

# HPLC 同时测定桑龙利肝颗粒中大黄素和大黄酚的含量

江维克<sup>1\*</sup>, 周涛<sup>1</sup>, 李玲<sup>2</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵州 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 建立桑龙利肝颗粒中 2 种蒽醌类成分同时用高效液相色谱测定的方法。方法: 采用 XB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1% 磷酸溶液 (81.5: 18.5) 为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 254 nm, 柱温为 30 °C。结果: 大黄素和大黄酚分别在 5.152~ 103.0 ng 和 40.08~ 801.6 ng 内呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 101.8% 和 101.7%。结论: 本方法简便、重复性好, 可作为桑龙利肝颗粒含量控制方法。

[关键词] 桑龙利肝颗粒; 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(2008)12-0009-03

## Determination of Emodin and Chrysophanol in Sanglongligan Granule by RP-HPLC

JIANG Wei-ke<sup>1\*</sup>, ZHOU Tao<sup>1</sup>, LI Ling<sup>2</sup>

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. First Affiliated Hospital of Guiyang College of TCM, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of emodin and chrysophanol in Sanglongligan granule. **Methods:** The samples were separated at 30 °C on an XB-C<sub>18</sub> column with methanol-0.1% phosphoric acid (81.5: 18.5) as mobile phase. Flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was set at 254 nm. **Results:** The calibration curves of modin and chrysophanol were linear in the range of 5.15~ 103.0 ng, 40.08~ 801.6 ng and the average recoveries were 101.8% and 101.7%, respectively. **Conclusion:** The method was reliable, accurate and specific. It could be used for the quality control of Sanglongligan granule.

[Key words] Sanglongligan granule; HPLC; modin; chrysophanol

桑龙利肝颗粒由枸杞子、黄芪、桑椹子、茯苓、茵陈、南五味子、大黄、大枣、龙胆草等制成的中药复方制剂<sup>[1]</sup>。由于本品药味较多, 成分复杂, 目前对该产品含量测定的报道中, 均以大黄素的量为指标。为了进一步有效控制产品质量, 参照相关资料<sup>[2]</sup>, 本文采用高效液相色谱法同时测定组方中大黄的大黄素和大黄酚含量, 获得满意效果, 为完善制剂的质量标准提供了快速、简便、准确的测定方法。

### 1 材料

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪(日本岛津 10A): 岛津 LC-10A<sub>TVP</sub> 输液泵, SPD-10A<sub>VP</sub> 紫外检测器, CS-Light (2.00.00sub 版) 岛津中文版工作站, HT-230A 色谱柱恒温箱, 岛津 UV-1700 型紫外可见分光光度计; CH-250 型超声波清洗器(北京创新德超声电子研究所); 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); 岛津 AUW220 型(分度值 0.01 mg) 电子天平。

大黄素对照品(供含量测定用, 购于中国药品生物制品检定所, 批号: 0756-200211), 大黄酚对照品(供含量测定用, 购于中国药品生物制品检定所, 批号: 110796-200310), 甲醇为色谱纯(美国 TEDIA 公司), 水为重蒸馏水; 桑龙利肝颗粒由贵州家诚药业

[收稿日期] 2008-04-08

[通讯作者] \* 江维克, Tel: (0851) 6741501; E-mail: jwk88@163.

com

有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

**2.1.1 大黄素储备液的配置** 精密称取大黄素对照品 12.88 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取该大黄素对照品溶液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得大黄素对照品储备液(每 1 mL 含大黄素的量为 25.76  $\mu\text{g}$ )。

**2.1.2 大黄酚储备液的配置** 精密称取大黄酚对照品 10.02 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得大黄酚对照品储备液(每 1 mL 含大黄酚的量为 0.2004 mg)。

**2.1.3 大黄素和大黄酚对照品混合液的配置** 精密吸取大黄素和大黄酚对照品储备液各 5 mL, 置同一 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得大黄素和大黄酚对照品混合液(浓度分别为每 1 mL 含大黄素的量为 2.576  $\mu\text{g}$ 、每 1 mL 含大黄酚的量为 20.04  $\mu\text{g}$ )。

**2.2 供试品溶液的制备** 取装量差异下本品内容物, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 回流提取 60 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 置 50 mL 平底烧瓶中, 挥干, 残渣加稀盐酸 10 mL, 超声处理 5 min(250 W 50 KHz), 加入氯仿 20 mL 回流提取 30 min, 取出, 放冷, 移至分液漏斗中, 用少量氯仿洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取氯仿液, 酸液用氯仿提取 3 次, 每次 10 mL, 合并氯仿液, 挥干, 残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 用微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.3 色谱条件** Ultimate™ XB- C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 柱号: 210501576), 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(81.5: 18.5), 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 理论板数按大黄素峰计应不低于 5 000。在此条件下大黄素和大黄酚峰与其他峰完全分离, 阴性对照液无影响(图 1)。

### 2.4 线性关系考察

**2.4.1 大黄素线性关系考察** 分别吸取大黄素对照品储备液(25.76  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 分别制成 0.515 2、1.030 4、1.545 6、2.060 8、2.576 0、5.152、7.728、10.302  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液; 各吸取 10  $\mu\text{L}$  注入色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 进样

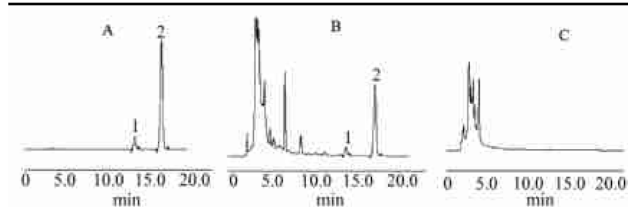


图 1 桑龙利肝颗粒 HPLC 图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 大黄素; 2. 大黄酚  
量(ng)为横坐标绘制标准曲线, 得大黄素回归方程  $Y = 4\ 060X - 335$ ,  $r = 0.999\ 9$ ; 表明大黄素在 5.15~103 ng 范围内具有良好的线性关系。

**2.4.2 大黄素线性关系考察** 分别吸取大黄酚对照品储备液(0.2004 mg·mL<sup>-1</sup>) 分别制成 4.008 0、8.016 0、12.024、16.032 0、20.04、40.08、60.12、80.16  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液; 各吸取 10  $\mu\text{L}$  注入色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量(ng)为横坐标绘制标准曲线, 得大黄酚回归方程  $Y = 5\ 160X - 8\ 410$ ,  $r = 0.999\ 9$ ; 表明大黄酚在 40.08~802 ng 范围内具有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 取供试品溶液, 连续重复进样 5 次, 每次 10  $\mu\text{L}$ , 大黄素峰面积 RSD 0.03%, 大黄酚峰面积 RSD 0.34%, 表明精密度良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取样品细粉 5 份, 每份约 5.0 g, 制备供试品溶液, 分别吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  注入色谱仪中测定含量, 大黄素含量 RSD 0.23%, 大黄酚含量 RSD 0.15%, 表明本法的重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 取供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 h, 吸取 10  $\mu\text{L}$  注入色谱仪中测定峰面积, 大黄素峰面积 RSD 0.065%, 大黄酚峰面积 RSD 0.025%, 表明供试品溶液在室温下 10 h 内稳定性良好。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的样品粉末(大黄素含量  $9.5 \times 10^{-4}\%$ , 大黄酚含量  $7.3 \times 10^{-3}\%$ ) 6 份, 每份 2.5 g。于具塞锥形瓶中, 分别加入大黄素(浓度 2.576  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和大黄酚(浓度 20.04  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 对照品适量, 按供试品制备方法制备, 进样, 测定, 并计算含量, 结果大黄素回收率为 100.4%, RSD 0.92%, 大黄酚回收率为 101.8%, RSD 1.4%, 结果见表 1。

**2.9 样品测定** 分别取 4 批桑龙利肝颗粒适量, 精密称定质量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 并按 2.3 项下色谱条件进样测定, 按外标一点法计算样品含量, 结果见表 2。

表 1 回收率试验结果

称样量 (g)	大黄素				大黄酚			
	加入量 (mg)	测出量 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)	加入量 (mg)	测出量 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
2.500 1		0.049 88	101.4		0.386 1	101.8		
2.500 8		0.049 87	101.3		0.386 2	101.8		
2.499 8	0.025 76	0.049 37	99.5	0.92	0.200 4	0.391 4	104.5	1.4
2.500 3		0.049 67	100.6			0.383 3	100.4	
2.501 3		0.049 65	100.5		0.385 7	101.5		
2.500 0		0.049 31	99.2		0.384 6	101.1		

表 2 桑龙利肝颗粒中大黄素和大黄酚的测定结果( $n=4$ )

批号	大黄素( $\text{mg}\cdot\text{袋}^{-1}$ )	大黄酚( $\text{mg}\cdot\text{袋}^{-1}$ )
20061001	0.076	0.585
20061002	0.075	0.582
20061003	0.080	0.587
20061004	0.076	0.586

### 3 讨论

试验中我们对制剂中的多味药材进行了综合考

察,最后选择建立大黄中大黄素和大黄酚的含量测定,对其进行了色谱条件选择、供试品溶液制备、线性关系考察、精密度考察、重复性试验、稳定性试验、加样回收试验等方法学的研究,确立了本含测方法。

在实验中用回流提取、超声提取等多种提取方法进行了试验,在流动相上比较了甲醇-0.1%磷酸溶液不同比例,结果以甲醇-0.1%磷酸溶液(81.5:18.5)作流动相较果较好,保留时间适当,大黄素和大黄酚峰与其它杂质峰能较好分离。

从色谱图看,经精密度、稳定性、重复性、回收率试验,表明本法操作较为简单,准确性、重复性好,可作为桑龙利肝颗粒的含量测定方法。

### [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 国家中成药标准汇编[S]. 内科肝系分册, 2002. 165.
- [2] 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. 403.