

HPLC法测定复方大黄利胆片中大黄素、大黄酚的含量

刘善新^{1*}, 马毅², 钟方晓¹, 靳光乾¹

(1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东轻工业学院, 山东 济南 250300)

[摘要] 目的: 建立复方大黄利胆片含量测定方法。方法: 采用HPLC法测定方中大黄素、大黄酚的含量。结果: 大黄素在(0.041 2~0.206 0) μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为97.17%, RSD为1.03%, 大黄酚在(0.081 76~0.408 8) μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为97.37%, RSD为1.28%。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂含量测定方法。

[关键词] 复方大黄利胆片; 大黄素; 大黄酚; 含量测定; 高效液相法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)12-0013-02

复方大黄利胆片是由大黄、金银花、柴胡等中药经提取制备而成, 具有清热利湿、解毒退黄作用。用于肝胆湿热所致的胁痛、口苦、食欲不振等症。为了控制本品质量, 参考《中国药典》一部, 大黄项下的含量测定方法^[1], 采用高效液相法测定了方中的君药大黄的有效成分大黄素、大黄酚的含量, 并对方法学进行了考察。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国water公司600), 检测器为waters 996 二级管阵列检测器, 泵waters 600, 控制器为waters600, 数据处理器为waters M³²工作站。色谱柱为LichrospherC18柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 超纯水(Millipore公司纯水器), 所用甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯, 大黄素、大黄酚对照品购于中

国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号分别为0756-200211、0796-200310。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: LichrospherC18柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液(85:15), 流速: 1 mL \cdot min⁻¹ 检测波长 254 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。理论塔板数按大黄素峰计算不低于3 000。保留时间大黄素约5 min, 大黄酚约8 min, 用外标法测定。

2.2 大黄素、大黄酚混合对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品5.15 mg, 大黄酚对照品5.11 mg分别置50 mL量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液; 再精密吸取大黄素溶液2 mL, 大黄酚溶液4 mL于同一25 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品10片, 除去薄膜衣, 研细, 取0.5 g, 精密称定, 加入甲醇25 mL, 称定重量, 超声处理20 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液5 mL置烧瓶中, 50

[收稿日期] 2007-03-22

[通讯作者] * 刘善新, Tel: (0531) 82949812; E-mail:

liushanxin66@163.com

℃减压回收甲醇,加 8% 盐酸溶液 10 mL,超声处理 2 min,再加三氯甲烷 10 mL,加热回流 1 h,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 10 mL,合并三氯甲烷液,50 ℃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,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 缺大黄空白液的制备 按处方比例,准确称取除大黄以外的其它药材,模拟本品的制备工艺和供试品的制备方法,制成缺大黄空白溶液 10 mL。

2.5 空白干扰试验 取供试液、大黄素、大黄酚的混合对照液和缺大黄空白液,各进样 10 μL,结果表明大黄素、大黄酚对照液和供试品溶液在 5.8 min 均呈现吸收峰,而缺大黄空白液在与对照品相应的位置上没有色谱峰出现,表明本测定无干扰。

2.6 线性关系考察 精密吸取上述大黄素对照品储备溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL, 大黄酚对照品储备溶液 2, 4, 6, 8, 10 mL 各于同一 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取以上对照液,分别进样 10 μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积积分值。以大黄素、大黄酚的进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,进行线性回归分析,结果大黄素进样量在(0.041 2~ 0.206 0) μg 范围内线性关系良好,回归方程: $Y = 3.57 \times 10^6 X - 21\ 141.2$, $r = 0.999\ 8$ 。大黄酚进样量在(0.817 6~ 0.408 8) μg 范围内线性关系良好,回归方程: $Y = 4.96 \times 10^6 X - 59\ 553.8$, $r = 0.999\ 8$ 。

2.7 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,连续进样 5 次,测定峰面积积分值,计算精密度,结果大黄素 5 次测定的 RSD 为 0.52%, 大黄酚 5 次测定

的 RSD 为 0.26%, 表明精密度良好。

2.8 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,每隔 2 h 进样测定 1 次,共进样测定 5 次,其峰面积积分值在测定时间 8 h 内基本不变,供试品大黄素 5 次测定的 RSD 为 0.48%, 供试品大黄酚 5 次测定的 RSD 为 0.71%, 表明在测定时间 8 h 内稳定性良好。

2.9 重复性试验 取同一批样品(051102) 6 份,按含量测定项下,依法测定大黄素、大黄酚的含量,结果 6 次测定的含量大黄素 RSD 为 1.59%; 大黄酚 RSD 为 0.876%。

2.10 回收率试验 取同一批样品(051102) 约 0.25 g, 精密称定,共取 6 份,分别加入大黄素 0.175 2 mg、大黄酚 0.321 mg,按供试品溶液制备方法制备回收率试验液,依法测定,并计算回收率,结果大黄素的平均回收率为 97.17%, RSD 为 1.03%; 大黄酚的平均回收率为 97.37%, RSD 为 1.28%。

2.11 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与各批供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定并计算各批样品中大黄素+ 大黄酚的含量,结果三批样品分别为 0.543, 0.531, 0.546 mg/片。

3 讨论

试验中考察了供试液制备的超声时间 20, 30, 40 min, 结果 3 者测定值接近, 因此确定提取 20 min。采用高效液相色谱法测定复方大黄利胆片中大黄素、大黄酚的含量, 方法简便, 重现性好, 阴性无干扰, 可作为其质量控制的方法。

[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.