

## 化坚止痛膜中大黄素和大黄酚的 HPLC 法测定

张 美, 王 鑫

(天津市药品审评中心, 天津 300191)

**摘要:** 目的 建立一种简便的测定化坚止痛膜中大黄素和大黄酚的测定方法。方法 Irregular H C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇 0.1% 磷酸水溶液 (85: 15); 检测波长 254 nm; 体积流量 1 mL/min。结果 大黄素在 0.076~0.380 mg, 大黄酚在 0.194~0.970 mg 与峰面积呈现良好的线性关系。大黄素平均回收率为 95.87%, 大黄酚平均回收率为 100.17%。结论 本法操作简便, 分离效果理想, 可以用于化坚止痛膜的质量控制。

**关键词:** 化坚止痛膜; 大黄素; 大黄酚; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)06-0913-02

化坚止痛膜临床使用多年, 功能祛邪拔毒, 通络止痛, 活血软坚, 消肿散结, 用于治疗轻、中度癌性疼痛。方中主要药味大黄凉血解毒、逐瘀通经, 现代药理研究表明大黄中所含大黄素等成分有抗肿瘤功效<sup>[1]</sup>, 故选择大黄中主要成分作为本品控制的指标。本实验采用高效液相色谱法对该制剂中大黄素和大黄酚进行测定, 取得满意效果。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT vp 高效液相色谱仪; JA2003 电子分析天平 (上海精科天平厂); TCQ-250 超声波清洗器 (北京医疗设备二厂)。大黄素、大黄酚对照品由中国药品生物制品检定所提供。化坚止痛膜由天津中医药大学第一附属附医院提供。甲醇为色谱纯, 水为二次蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件:** Irregular H C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相 甲醇 0.1% 磷酸水溶液 (85: 15); 检测波长 254 nm; 体积流量 1 mL/min。

**2.2 对照品溶液的制备:** 精密称取大黄素、大黄酚的对照品适量, 加甲醇制成含大黄素 76 μg/mL、大

黄酚 194 μg/mL 的对照品储备液; 精密量取对照品储备液 10 mL 于 50 mL 量瓶, 加甲醇至刻度, 即得 (其中含大黄素 15.2 μg/mL、大黄酚 38.8 μg/mL)。

**2.3 供试品溶液的制备<sup>[2]</sup>:** 精密称取本品约 2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 密塞, 称定质量。置水浴中加热回流 1 h, 取出, 放冷, 称定质量, 用乙醇补足减失质量。摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL, 蒸干; 再加入 2.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15 mL, 酸化, 超声处理 5 min。加入氯仿 20 mL, 水浴加热回流 1 h, 放冷, 分取氯仿层, 酸液用氯仿提取二次, 每次 15 mL, 合并氯仿液, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 阴性溶液的制备:** 按处方比例称取除去大黄并与所取的供试品含相同其他药材, 按制备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性溶液。

**2.5 专属性试验:** 吸取阴性溶液、对照品溶液、供试品溶液各 10 μL, 分别注入色谱仪中, 色谱图见图 1。供试品色谱图中, 在与对照品色谱相应的位置上, 有相同的色谱峰, 阴性样品无干扰峰。

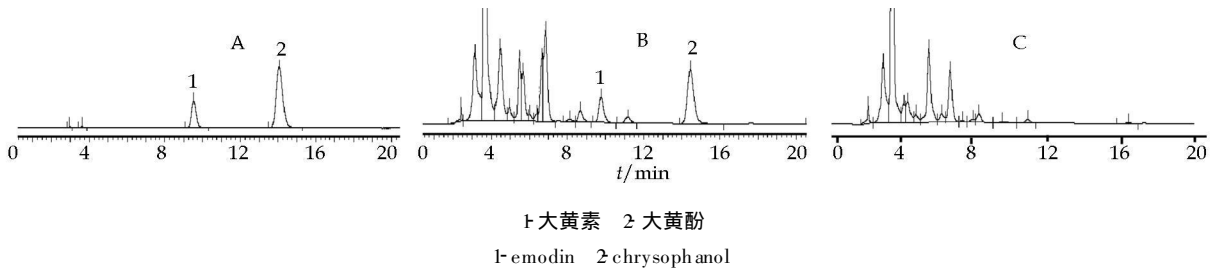


图 1 对照品 (A)、化坚止痛膜 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A), Huajian Zhitong Pellicle (B), and negative sample (C)

①收稿日期: 2010-01-29

作者简介: 张 美 (1973-), 女, 天津人, 主管药师, 理学学士, 主要从事药品审评工作。

Tel: (022) 60255265 E-mail: qiqi12182000@sina.com

2.6 线性关系考察:精密吸取上对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加过膜甲醇稀释至刻度,分别精密吸取 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,每种浓度连续进样 2 针,按上述色谱条件进行分析,测定峰面积。以质量浓度为纵坐标,峰面积值为横坐标,进行回归。大黄素回归方程为  $Y = 5.22 \times 10^{-5} X + 0.14$ ,  $r = 0.9997$ ; 大黄酚回归方程为  $Y = 4.27 \times 10^{-5} X - 0.181$ ,  $r = 0.9997$ 。大黄素在 0.076~0.380 mg, 大黄酚在 0.194~0.970 mg 与峰面积呈现良好的线性关系。

2.7 精密度试验:精密吸取供试品溶液,按照上述色谱条件连续重复进样 5 次,每次 10  $\mu$ L 测定峰面积积分值,结果大黄素质量分数的 RSD 为 0.981%, 大黄酚质量分数的 RSD 为 1.236%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液分别于 1、3、6、8、12、18、24 h,按上述色谱条件测定峰面积。结果表明,样品溶液于 24 h 内,色谱峰面积无明显变化。大黄素质量分数的 RSD 为 0.594%, 大黄酚质量分数的 RSD 为 0.714%, 因此供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.9 重现性试验:取供试品约 1g,精密称定,共 6 份,按上述色谱条件测定峰面积,大黄素质量分数的 RSD 为 1.59%, 大黄酚质量分数的 RSD 为 1.41%。

2.10 加样回收试验:取化坚止痛膜约 1g,精密称定,共 6 份,每份中加入对照品储备液 10 mL,制备供试品溶液,测定,计算大黄素及大黄酚的加样回收率,

结果大黄素平均回收率为 95.87%, 大黄酚平均回收率为 100.17%, RSD 分别为 0.816%、0.605%。

2.11 样品测定:取不同批号的样品,制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液,按上述色谱条件测定峰面积积分值,计算质量分数,结果见表 1。

表 1 化坚止痛膜中大黄素和大黄酚的测定结果

Table 1 Determination of emodin and chrysophanol in Huajian Zhitong Pellicle

批号	大黄素、大黄酚总量/(mg·g <sup>-1</sup> )
090421	288.68
090422	299.84
090423	275.78

### 3 讨论

本涂膜剂中含有 PVA,若去除不干净,则极易产生乳化现象,因此其去除干净与否直接影响定量实验。查阅文献报道<sup>[3]</sup>采用 95% 乙醇超声提取处理样品,结果表明本方法可去除 PVA 的干扰,能将有效成分提取完全,对测定无影响。

经实验验证表明样品加热时间过长、水浴温度过高易使残留物焦化,故三氯甲烷萃取液须减压回收即可避免焦化现象产生。

#### 参考文献:

- [1] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津:天津科学技术出版社, 1997.
- [2] 王云娇,李武毅,张永云. 清火片中大黄素和大黄酚的 HPLC 法测定[J]. 中草药, 2006, 37(7): 1034-1035.
- [3] 佟杰,李进,陈涛,等. HPLC 法测定银屑灵涂膜剂中 5 种蒽醌类成分的含量[J]. 天津中医药 2007, 24(5): 419-421.

## HPLC 法测定抗骨增生片中柚皮苷

朱克,吴立成,周玲娜

(浙江省金华市食品药品检验所,浙江金华 321000)

摘要:目的 建立抗骨增生片中柚皮苷的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Eclipse XDB C<sub>18</sub>(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱,乙腈-水(17:83)为流动相,体积流量 1.0 mL/min,检测波长 283 nm,柱温 35  $^{\circ}$ C,进样量 5  $\mu$ L。结果 柚皮苷在 0.0376~2.408  $\mu$ g 线性关系良好,  $r = 0.9999$ , 平均加样回收率为 97.68%, RSD 为 0.92%。

结论 该方法简便、快速、准确,为测定抗骨增生片中柚皮苷的测定提供了可靠的方法。

关键词:抗骨增生片;柚皮苷;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)06-0914-03

抗骨增生片由熟地黄、鹿衔草、骨碎补(烫)、鸡血藤等 7 味中药制成,补肾,活血,止痛,用于肥大性脊椎炎,颈椎病,跟骨刺,增生性关节炎等。柚皮苷

为骨碎补的主要有效成分。本实验采用 HPLC 对抗骨增生片的柚皮苷进行了测定,方法操作简便,结果准确,可用于抗骨增生片的质量控制。

①收稿日期:2009-09-03

作者简介:朱克,(1974-),男,浙江金华人,主管中药师,1996年毕业于浙江中医学院中药专业,从事中药检验工作。

Tel:(0579)82301314 E-mail:zkissjmn@163.com