿痹疼等症。大黄素和大黄酚是大黄中的指标性成分, 为了更好地控制产品质量, 本文建立了反相高效液相色谱法测量舒筋定痛片中大黄素和大黄酚含量的方法, 结果满意, 现报导如下。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津): LC-10ATvP 泵, SPD-10AvP 紫外检测器, ANASTAR 色谱工作站。大黄素和大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 批号分别为: 110756-200210、110796-200309)。舒筋定痛片(河南省洛正制药厂生产)。甲醇、磷酸为色谱纯, 其它为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Apollo C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(85: 15); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 290 nm; 进样量: 10 μL。在上述色谱条件下, 大黄素和大黄酚能达到基线分离, 理论板数按大黄素峰计算, 应不低于 3000。对照品、供试品及阴性样品的色谱图分别见图 1, 2, 3。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄素、大黄酚对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含大黄素 3 μg、大黄酚 9 μg 的混合溶液, 即得(每 1 mL 中含大黄素 3.232 μg、

大黄酚 9.184 μg)。

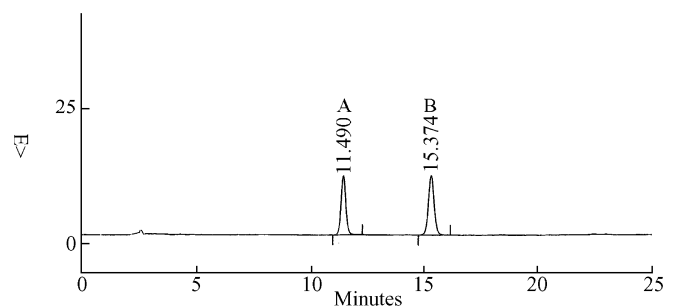


图 1 对照品色谱图(A、大黄素 B、大黄酚)

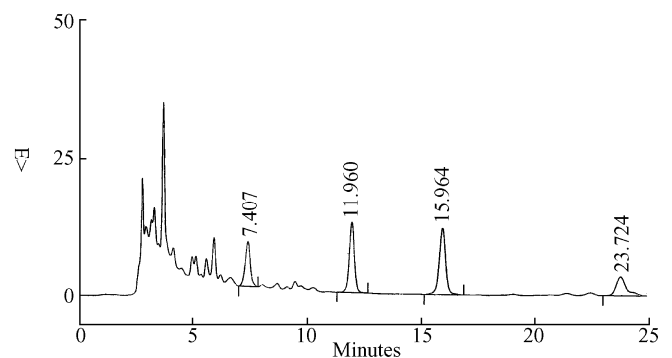


图 2 供试品色谱图

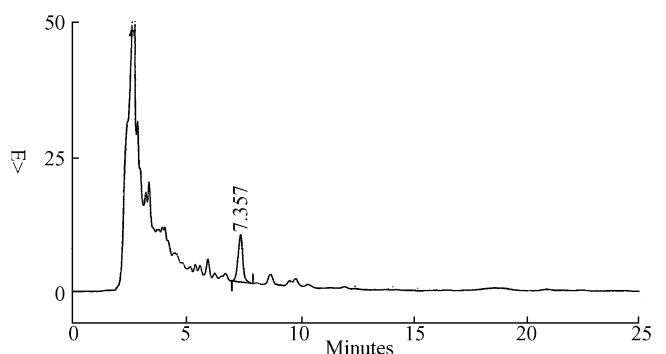


图 3 阴性样品色谱图

[收稿日期] 2008-12-22

[通讯作者] * 赵新杰, Tel: (0379) 63789225; E-mail: zxjzsq@

163.com

2.3 供试品溶液的制备 取本品, 除去包衣, 研细, 取 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸 10 mL、三氯甲烷 20 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 分取三氯甲烷层, 水层再用等量三氯甲烷振摇提取 3 次, 合并三氯甲烷液, 用水 50 mL 洗涤, 分取三氯甲烷层, 蒸干, 残渣用甲醇溶解并定容于 25 mL 量瓶中, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 6, 9, 12, 15, 18 μL , 按已拟定的色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 大黄素、大黄酚的含量 (μg) 为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程: 大黄素: $Y = 4.96 \times 10^6 X - 2.99 \times 10^3$, $r = 0.9999$; 大黄酚: $Y = 2.09 \times 10^6 X - 1.15 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明: 大黄素进样量在 0.019 4~0.058 2 μg 、大黄酚进样量在 0.055 1~0.165 μg 范围内, 与峰面积积分值线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 连续进样 5 次, 测定峰面积, 大黄素的平均峰面积为 184 344, RSD 为 1.4%; 大黄酚的平均峰面积为 215 923, RSD 为 1.11%。结果表明: 仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 10 μL , 测定, 大黄素的平均峰面积为 184 384, RSD 为 0.81%; 大黄酚的平均峰面积为 203 514, RSD 为 0.85%。结果表明: 供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取同一批号样品 5 份, 按照 2.3 项下方法, 制成供试品溶液, 按拟定的色谱条件测定, 计算得大黄素平均含量为 $0.360 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.1%; 大黄酚平均含量为 $0.961 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 0.87%。结果表明: 本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的同批样品 5 份, 去除包衣后, 研细, 每份精密称取约 0.15 g, 置锥形瓶中, 加 $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸溶液 10 mL、三氯甲烷 20 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 分别加已配制好的大黄素对照品溶液 ($0.010 464 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 5 mL, 大黄酚对照品溶液 ($0.295 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.5 mL, 分取三氯甲烷层, 按照 2.3 项下方法, 制成供试品溶液, 按拟定的色谱条件测定, 计算回收率。结果见表 1、表 2。

表 1 大黄素回收率测定结果

| 编号 | 称样量 (g) | 样品含量 (mg) | 添加大黄素量 (mg) | 实测大黄素量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|---------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|---------|
| 1 | 0.151 6 | 0.053 97 | 0.052 32 | 0.102 | 91.78 | | |
| 2 | 0.152 0 | 0.054 11 | 0.052 32 | 0.104 | 95.33 | | |
| 3 | 0.151 3 | 0.053 86 | 0.052 32 | 0.105 | 97.50 | 96.74 | 1.99 |
| 4 | 0.152 3 | 0.054 22 | 0.052 32 | 0.107 | 101.41 | | |
| 5 | 0.151 8 | 0.054 04 | 0.052 32 | 0.105 | 97.69 | | |

表 2 大黄酚回收率测定结果

| 编号 | 称样量 (g) | 样品含量 (mg) | 添加大黄酚量 (mg) | 实测大黄酚量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|---------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|---------|
| 1 | 0.151 6 | 0.148 3 | 0.147 5 | 0.290 | 96.16 | | |
| 2 | 0.152 0 | 0.148 7 | 0.147 5 | 0.298 | 100.92 | | |
| 3 | 0.151 3 | 0.148 0 | 0.147 5 | 0.291 | 96.92 | 99.02 | 2.48 |
| 4 | 0.152 3 | 0.148 9 | 0.147 5 | 0.300 | 102.71 | | |
| 5 | 0.151 8 | 0.148 5 | 0.147 5 | 0.294 | 98.39 | | |

2.9 样品测定 按上述方法测定 3 批样品, 以大黄素和大黄酚的总量计, 结果分别为 0.333, 0.323, 0.334 mg/片。

3 讨论

在 200~400 nm 的波长范围内进行光谱扫描, 大黄素和大黄酚在 290 nm 附近均有最大吸收, 故选择 290 nm 作为本品的检测波长。

参照有关文献^[1]的色谱条件, 以甲醇-0.1% 磷酸溶液 (85:15) 为流动相, 色谱峰峰形对称, 分离良好, 出峰时间适宜。

大黄中的大黄素和大黄酚为蒽醌类化合物, 除少量游离外, 多数以苷的形式存在^[2], 为了准确测定其含量, 常采用三氯甲烷回流酸水解提取法^[3]。供试品溶液的制备采用本文方法, 可满足回收率测定的要求。

[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: 18.
- [2] 匡海学. 中药化学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 94-95.
- [3] 魏玉辉, 武新安, 陈 岚, 等. 大黄蒽醌类成分含量测定方法实验研究[J]. 兰州大学学报, 2005, 31(1): 13-15.