

16、24 h 进样 10 μ L 测定,原儿茶醛的保留时间平均值为 7.83 min,RSD 为 0.18%,原儿茶醛的峰面积 RSD 为 0.21%。

2.7 重现性试验:精密称取同一批号样品 5 份,制备供试品溶液,进样 10 μ L 测定,原儿茶醛色谱峰保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.23%、0.55%。

2.8 回收率试验:取同一批号毛冬青滴丸,碾碎,混匀,精密称取 5 份,每份 0.3 g,分别准确加入 11.7 μ g/mL 原儿茶醛对照品溶液各 3 mL,制备供试品溶液,分别进样 10 μ L 测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.54%,RSD 为 1.13%。

2.9 样品测定:分别精密吸取原儿茶醛对照品溶液和样品溶液各 10 μ L,注入色谱仪测定,按外标法计算毛冬青滴丸中原儿茶醛的质量分数。取 3 批样品进行测定,结果见表 1。对照品和供试品的 HPLC 图见图 1。

表 1 毛冬青滴丸中原儿茶醛的测定结果 (n=3)
Table 1 Determination of protocatechualdehyde in Maodongqing Dropping Pills (n=3)

批 号	原儿茶醛/(μ g $\cdot$ g ⁻¹)	RSD/%
20041001	93.0	0.95
20041002	98.2	0.83
20041003	95.1	1.05

3 讨论

本实验采用甲醇溶解毛冬青滴丸,滤过后直接进样测定,原儿茶醛色谱峰能得到较好的分离。测定

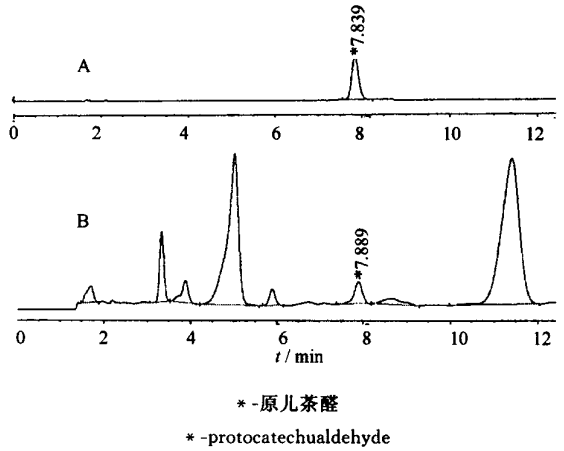


图 1 原儿茶醛对照品(A)和毛冬青滴丸(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of protocatechualdehyde reference substance (A) and Maodongqing Dropping Pills (B)

结果表明,每粒毛冬青滴丸约含原儿茶醛 3.4 μ g,约相当于毛冬青片的 1/3 量。本法简便、快速、重现性好,适用于毛冬青滴丸中原儿茶醛的定量测定。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Vol I; Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.
[2] Dong K S, Wang X Q, Dong Y F, et al. *Modern Clinical Chinese Traditional Medicine* (现代临床中医学) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 1998.

清火片中大黄素和大黄酚的 HPLC 法测定

王云娇¹, 李武毅², 张永云¹

(1. 中国医学科学院药用植物研究所云南分所, 云南 景洪 666100; 2. 中山市恒生药业有限公司, 广东 中山 5284117)

清火片由大青叶、大黄、石膏、薄荷脑 4 味中药经提取制成,可清热泻火、通便,用于咽喉肿痛、牙痛、头目眩晕、口鼻生疮、风火目赤、大便不通,效果显著。本实验选用主药大黄中的大黄素、大黄酚作为控制指标,用 HPLC 法测定样品中大黄素和大黄酚。

1 仪器与试药

岛津公司色谱仪,LC—10ATvp 泵、二级管阵列检测器、2010 色谱工作站;甲醇(色谱纯),氯仿、高氯酸(AR);大黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0756-20023),大黄酚对照品(中国药品

生物制品检定所,批号 0796-21055);清火片(江西安远药业股份有限公司)。

2 方法与结果

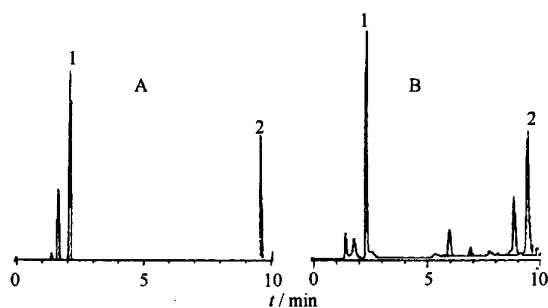
2.1 色谱条件:色谱柱:日本岛津 C₁₈ 键合硅胶柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m);进样体积为 20 μ L;流动相:甲醇-0.1%高氯酸(75:25);检测波长:254 nm;体积流量:0.8 mL/min。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取大黄素对照品 5 mg、大黄酚对照品 5 mg,分别置于 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度。精密吸取大黄素溶液 1 mL,大

黄酚溶液 2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 (含大黄素 10 $\mu\text{g/mL}$, 含大黄酚 20 $\mu\text{g/mL}$)。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去糖衣, 精密称取, 研细, 取 0.8 g, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量。加热回流 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 5 mL 圆底烧瓶中, 挥去甲醇, 加 2.5 mol/L 硫酸溶液 10 mL, 超声处理 5 min, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 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 8 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 10 mL, 称定质量, 置水浴中微热溶解残渣, 放冷后, 再称定质量, 用甲醇补足减的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 系统适应性试验: 在上述的色谱条件下, 注入供试品溶液。理论塔板数以大黄素峰计算为 2 500 以上, 分离度为 4.0 以上, 拖尾因子为 1.03。以大黄酚峰计算 3 000 以上, 分离度为 3.0 以上, 拖尾因子为 1.15。大黄素、大黄酚和其他组分均能达到较好的分离, 见图 1。



1-大黄素 2-大黄酚
1-emodin 2-chrysophanol

图 1 混合对照品(A)和清火片(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and Qinghuo tablets (B)

2.5 线性关系考察: 精密称取五氧化二磷干燥至恒重的大黄素对照品约 5mg、大黄酚对照品约 5mg,

分别置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。再分别精密吸取 0.2、0.4、1.2、4.5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 20 μL 进样测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 结果表明大黄素在 0.02~0.12 mg/mL, 大黄酚为 0.162~6.480 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积内呈良好线性关系。标准方程分别为: 大黄素 $Y = 51\,288\,X + 991.23$, $r = 0.999\,9$, 大黄酚 $Y = 66\,187\,235.86\,X + 21\,890.18$, $r = 0.999\,9$ 。

2.6 精密度试验: 取供试品溶液, 连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 结果测得大黄素 RSD 为 1.34%, 大黄酚 RSD 为 1.27%。

2.7 重现性试验: 取同一批样品 (030212), 按供试品溶液的制备方法分别制备 6 份供试品溶液, 进行大黄素和大黄酚的质量分数的测定, 结果 RSD 分别为 0.41%、0.32%。

2.8 稳定性试验: 取供试品溶液分别在 0.2、4、6、8、10、12 h 进样, 记录图谱, 计算大黄素和大黄酚的质量分数, 其 RSD 分别为 0.84%、0.54%。

2.9 回收率试验: 取清火片粉末 0.84 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中。分别精密称取大黄素对照品 2.5 mg、大黄酚对照品 2.5 mg, 制备供试品溶液, 测定, 计算回收率。结果平均回收率大黄素为 99.56% (RSD 为 0.61%, $n=6$), 大黄酚为 99.22% (RSD 为 0.36, $n=6$)。

2.10 样品测定: 测定 3 批样品中大黄素、大黄酚, 结果见表 1。

表 1 清火片中大黄素和大黄酚的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination results of emodin and chrysophanol in Qinghuo Tablets ($n=2$)

批 号	大黄素/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	大黄酚/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
030201	0.837 9	0.242 6
030202	0.849 9	0.234 8
030203	0.833 9	0.247 0

3 讨论

本实验研究证明, 该方法简单, 准确, 灵敏度高, 重现性好, 稳定性也较好, 可用于清火片中主要成分大黄素和大黄酚的定量控制。

保护植被 造福人类