

高效液相色谱法测定降脂宁肝胶囊中 大黄素、大黄酚的含量

孙冬梅¹, 杨钦河²

(1 广东省中医研究所, 广东 广州 510095; 2 暨南大学医学院, 广东 广州 510632)

摘要: 目的: 采用反相高效液相色谱法测定降脂宁肝胶囊中大黄素、大黄酚的含量。方法: 以甲醇-1% 高氯酸(85: 15) 为流动相, LiChrospher 100^R (4.6 × 250mm, 5 μ m) 为固定相, 流速为 1.0mL/min, 检测波长为 254nm。结果: 大黄素、大黄酚分别在 20.16 ~ 100.80ng 34.56~ 172.80ng 间有良好的线性关系, 回收率分别为 98.55% 及 98.90%, RSD 分别为 1.46% 及 1.17% (n= 6)。结论: 方法简单、灵敏度高, 可用于降脂宁肝胶囊中大黄素、大黄酚的含量测定。

关键词: 降脂宁肝胶囊; 大黄素、大黄酚; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0013-02

降脂宁肝胶囊主要由大黄、厚朴、姜黄、山楂等药物组成。具有清热祛湿, 疏肝理气, 活血化瘀的作用。用于治疗各种原因引起的脂肪肝, 证属痰湿内蕴、气滞血瘀、肝郁不达者。制剂中成分较复杂, 本文采用高效液相色谱法测定大黄中大黄素、大黄酚的含量, 探讨该方的质量控制方法, 为制剂的质量保证奠定了基础。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, 四元梯度泵, G2170AA 数据处理系统。

甲醇为色谱纯试剂(一级), 水为双蒸水, 其它试剂均为分析纯。大黄素、大黄酚对照品(由中国药品生物制品检定所提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: LiChrospher^R 100(4.6 × 250mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 高氯酸(85: 15); 检测波长: 254nm; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 35℃。

2.2 对照品溶液及供试品溶液的制备 精密称取大黄素、大黄酚对照品各约 5mg, 分别置 50ml 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取大黄素 1mL、大黄酚 2mL, 置 25mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(大黄素 5.04 μ g/mL, 大黄酚 8.64 μ g/mL)。

取本品内容物, 研细, 精密称取 0.5g, 置 50mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 加热回流

30min, 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 5mL, 置 50mL 圆底烧瓶中, 挥去甲醇, 加 2.5mol/L 硫酸溶液 10mL, 超声处理 5min, 再加氯仿 10mL, 加热回流 1h, 冷却, 移置分液漏斗中, 用少量氯仿液洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取氯仿层, 酸液用氯仿提取 2 次, 每次约 8mL, 合并氯仿液, 以无水硫酸钠脱水, 氯仿液移置 100mL 锥形瓶中, 挥去氯仿, 残渣精密加甲醇 10mL, 称定重量, 置水浴中微热溶解残渣, 放冷后, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

2.3 线性范围的考察 精密吸取对照品溶液(大黄素 5.04 μ g/mL, 大黄酚 8.64 μ g/mL) 4.8、12、16、20 μ L 进行色谱测定, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归, 得标准曲线。

大黄素: $Y = 3.05287962X + 4.2017093$, $r = 0.99957$ 。

大黄酚: $Y = 4.32855318X + 3.4797158$, $r = 0.99995$ 。

表明大黄素在 20.16~ 100.80ng 范围内呈线性关系, 大黄酚在 34.56~ 172.80ng 范围内呈线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液各 20 μ L, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 其相对标准偏差 RSD 均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液 10 μ L, 按上述色谱条件测定 5 次, 每次间隔 2h, 结果表明 8h 内稳定。

2.6 重复性试验 按拟定的含量测定方法,对同一批样品(批号:010611)分别制备 5 份供试液,分别测定大黄素、大黄酚的含量,结果 5 份含量 RSD 均小于 2%。

表 1 样品含量测定结果($n=2$)

序号	大黄素含量 (mg/g)	大黄酚含量 (mg/g)	总和 (mg/片)	RSD (%)
010611	0.460	1.255	0.8404	1.22
010619	0.512	1.315	0.8952	1.17
010623	0.410	1.238	0.8075	1.38

2.7 回收率试验 取已知含量的样品(批号 010611,大黄素含量 0.46mg/g,大黄酚含量 1.255mg/g),分别精密加入一定量的大黄素、大黄酚对照品,按供试品制备与测定方法,按上述色谱条件,平行做 6 组,回收率分别为 98.55% 及 98.90%。

2.8 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件测定,结果见表 1。

3 小结

本品为一多种中药配制而成的中药复方制剂,成分较为复杂,方中大黄为君药,采用高效液相色谱法测定方中大黄的主要成分大黄素、大黄酚的含量,结果表明方法简单、灵敏度高,重复性好,结果准确,可用于本制剂的质量控制。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2000 年版. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 18.
- [2] 赵陆华. 高效液相色谱法分析中药成分手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 443.