

RP-HPLC 法测定开胸理气冲剂中大黄素和大黄酚的含量

陶 涛, 邢贞建*

(广州市胸科医院, 广东 广州 510095)

开胸理气冲剂由大黄、槟榔、枳实、山楂、木香、乌药、厚朴、莱菔子、青皮、甘草 10 味中药组成, 具有消积导滞、开胸顺气的作用。大黄为方中君药, 大黄素、大黄酚为有效成分。本实验采用 RP-HPLC 法同时测定大黄素、大黄酚的含量, 为产品的定量提供手段^[1]。

1 仪器与试剂

Waters 600E 泵, Rheodyne 77251 进样器, Waters PAD996, 二极管阵列检测器, Waters M²² 色谱工作站, Shimadzu Libror AEL40SM 万分之一天平 (日本岛津); KQ-50B 超声波清洗机 (昆山市超声设备有限公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯)、水 (重蒸水), 大黄素 (批号: 0756-9908)、大黄酚 (批号: 0796-9302) 对照品由中国药品生物制品检定所提供, 开胸理气冲剂及缺大黄的阴性样品由白云山制药厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (70:30); 检测波长: 287 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L。理论塔板数按大黄

素、大黄酚峰计算均不低于 1 500。

2.2 供试品溶液的制备: 取本品约 0.6 g, 精密称定, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 加 2.5 mol/L 硫酸溶液 20 mL, 超声处理 5 min, 再加氯仿 15 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 移至分液漏斗中, 用少量氯仿洗涤容器, 并入分液漏斗中。分取氯仿层, 酸液用氯仿提取 2 次, 每次约 15 mL, 合并氯仿液, 以无水硫酸钠脱水, 氯仿液移至 100 mL 锥形瓶中, 挥去氯仿。残渣精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 置水浴中微热使溶解, 放冷后, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 取续滤液, 即得。同法制得缺大黄的阴性对照溶液。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取大黄素对照品 6.25 mg、大黄酚对照品 4.75 mg, 分别置 50 mL 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溶液 1 mL、大黄酚溶液 2 mL, 置同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 空白试验: 取对照品溶液、阴性对照溶液和供试品溶液进样, 结果阴性对照在与大黄素、大黄酚相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰, 见图 1。

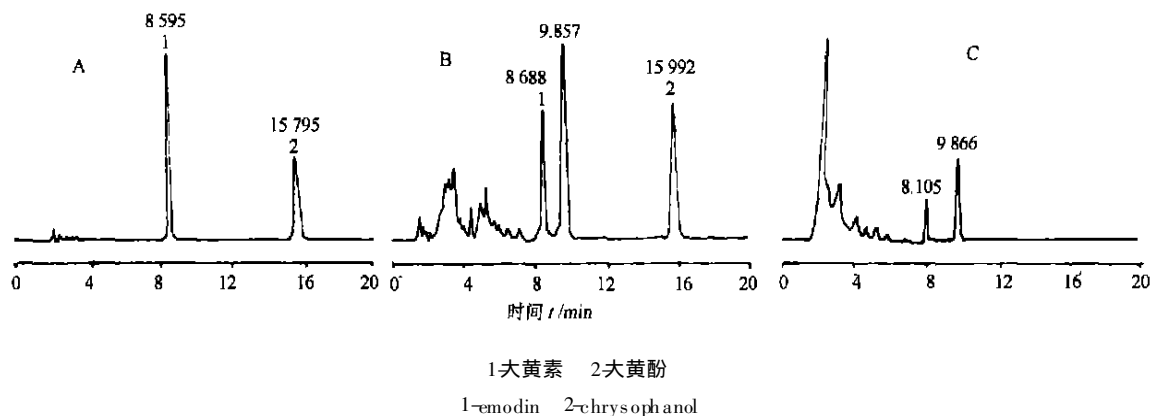


图 1 混合对照品 (A)、开胸理气冲剂 (B) 和缺大黄的阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of mixed reference substance (A), Kaixiong Liqi Granules (B), and negative sample (C)

2.5 线性关系考察: 精密吸取对照品溶液 10、15、20、30、35、50 μ L 进样, 测定。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程, 大

黄素为 $Y = 5.751X - 18.064$, $r = 0.9999$, 线性范围: 50~250 ng; 大黄酚为 $Y = 2.903X - 16.067$, $r = 0.9999$, 线性范围: 76~380 ng。

2.6 精密度试验:精密吸取对照品溶液 20 μ L,重复进样 5 次,测得大黄素峰面积 RSD为 0.9%;大黄酚峰面积 RSD为 0.8%。

2.7 重现性试验:取同一批(批号: 20030728)样品 5 份,制备供试品溶液,精密吸取 20 μ L,测定,测得大黄素质量分数为 0.149 mg/g, RSD为 2.25% ($n= 5$);大黄酚质量分数为 0.478 mg/g, RSD为 2.33% ($n= 5$)。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,精密吸取 20 μ L,分别于 0 5 13 24 28 h测定大黄素、大黄酚的峰面积,计算得 RSD分别为 0.78%、0.29%。说明供试品溶液在 28 h内基本稳定。

2.9 回收率试验:采用加样回收法,取本品 5 份(批号: 20030728,含大黄素 0.149 mg/g,大黄酚 0.478 mg/g),每份约 0.4 g,精密称定,分别精密加入大黄素、大黄酚对照品溶液(含大黄素 0.076 mg/mL,大黄酚 0.167 mg/mL) 1 mL,按供试品溶液制备方法制备,测定,计算回收率,结果大黄素回收率为 100.2%, RSD为 1.1%;大黄酚回收率为 99.4%, RSD为 0.8%。

2.10 样品测定:对 3 批样品进行测定,结果见表 1。本品以大黄素和大黄酚的总量计,不得少于 0.5 mg/g。

表 1 开胸理气冲剂中大黄素和大黄酚的含量测定结果 ($n= 3$)

Table 1 Contents of emodin and chrysophanol in Kaixiong Liqi Granules ($n= 3$)

批号	大黄素	大黄酚	大黄素+ 大黄酚
	$I/(mg \cdot g^{-1})$	$I/(mg \cdot g^{-1})$	$I/(mg \cdot g^{-1})$
20030728	0.149	0.478	0.627
20030809	0.180	0.469	0.649
20030816	0.163	0.495	0.658

3 讨论

《中华人民共和国药典》2000 版一部“大黄”项下对大黄素、大黄酚的 HPLC 定量所用检测波长为 254 nm,本实验使用检测时,结果干扰很大。经摸索,用乙腈-0.1% 磷酸溶液(70:30)做流动相,检测波长改为大黄素、大黄酚均有吸收峰的 287 nm,避开杂质干扰,大黄素、大黄酚分离效果好。

在样品处理时,若先用甲醇提取,再用氯仿回流提取,杂质太多,干扰测定结果,后直接用氯仿回流提取,再用 2.5 mol/L 硫酸溶液超声震荡提取 5 min,测量结果回收率高,重现性好,干扰小。

Reference

[1] Chang JM, Gao H, Zhang X, *et al.* Determination of emodin and chrysophanol in *Rheum rhizastachyum* Schrenk by HPLC [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2003, 18(1): 57-58.

RP-HPLC测定小儿感冒退热糖浆中连翘苷的含量

黄诺嘉,杨文红,郑剑红*

(汕头市药品检验所,广东 汕头 515041)

小儿感冒退热糖浆是由连翘、大青叶、紫苏叶、桑枝等 7 味中药制成的中药制剂,具有清热解毒、疏风解表之功效,临床上用于治疗伤风感冒,畏冷发热,咽喉肿痛,头疼咳嗽。原有的《广东省药品标准》仅规定了 3 个理化反应作为定性鉴别来控制质量,尚未有定量指标。连翘是该制剂的主药,连翘中的有效成分连翘苷具有较强的抗菌、抗炎作用。本实验以连翘苷为该制剂的质量控制指标,建立了 RP-HPLC 法测定小儿感冒退热糖浆中连翘苷含量的方法。该法简单、结果准确,重现性好,可用于该药的质量控制。

1 仪器与试剂

TSP- 2000A 高效液相色谱仪(美国 TSP), UV- 6000 检测器, P- 2000 泵, PC- 1000 色谱工作站。连翘苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号: 0821-9602,供含量测定用。小儿感冒退热糖浆、缺连翘阴性对照均由汕头市时代制药厂提供。乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: ODS 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m,大连依利特科学仪器有限公司);流动相: 乙腈-水(22:78);体积流量: 1 mL/min;柱温:

* 收稿日期: 2003-11-22
作者简介: 黄诺嘉(1956-),广东汕头人,副主任药师,主要从事药物分析和质量标准研究工作,发表论文 50 余篇。Tel (0754) 8392240