

高效液相色谱法测定乙肝冲剂中大黄素的含量

孔 铭, 包贝华, 张 丽, 张 静
(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的: 建立乙肝冲剂中大黄素含量的测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定乙肝冲剂中大黄素的含量, 色谱柱为 Lichrospher C₁₈ 柱, 流动相为甲醇-水(80: 20), 流速为 1.0mL/min, 检测波长 254nm。结果: 平均加样回收率为 98.54%, HPLC 分离定量测定, 其线性回归方程 $Y = -4414.31 + 53127503X$, 相关系数 $r = 0.99994$ 。结论: 分析结果良好, 可用于乙肝冲剂中大黄素的含量测定。

关键词: 乙肝冲剂; 大黄素; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0019-02

乙肝冲剂是由虎杖、六月雪、大狼巴草、红枣、方儿茶、鸡骨草等多味中药制成的复方制剂, 具有保肝益肾, 消解病毒之功效。主治急慢性肝炎, 面色垢浊, 口干心烦, 小便色黄。虎杖是方中君药, 大黄素是其主要有效成分。本试验采用 HPLC 法对其中大黄素的含量进行了测定。

1 仪器与试剂

Waters-515 型高效液相色谱仪; Millennium³² 色谱软件系统; H66025T 型超声清洗机; 岛津 LIBROR AEL-40SM 电子分析天平(精确度为 0.00001g)。

甲醇(色谱纯); 重蒸水。

乙肝冲剂(由上海市中医医院提供, 批号: 031001, 031002, 031003); 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所批号: 110756-200110)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher C₁₈ (4.6 × 200mm 5μm); 灵敏度: 2.0AUFs; 流动相: 甲醇-水(80: 20); 流速: 1.0mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 254nm; 进样量: 10μL。

2.2 空白试验 除缺虎杖外, 按处方及制备工艺制成缺虎杖的阴性制剂, 再按供试品溶液的制备方法, 制成阴性样品溶液。取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液在上述色谱条件下各进样 10μL, 结果表明阴性样品溶液对大黄素的测定无干扰。见图 1、图 2、图 3。

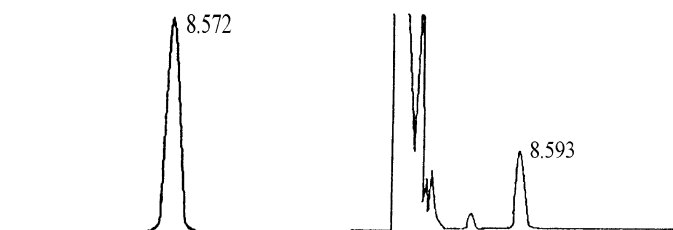


图 1 对照品溶液

图 2 供试品溶液

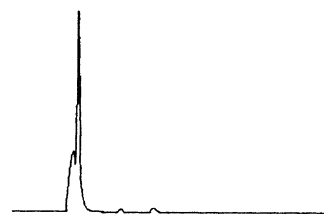


图 3 阴性样品溶液

2.3 标准曲线的绘制 精密称取大黄素对照品 2.36mg, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得对照品储备液(0.236mg/mL), 逐步稀释得 0.0236 mg/mL, 0.0118 mg/mL, 0.0059 mg/mL, 0.00295 mg/mL 和 0.001475 mg/mL 的对照品溶液, 在上述色谱条件下进样 10μL。以对照品浓度(mg/mL)为横坐标, 平均峰面积为纵坐标, 作图, 得线性回归方程 $Y = -4414.31 + 53127503X$, 相关系数 $r = 0.99994$, 线性范围为 0.01475~0.236μg。

2.4 供试品溶液的制备 取本品 5g, 研细, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 残渣连同滤纸再加入甲醇 20mL 超声处理 20min, 滤过, 滤渣用适量甲醇洗涤 2 次, 合并两次滤液和洗液至 50mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 再从中精密吸取 5mL 于 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μ L (0.0118mg/mL), 连续进样 5 次, RSD 为 1.58%, 结果表明, 精密度良好。

2.6 重复性试验 取乙肝冲剂(批号 031001) 6 份, 精密称定, 按供试品溶液方法制备并测定, RSD 为 2.16%, 结果表明, 重复性良好。

2.7 稳定性试验 取乙肝冲剂(批号 031001) 5g, 精密称定, 按供试品溶液方法制备, 每隔 2h 进行测定, 共测定 5 次。结果表明样品在 8h 内稳定, RSD 为 0.85%。

2.8 加样回收率试验 精密称取乙肝冲剂(批号 031001) 约 2.5g, 6 份, 分别加入大黄素对照品储备液 (0.236mg/mL) 0.6, 0.75, 0.9mL, 按供试品溶液方法制备并测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

编号	称样量 (g)	样品量 (mg)	测得量 (mg)	加入量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.4921	0.1739	0.3124	0.1416	97.81		
2	2.5335	0.1768	0.3125	0.1416	95.82		
3	2.5604	0.1787	0.3566	0.1770	100.53		
4	2.5433	0.1775	0.3538	0.1770	99.61	98.54	2.20
5	2.5699	0.1794	0.3939	0.2124	101.01		
6	2.5162	0.1756	0.3805	0.2124	96.44		

2.9 样品含量测定 取 3 批乙肝冲剂, 按供试品溶液方法制备并测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n=2$)

批号	含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)	RSD (%)
031001	0.0678	0.0698	1.66
	0.0696		
0.0703			
031002	0.0697	0.0698	1.66
	0.0714		
031003	0.0697		

3 讨论

2000 版药典一部中以显色法来测定虎杖中总蒽醌的含量, 操作较为繁琐, 通过相关文献检索, 我们确定 HPLC 法测定制剂中大黄素的含量。

在样品前处理方法考察中, 我们比较了超声, 回流等不同的提取方法^[1,2], 结果表明以甲醇超声提取的方法操作简便。同时进行了超声时间和次数以及甲醇用量的考察, 比较了超声 10、20、30min 和加入 10、20、30mL 甲醇对大黄素测定结果的影响, 结果显示 5g 制剂加入 20mL 甲醇超声提取 2 次, 每次 20min 较为合适, 重复性良好, 且空白制剂无干扰, 可以用于控制该制剂的质量。

参考文献:

- [1] 苗晓梅. 反相高效液相色谱法测定虎杖提取物中大黄素的含量[J]. 湖南中医药导报, 1998, 4(8): 33.
- [2] 唐小波, 吴健儿, 赵绪元. 高效液相色谱法测定虎杖中大黄素的含量[J]. 基层中药杂志, 2000, 14(4): 17-18.