

HPLC 法测定胆炎康中大黄素含量及 有关物质的方法学研究

王克英

(贵州省药品检验所, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的: 建立了胆炎康中连钱草、黄芩的薄层色谱鉴别。方法: 采用高效液相色谱法测定了土大黄中大黄素的含量, 大黄素在 0.04~0.36 μ g 范围具有良好的线性关系($r=0.9998$); 加样平均回收率 97.5%; RSD 为 1.26%。结论: 实验结果稳定、重现性好、为有效地控制该产品的内在质量创造了条件。

关键词: 胆炎康; HPLC; 大黄素

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0015-02

胆炎康胶囊是由民间中草药加工精制而成的胶囊剂。具有消炎利胆, 解痉镇痛作用。用于急慢性胆胃炎、胆管炎、胆囊胆道结石合并感染所致的疼痛, 胆囊术后综合症, 胆道功能性疾病等。本文采用薄层层析方法对该制剂中的连钱草、黄芩进行了鉴别, 用高效液相色谱法测定了土大黄中大黄素的含量。实验结果稳定, 重现性好, 为有效地控制该产品的内在质量提供了依据。

1 材料与仪器

1.1 材料 胆炎康来自贵州省安顺中药厂(批号 2002102)。连钱草对照药材由安顺制药厂提供, 为唇形科植物活血丹 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. 熊果酸(批号: 0715-9708)、黄芩苷(批号: 0781-9909)、大黄素(批号: 0756-200110)对照品由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 仪器 高效液相色谱仪: 岛津 LC-10AT, SPD-10A, 紫外检测器 Class-LC10, 色谱工作站 TCQ-250, 超声波清洗器(北京医疗设备二厂), 色谱柱: Diamonsi/C₁₈ 5 μ m 150 \times 4.6mm 迪马科学仪器有限公司。实验所用试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 实验方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 I 取胆炎康胶囊内容物 6g, 加甲醇 25mL, 加热回流 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇-氯仿(3:2)混合液 1mL 使溶解, 作为供试

品溶液 I。

2.1.2 供试品溶液 II 取胆炎康胶囊内容物 5g, 加甲醇 20mL, 超声处理 10min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液 II。

2.2 对照品及对照药材溶液的制备 取熊果酸对照品, 加无水乙醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液。取连钱草对照药材 1g, 按供试品溶液 I 制备法制备, 得连钱草对照药材溶液。取黄芩苷对照品, 加甲醇制成 1mL 含 1mg 的溶液, 取黄芩对照药材 1g, 按供试品溶液 II 制备法制备, 即得黄芩对照药材溶液。

2.3 空白对照溶液的制备 模拟胆炎康胶囊处方工艺分别制成不含连钱草、黄芩的空白胶囊剂, 各自按供试品溶液制备项下的方法制成连钱草空白(阴性)对照溶液及黄芩阴性对照溶液。

2.4 连钱草 TLC 取供试品溶液 I, 熊果酸对照品, 连钱草对照药材, 连钱草空白对照品溶液 I, 各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(20:4:0.5)为展开剂, 展开, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液。在 110 $^{\circ}$ C 烘致斑点显色, 日光下检视, 结果表明供试品与熊果酸对照品、连钱草对照药材在相同的位置上显相同的颜色斑点, 而阴性对照无干扰, 无特征斑点。

2.5 黄芩 TLC 取供试品溶液 II, 黄芩苷及黄芩对照药材溶液, 不含黄芩的空白对照溶液, 各 5 μ L, 分别点于同一以含 4% 醋酸钠的羟甲基纤维素钠溶液, 为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:3:1:1)为展开剂, 预平衡 30min, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱

中,在与黄芩苷对照品、黄芩对照药材在相应的位置上,显相同颜色的斑点,而阴性对照无干扰,无特征斑点。

2.6 土大黄中大黄素的测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsi/C₁₈: 5 μ m 150 \times 4.6mm, 流动相, 甲醇-0.4% 磷酸(85:15); 流速为 1.0mL/min; 检测波长 436nm。

2.6.2 样品溶液的制备 精密称取胆炎康胶囊粉末 3g, 置具塞锥形瓶中精密加甲醇 25mL, 称定重量后, 超声 1d, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减少的重量, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液。精密吸取续滤液 10mL, 置 100mL 烧瓶中, 加入 1.5mol/L 的硫酸溶液 5mL, 置水浴中水解 1d, 放冷, 移置 25mL 量瓶中, 加甲醇至刻度摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤即得。

2.6.3 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 20 μ g 的溶液即得。

2.6.4 标准曲线制备 精密称取对照品适量, 加甲醇制成 0.020264mg/mL 的溶液, 精密吸取上述溶液(2.6, 10, 14, 18) μ L 按顺序进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 大黄素为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 2377154.067X - 100.189001$ ($r = 0.9998$) 大黄素线性范围为 0.040528~0.364752 μ g。

2.6.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液(0.020mg/mL) 10 μ L, 重复进样 5 次, 得峰面积 RSD 为 0.58%。

2.6.6 稳定性试验 精密吸取样品溶液 20 μ L, 每隔 4h 进样一次, 分别各测 5 次, RSD 1.52%, 在 12d 内稳定性良好。

2.6.7 重复性试验 按供试品制备方法分别制备 5 份样品溶液, 按上述色谱条件测定, 大黄素含量 RSD 为 0.86%, 重复性良好。

2.6.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的胆炎康胶囊样品, 加入一定量的对照品溶液, 按上述同等色谱条件测定大黄素的回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品取量(g)	含大黄素量(mg)	加入大黄素的量(mg)	测出大黄素量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.5001	0.2550	0.2533	0.5022	97.59		
1.5011	0.2552	0.2533	0.5040	98.22		
1.5202	0.2584	0.2533	0.5098	99.25	97.57	1.26
1.5412	0.2640	0.2533	0.5088	96.64		
1.4608	0.2483	0.2533	0.4919	96.17		

2.6.9 样品测定 精密吸取样品溶液 20 μ L, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件, 各测定 3 次, 计算样品溶液中大黄素的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	大黄素含量(mg/粒)	RSD(%)
2002102	0.0808	1.12
2001002	0.0520	1.23
2002203	0.0700	0.97
2002303	0.0742	1.15
2002403	0.0678	1.07

3 讨论

对于样品溶液提取, 分别采用(1) 超声 1d, 加入 1.5mol/L 硫酸, 按不同时间(30, 60, 90min) 水解, 再用甲醇定容; (2) 超声 1d 后, 加入 1.5mol/L 硫酸水解 60min, 水解液用氯仿萃取, 蒸干氯仿, 用甲醇定容。通过以上两种不同提取方法的对比, 实验结果认为, 超声 1d, 水解 60min, 用甲醇直接定容的方法, 分离效果好, 测得大黄素含量高, 能达到质量标准控制的目的。

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, 2000. 18.
- [2] 包俊. 贵州苗族医药与发展[M]. 贵阳: 贵州科学出版社, 1998. 197.
- [3] 谢文, 秦天德, 郭兰建. 高效液相色谱法测定治癌合剂中大黄素的含量[J]. 药物分析杂志, 1995, 增刊: 257.