

# 高效液相色谱法测定整骨通络片中大黄酚的含量

李丽贤\*, 刘立峰

(吉林省中医院, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** 目的: 建立测定整骨通络片有效成分含量的测定方法。方法: 采用高效液相色谱法对整骨通络片中大黄酚进行含量测定。结果: 大黄酚在0.032 896~ 0.164 48  $\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为97.20%。结论: 该法具有一定的准确性与稳定性, 适用于整骨通络片中大黄酚的含量测定。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 整骨通络片; 大黄酚

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)06-0021-02

整骨通络片是由狗骨、黄耆子、大黄等十三味中药组成的中药复方制剂, 具有舒筋活络, 接骨止痛等功效, 主要用于跌打损伤、消肿散瘀、扭腰岔气等病症。为控制该产品的质量, 确保临床疗效, 我们对整骨通络片有效成分含量的测定方法反复进行了研究考察, 考察结果表明, 采用高效液相色谱法测定整骨通络片中大黄酚的含量, 控制产品质量方法可行。

## 1 试验材料

LC-2010A型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AVP检测器。大黄酚对照品: 购于中国药品生物制品检定所, 批号: 0796-20023, 含量测定用。试剂为分析纯。整骨通络片(批号: 060512, 060513, 060514, 060515, 060709)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以甲醇-0.1%磷酸溶液(82:18)为流动相, 检测波长为254 nm。理论板数按大黄酚峰计算应不低于3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 称取大黄酚对照品约10 mg, 精密称定为10.28 mg, 置50 mL量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取2 mL, 置50 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每1 mL含大黄酚8.224  $\mu\text{g}$ )。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品20片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约2 g, 精密称定, 置烧瓶中, 精密加甲醇50 mL, 称重, 水浴上加热回流1 h, 用甲醇补

足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液10 mL, 置烧瓶中, 加8%盐酸10 mL, 超声3 min, 加三氯甲烷15 mL, 加热回流1 h, 分取三氯甲烷层, 酸水层用三氯甲烷提取3次, 每次10 mL, 合并三氯甲烷液, 经过铺有无水硫酸钠2 g的漏斗滤过, 滤液蒸干, 残渣用甲醇置于10 mL量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.4 线性关系的考察** 分别精密吸取对照品溶液4, 8, 12, 16, 20  $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积积分为纵坐标, 以进样量为横坐标, 绘制标准曲线。回归方程:  $Y = -4\,115.348\,79 + 3\,090\,778.829X$ ,  $r = 0.999\,98$ , 线性范围: 0.032 896  $\mu\text{g}$ ~ 0.164 480  $\mu\text{g}$ 。

**2.5 干扰性试验考察** 取缺大黄阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成空白溶液。取适量的对照品、供试品及空白溶液按上述色谱条件测定, 结果空白溶液无干扰。

**2.6 精密度试验** 吸取对照品溶液10  $\mu\text{L}$ , 连续进样5次, 依法测定, 实验结果表明, RSD%为0.6%, 表明精密度较好。

**2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 每隔4 h依法测定峰面积, RSD为1.79%。实验结果表明, 大黄酚在供试品溶液中20 h内是稳定的。

**2.8 重复性试验** 取批号为060515样品5份, 依法独立测定, 计算含量, RSD为1.79%, 实验结果表明重复性良好。

**2.9 回收率试验** 取批号为060709样品, 已知样品的含量为0.091 mg/g, 取本品20片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约1 g, 精密称定, 置烧瓶中, 精密加入对照品溶液2 mL(浓度为0.055 mg/mL), 以下按正文

[收稿日期] 2006-11-14

[通讯作者] \* 李丽贤 0431-87681118

方法操作,结果平均回收率为 97.2%,见表 1。

表 1 回收率试验结果

取样量 (g)	样品中大黄 酚含量(mg)	对照品加 入量(mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
1.162 8	0.105 81	0.11	0.212 5	96.99	
1.124 7	0.102 35	0.11	0.209 8	97.68	
1.148 5	0.104 51	0.11	0.214 3	99.81	1.74
1.375 1	0.125 13	0.11	0.230 1	95.43	
1.191 2	0.108 40	0.11	0.214 1	96.09	

**2.10 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ 、供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,依测定法测定 3 批样品的含量,平均含量分别为 0.055 4, 0.061 9, 0.059 7(mg/片)( $n = 2$ )。根据样品测定结果,规定每片含大黄以大黄酚含量计算应不低于 0.05 mg。

### 3 讨论

对于含量测定指标的选择问题,本制剂中大黄以粉末入药,成分清楚,有对照品,方法成熟。故可测定大黄中大黄酚和大黄素的总含量。可实践中发现大黄素峰和其他成分的峰分不开,试验多种流动相,采用多种提纯方法仍分不开,故现在测定大黄中大黄酚的含量。

大黄中蒽醌类成分主要以苷的形式存在于植物中,根据苷的溶解性,选择甲醇提取,再进行酸水解,用三氯甲烷提取出大黄酚。经过实验对比,如果不进行酸水解,大黄酚的含量较低,无法准确标示制剂中的含量。

### [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. 附录 VI D.