

## HPLC法测定利胆片中大黄素和大黄酚

戴德雄<sup>1</sup>, 朱莹<sup>1</sup>, 蔡仁华<sup>2\*</sup>

(1 浙江维康药业有限公司, 浙江 丽水 323000; 2 浙江省丽水食品药品监督管理局, 浙江 丽水 323000)

**摘要:**目的 HPLC法测定利胆片中大黄素及大黄酚。方法 Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇 0.1% 磷酸(78:22); 检测波长 254 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 40 ℃。结果大黄素在 0.98~15.72 μg/mL、大黄酚在 1.56~37.34 μg/mL 线性关系良好。大黄素平均回收率为 99.767%, RSD 为 2.28%; 大黄酚平均回收率为 99.411%, RSD 为 1.54%。结论 方法可行、重复性好, 能有效控制利胆片的质量。

**关键词:**利胆片; 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)07-1111-02

利胆片的处方源于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第一册, 为含大黄、金银花、金钱草、木香、知母、大青叶、柴胡、白芍、黄芩、芒硝、茵陈的复方制剂, 具有清热止痛的功效, 用于胆道疾患、胁肋及胃部疼痛、呕吐不食等症的治疗。原标准无定量检测指标。本实验建立了高效液相色谱法测定利胆片中大黄素和大黄酚的测定方法, 为该产品提供了质量控制依据。

## 1 材料和仪器

美国安捷伦 1100 高效液相色谱仪; Sartorius BP211D 电子天平(感量 0.1 mg; 0.01 mg); USC-502 超声波清洗器, TU-11901 紫外分光光度计。

大黄素(批号 110756-200110)、大黄酚(批号 110796-200513)对照品购自中国药品生物制品检定所; 利胆片由浙江维康药业有限公司提供, 甲醇为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为新制备的纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件的确立

2.1.1 测定波长的选择: 大黄素和大黄酚具有显著的紫外吸收峰, 可以选择紫外检测器进行定量分析。分别对大黄素和大黄酚在流动相中 200~400 nm 进行紫外扫描, 二者均有多个紫外吸收, 大黄酚在 256 nm 波长时具有最大吸收, 而大黄素在 253 nm 处有较大的吸收, 故选择 254 nm 作为大黄素和大黄酚的紫外检测波长。

2.1.2 色谱条件: Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(大连依利特公司); 流动相甲醇 0.1% 磷酸(78:22); 检测波长 254 nm; 体积流量

0.8 mL/min; 柱温 40 ℃。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取大黄素、大黄酚对照品适量, 加甲醇制成各含 10 μg/mL 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸-三氯甲烷(25:2:23)的混合溶液 50 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用上述溶剂补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取上清液微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备: 按处方制备除大黄以外的空白片, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性考察: 按上述色谱条件分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进行分析, 结果无干扰。见图 1。

2.4 线性关系的考察: 精密称取大黄素对照品 19.64 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度; 精密吸取上述溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。再精密吸取上述溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并至刻度。分别精密吸取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。得回归方程  $Y = 50.037X + 2.6922$ ,  $r = 0.9999$ , 结果表明大黄素在 0.98~15.72 μg/mL 线性关系良好。

\* 收稿日期: 2010-01-29

作者简介: 戴德雄(1968—), 男, 工程师、执业药师, 1991—2000年工作于浙南制药厂, 2000—2003年工作于浙江瑞新药业有限公司生产技术部, 2003年至今工作于浙江维康药业有限公司。

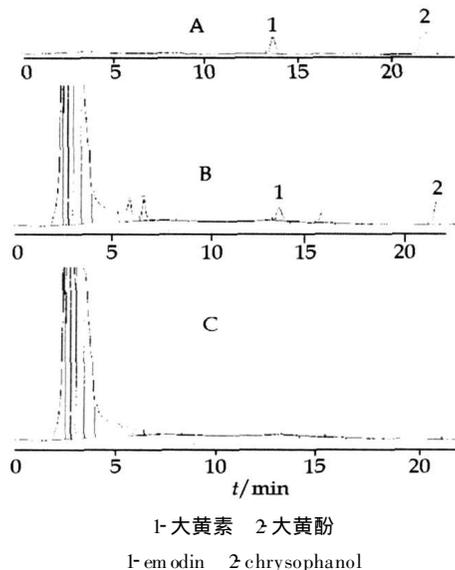


图 1 对照品(A)、利胆片(B)和阴性样品(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A), Lidan Tablets (B), and negative sample (C)

精密称取大黄酚对照品 15.56 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度。精密吸取上述溶液 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mL 别置于 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度。分别精密吸取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。得回归方程  $Y = 50.037 X + 2.6922$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明大黄酚在 1.56~37.34 μg/mL 线性关系良好。

2.5 精密度试验: 取样品(批号 080201)制备供试品溶液, 取上述供试品溶液重复进样 6 次, 测定, 计算得大黄素峰面积的 RSD 为 0.32%, 大黄酚峰面积的 RSD 为 0.73%。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液(批号 080201), 于室温(20~25 °C)下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 精密吸取 10 μL 进样, 测定峰面积, 计算得大黄素峰面积的 RSD 为 0.85%, 大黄酚峰面积的 RSD 为 0.22%, 可见供试品溶液中的大黄素和大黄酚在放置 10 h 测定, 保持稳定。

2.7 重现性试验: 取样品(批号 080201)共 6 份, 制备供试品溶液, 进样, 测定峰面积并计算质量分数。结果表明, 供试品中大黄素质量分数的 RSD 为 2.30%, 大黄酚质量分数的 RSD 为 2.40%。

2.8 回收率试验: 取批号 080201 利胆片内容物适量, 精密称取该粉末 9 份, 每份约 0.25 g, 添加

0.1112 mg/mL 大黄素对照品储备液 1.4、2.2、3.0 mL 和 0.2500 mg/mL 大黄酚对照品储备液 1.2、2.0、2.8 mL, 制备供试品溶液, 平行 3 份, 取样, 注入液相色谱仪, 测定, 计算回收率, 结果大黄素平均回收率为 99.767%, RSD 为 2.28%; 大黄酚平均回收率为 99.411%, RSD 为 1.54%。

2.9 样品测定: 取 8 批样品, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算样品中大黄素和大黄酚的质量分数, 结果见表 1。可见每片中大黄素和大黄酚的总量约在 0.19~0.56 mg, 暂拟定本品中每片大黄素和大黄酚的总量不得少于 0.20 mg。

表 1 利胆片中大黄素和大黄酚的测定结果

Table 1 Determination of emodin and chrysophanol in Lidan Tablets

批号	大黄素/ (mg·片 <sup>-1</sup> )	大黄酚/ (mg·片 <sup>-1</sup> )	总量/ (mg·片 <sup>-1</sup> )
080301	0.083	0.14	0.22
080302	0.083	0.13	0.21
080303	0.080	0.14	0.22
080304	0.071	0.12	0.19
080305	0.072	0.12	0.20
080307	0.081	0.15	0.23
080308	0.074	0.13	0.20
080309	0.076	0.14	0.21

### 3 讨论

本实验曾采用《中国药典》2005 年版一部大黄项下大黄素和大黄酚的测定方法, 该方法操作比较复杂, 故将该法中先甲醇超声再盐酸超声, 而后再氯仿回流的几个步骤合为一步, 以甲醇-盐酸-三氯甲烷(25:2:23)回流, 结果发现该方法操作简单, 且所测成分的量高于药典所用方法, 故采用该法作为测定中供试品溶液的制备方法。

用 Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Licrosorb C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Hypersil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 3 个不同型号的色谱柱所测大黄素和大黄酚质量分数的 RSD 均小于 2.0%, 色谱柱对该方法基本无影响。

用不同 pH 值 2.5、2.75、3.25 的流动相所测大黄素和大黄酚质量分数的 RSD 小于 2.0%, 流动相的 pH 值在以上范围内对该方法基本无影响。

用 244、254、264 nm 不同检测波长所测大黄素和大黄酚质量分数的 RSD 小于 3.0%, 检测波长在以上范围内对该方法基本无影响。