

高效液相色谱法测定轻身减肥片中 大黄素与大黄酚的含量

张云¹, 宋旭峰²

(1 浙江中医学院, 浙江 杭州 310053; 2 杭州市药品检验所, 浙江 杭州 310014)

摘要: 目的: 运用反相高效液相色谱法测定轻身减肥片中大黄素及大黄酚的含量。方法: 采用 Zorbax C₁₈ 柱, 甲醇-0.1% 磷酸溶液(80:20)为流动相, 检测波长为 254nm。结果: 大黄素的回收率为 95.8%, *RSD* = 1.86%; 大黄酚为 95.7%, *RSD* = 1.93% (*n* = 5)。结论: 本法简便、快速、重现性好, 可作为制剂的定量分析方法。

关键词: 大黄素; 大黄酚; 轻身减肥片; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)05-0004-03

Determination of Emodin and Chrysophanol in Qingshenjianfei Tablets by RP-HPLC

ZHANG Yun¹, SONG Xufeng²

(1. Zhejiang College of TCM, Hangzhou 310053, China;

2. Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310014, China)

Abstract Objective: To determine the contents of Emodin and Chrysophanol in Qingshenjianfei Tablets by RP-HPLC. Methods: column in this methods Zorbax C₁₈; mobile phase: methanol-0.1% phosphoric acid(80:20); detection wavelength: 254nm. Results: Recovery and *RSD* of Emodin and chrysophanol were 95.8%, 1.86%; 95.7% and 1.93% (*n* = 5) respectively. Conclusion: This method is simple and quick, reproducible, and can be used for the quantitative analysis.

Key words: Emodin; Chrysophanol; Qingshenjianfei Tablets; RP-HPLC

轻身减肥片为中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十九册收载的品种, 由大黄等十一味中药组成, 具有轻身减肥、益气健脾、活血化瘀、宽胸去积之功效, 用于单纯性肥胖, 为减肥良药^[1]。方中大黄为君药, 含有大黄素(Emodin)和大黄酚(Chrysophanol)等有效成分^[2], 现行质量标准尚无大黄的含量测定。用双波长薄层扫描法测定该药中的大黄素含量已有报道^[3], 但未曾有用高效液相色谱法同时测定此制剂中大黄素和大黄酚含量的文献报道。为了更好地控制该制剂的质量, 本文以大黄的有效成分大黄素(Emodin)和大黄酚(Chrysophanol)为指标, 用甲醇-盐酸溶液加热回流提取, 采用高效液相色谱法测定其含量, 并经方法学考察, 认为本法可行, 能为该制剂的质量控制提供简便、快速、准确的测定方法。

1 仪器、试剂与样品

仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪, 包括 G1311A 四元泵、G1322A 在线脱气机、G1316A 柱温箱、G1313A 自动进样器、G1314AVWD 检测器、Agilent Chem 化学工作站; AG245 型电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO)。试剂: 甲醇为色谱试剂一级, 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。对照品: 大黄素 0758-200110, 大黄酚 0796-9404(中国药品生物检定所提供)。样品: 轻身减肥片由正大青春宝药业有限公司生产, 批号为 9903001、9903002、9903003; 空白试验中所用中药均由杭州市药品检验所标本室提供, 经本文作者鉴定均符合《中国药典》2000 年版一部规定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (4.6mm × 150mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(80:20); 检测波长: 254nm; 流速: 1.00ml·min⁻¹; 柱温: 35℃。

2.2 标准曲线制备 精密称取大黄素对照品

10.80mg, 置50量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取5ml至50ml量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成每1ml含21.60 μ g的对照品溶液; 精密称取大黄酚对照品9.15mg, 置25ml量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取2ml至25ml量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成每1ml含29.28 μ g的对照品溶液。大黄素对照品溶液分别进样0.8、1.6、2.4、3.2、4.0、4.8、5.6 μ l, 大黄酚对照品溶液分别进样0.5、2.0、3.5、5.0、6.5、8.0、9.5、11.0、13.0、15.0 μ l, 进行测定。以对照品进样量(X)为横坐标, 峰面积积分值(Y)为纵坐标绘制工作曲线。大黄素: $Y = 3240.7X - 27.6$, $r = 0.9999$; 大黄酚: $Y = 4665.6X - 42.3$, $r = 0.9999$; 表明大黄素在0.017~0.121 μ g、大黄酚在0.015~0.439 μ g范围内线性关系良好。

2.2 精密度试验 取大黄素对照品溶液2 μ l、大黄酚对照品溶液5 μ l分别进样测定。结果大黄素峰面积RSD为0.16%, $n = 8$; 大黄酚峰面积RSD为0.12%, $n = 8$ 。

2.3 供试品溶液的制备与测定 取样品20片除去糖衣, 精密称定, 研成细粉, 取0.15g, 精密称定, 精密加入甲醇-盐酸(25:1)溶液25ml, 称定重量, 水浴回流1h, 放冷, 补足重量, 滤过, 精密吸取续滤液10ml蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至10ml量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 作供试品溶液。取供试品溶液, 用0.22 μ m的微孔滤膜滤过, 进样10 μ l测定, 用外标法计算, 结果见表1。

表1 轻身减肥片中大黄素与大黄酚的含量($n = 7$)

批号	大黄素		大黄酚	
	(mg/片)	RSD(%)	(mg/片)	RSD(%)
9903001	0.195	0.55	0.680	0.47
9903002	0.212	0.34	0.704	0.41
9903003	0.207	0.50	0.697	0.36

2.4 重现性试验 取同一批样品, 按样品测定项下处理, 得7份供试品液。进样测定, 结果大黄素RSD为0.34%, 大黄酚RSD为0.41%

2.5 稳定性试验 在室温条件下, 将同一份供试品液在2天内每隔一天时间测定一次, 共测定7次。结果大黄素RSD为1.62%, 大黄酚RSD为1.06%。表明在2天内溶液基本稳定。

2.6 回收率试验 精密称取已知含量的样品适量, 精密加入甲醇-盐酸(25:1)溶液25mL, 称定重量, 精密加入0.2160mg $\cdot$ ml $^{-1}$ 的大黄素对照品溶液500 μ l和0.3660mg $\cdot$ ml $^{-1}$ 大黄酚对照品溶液1000 μ l, 水浴回流

1h后, 挥去溶剂约2ml, 按供试品溶液的制备与测定项下自“放冷, 补足重量, ...”起处理, 计算回收率(见表2、3)。结果表明, 平均回收率大黄素为95.8%, $RSD = 1.86\%$; 大黄酚为95.7%, $RSD = 1.93\%$ 。

表2 大黄素的回收率

No.	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.1484	0.1080	0.2501	94.2	95.8	1.86
2	0.1534	0.1080	0.2600	98.7		
3	0.1573	0.1080	0.2610	96.0		
4	0.1517	0.1080	0.2539	94.6		
5	0.1555	0.1080	0.2584	95.3		

表3 大黄酚的回收率

No.	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.4932	0.3660	0.8379	94.2	95.7	1.93
2	0.4596	0.3660	0.8192	98.3		
3	0.5485	0.3660	0.8978	95.4		
4	0.5290	0.3660	0.8829	96.7		
5	0.5236	0.3660	0.8668	93.8		

2.7 空白试验 取除大黄外处方规定的其余药, 按制法制成空白样品。取0.15g, 精密称定, 按供试品溶液的制备与测定项下处理成空白供试品液, 经高效液相色谱分析, 结果在大黄素、大黄酚对照品相应的位置上无干扰峰出现, 说明处方中其他药味的成分对测定结果无干扰。对照品、供试品和空白样品HPLC色谱图见图1。

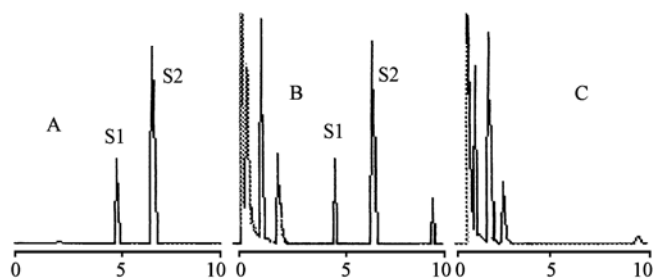


图1 HPLC图谱

A: 对照品图谱 B: 样品图谱 C: 空白样品图谱

S1: 大黄素 S2: 大黄酚

3 讨论

大黄中的大黄素、大黄酚以游离状态和结合状态二种形式共存, 文献报道多用乙醇等溶剂提取后再酸化水解处理^[2,4], 提取步骤繁琐。本文用甲醇-盐酸(25:1)溶液直接提取处理, 测得的结果与用乙醇提取后再酸化水解处理测得的结果基本一致。本

法提取简便、快速,结果可靠、可行。

甲醇-盐酸溶液回流分别进行 0.5、1、1.5、2、3h 的回流提取,得到的样品溶液,经测定,结果 1、1.5、2、3h 提取的大黄素、大黄酚含量 RSD 分别为 1.51%、1.23%,提示结果基本一致,表明 1h 的提取已基本完全。

对文献报道^[4,5]的流动相进行了预试验,结果表明,用甲醇-1%磷酸溶液(80:20)作为流通相测定轻身减肥片中大黄素和大黄酚含量较为适宜,理论塔板数以大黄素峰计为 6925、以大黄酚计为 9744,分离度均大于 5.0,具有出峰时间短,又可使二者在基线分离的特点,且其他成分对此无干扰。

样品用甲醇-盐酸溶液回流后,滤过的溶液因酸度过高,将造成色谱柱严重损坏,不宜直接进行测定。必须将溶液完全蒸干,让盐酸挥尽,用甲醇溶解

后方可进样测定。

本文为轻身减肥片中大黄素及大黄酚的含量测定建立了一个可行的方法,可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂. 第十九册[S]. 1998. 135.
- [2] 陈发奎,王玉珍,王维彬,等. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1997. 28.
- [3] 李红梅,刘勇勇,隋军,等. 薄层扫描法测定轻身减肥片中大黄素的含量[J]. 中医药信息,1998,(6):47-48.
- [4] 中华人民共和国药典 2000 年版(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2000. 18.