

# HPLC 法测定立血康软胶囊中大黄 2 组分的含量

陈大中

(黑龙江中医药大学中医药研究院, 哈尔滨 150040)

**摘要:** 目的: 建立立血康软胶囊中大黄素和大黄酚的含量测定方法, 以控制该产品的质量。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温: 30℃; 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液 (85:15), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 254 nm。结果: 大黄素在 0.018 2~0.182 0 μg 之间与其峰面积有良好的线性关系 (r=0.999 9), 大黄酚在 0.044 2~0.442 0 μg 之间与其峰面积有良好的线性关系 (r=0.999 9)。平均加样回收率为 97.33% (RSD=1.44%)。结论: 方法简便易行、准确可靠, 可用于立血康软胶囊的质量控制。

**关键词:** 药剂学; 大黄素; 大黄酚; 立血康软胶囊; 含量测定

**中图分类号:** R927.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1674-2850(2008)06-0363-4

## Determination of contents of 2 components from Rhubarb in Lixuekang soft capsule by HPLC

CHEN Dazhong

(Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang  
University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

**Abstract:** Objective: To establish a quantitative determination method of Emodin and Chrysophanol in Lixuekang soft capsule to control quality. Methods: The method of HPLC was carried out with Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and detection wavelength was 254 nm. Results: Emodin and Chrysophanol had a good linearity in the range of 0.018 2~0.182 0 μg and 0.044 2~0.442 0 μg, respectively. Conclusion: The method is easy, accurate and can be used to control quality of Lixuekang soft capsule.

**Key words:** pharmaceutics; Emodin; Chrysophanol; Lixuekang soft capsule; qualitative determination

## 0 引言

立血康软胶囊是由大黄、三七和熊胆三味中药组成的中药复方制剂, 主要用于血液粘稠和高血脂的治疗。立血康软胶囊是以传统中医药理论为指导原则, 运用现代制药技术, 以混悬液作为软胶囊内容物, 引用非牛顿流体的特性指标评价混悬液的稳定性, 根据方中各味中药有效成分、有效部位理化性质不同, 采用合理的提取方法精制而成。为了控制该产品的质量, 本实验建立了用 HPLC 法测定方中大黄的主要成分大黄素和大黄酚总含量的方法。

## 1 材料与试药

FL2200 高效液相色谱仪 (福立分析仪器有限公司), FL2200 紫外检测器 (福立分析仪器有限公司), N2000 高效液相色谱工作站 (浙江大学智达信息工程有限公司)。大黄素对照品 (批号: 0756-9908, 中国药品生物制品检定所), 大黄酚对照品 (批号: 796-9302, 中国药品生物制品检定所)。甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

**基金项目:** 哈尔滨市青年科学基金 (2004AFQXJ018)

**作者简介:** 陈大中 (1970—), 男, 副研究员, 中药学. E-mail: cdz89@126.com

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub>柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液 (85 : 15), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 254 nm, 进样量 10 μL<sup>[1]</sup>。将大黄素及大黄酚对照品溶液, 样品溶液各 10 μL 注入色谱仪, 得色谱图, 如图 1 所示。供试品中的大黄素及大黄酚能与其它峰达基线分离, 大黄素峰保留时间约为 6 min, 分离度大于 1.5。大黄酚峰保留时间约为 10 min, 分离度大于 1.5。

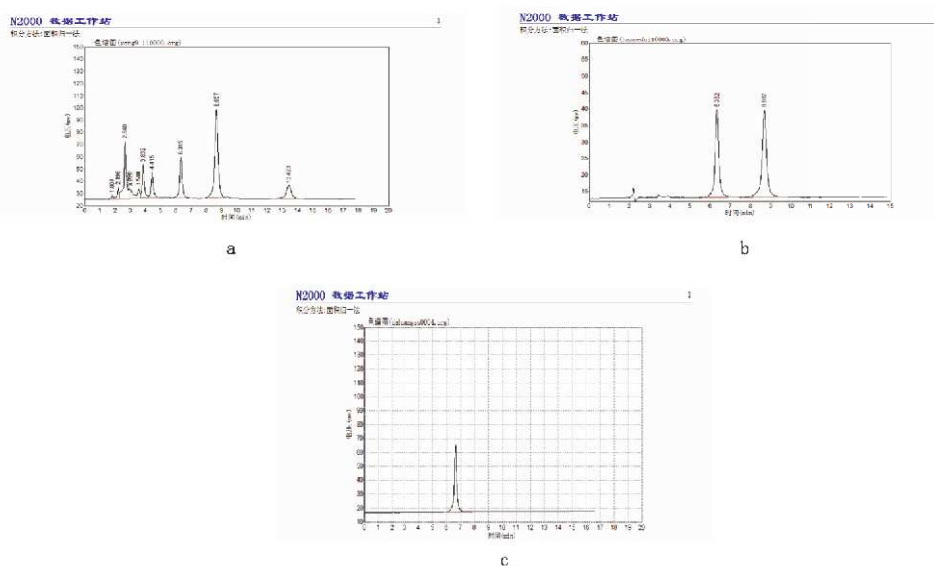


图 1 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram map

1—样品; 2—大黄素和大黄酚对照品; 3—大黄素对照品  
1—Sample; 2—Emodin and Chrysophanol; 3—Emodin

### 2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取大黄素对照品 0.91 mg、大黄酚对照品 2.21 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀即得。精密吸取混合对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 分别转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。

### 2.3 供试品溶液制备

取本品 10 粒, 倾出内容物, 混匀, 精密称取 3 g, 置锥形瓶中加入水 10 mL, 置水浴微热溶解, 滤过, 至分液漏斗中, 放置室温, 分取下层溶液, 蒸干, 残渣加入 2.5 mol/L 硫酸溶液 10 mL, 超声处理 (功率 120 W, 频率 45 kHz) 5 min, 加入三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 转移至分液漏斗中, 用少量 CHCl<sub>3</sub> 洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷溶液, 酸液用 CHCl<sub>3</sub> 振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并 CHCl<sub>3</sub> 液, 以无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, CHCl<sub>3</sub> 液回收溶剂至干。残渣精密加入甲醇溶液 10 mL, 称定重量, 置水浴中微热溶解, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足缺失重量, 摇匀, 滤过, 精密滤取续滤液 2 mL 转移至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀即得。

### 2.4 标准曲线绘制

精密吸取混合对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 分别转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述溶液各 10 μL, 按照 2.2 中的色谱条件进样, 测定峰面积, 以大黄素、大黄酚峰面积积分值 (A) 为纵座标, 进样浓度 (C) 为横座标进行线性回归, 大黄素的回归方程为  $Y = -2661.204 + 40164.271.95X$  ( $r = 0.9999$ ), 表明大黄素在 0.018 2~0.182 0 μg 之间呈良

好的线性关系；大黄酚回归方程为： $Y=6\ 859.351\ 958+19\ 185\ 489.38X$  ( $r=0.999\ 9$ )，表明大黄酚在  $0.044\ 2\sim 0.442\ 0\ \mu\text{g}$  之间呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

取本品 10 粒 (批号 20060308)，倾出内容物，混匀，按照 2.3 中制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液  $10\ \mu\text{L}$ ，连续进样 6 次，照上述色谱条件测定峰面积，计算相对标准差 RSD，大黄素 RSD 为 1.89%，大黄酚 RSD 为 1.47%。

### 2.6 稳定性试验

精密吸取按照上文 2.5 中所制备出的供试品溶液 (批号 20060308)  $10\ \mu\text{L}$ ，按照 2.3 中色谱条件，按设定时间每次间隔 30 min 连续测定 6 次，计算大黄素和大黄酚的峰面积积分值的相对标准差 RSD，大黄素 RSD 为 1.20%，大黄酚 RSD 为 1.30%。供试品溶液在 3 h 之内测定是稳定的。

### 2.7 重现性试验

称取同一批号 (批号 20060308) 供试品 6 份，精密称定重量，按照 2.3 中制备供试品溶液和测定峰面积，计算平均含量及相对标准差 RSD。大黄素和大黄酚总含量的相对标准差为 1.57%，本方法重现性较好。

### 2.8 回收率试验

取本品 (批号：20060308)，倾出内容物，混匀，称取 6 份，每份约 2 g，精密称定，加入大黄素和大黄酚混合对照品溶液 1 mL 分别按照 2.3 中供试品溶液制备及测定峰面积，计算回收率，结果如表 1 所示<sup>[2]</sup>。

表 1 回收率实验数据表 (n=6)  
Tab1 Result of recovery rate of paeoniflorin (n=6)

序号	供试品取样量/g	加入对照品总量 (大黄素+大黄酚) /mg	测得供试品 总含量/mg	测得对照品 总含量/mg	回收率/%
1	2.001 1	0.312	1.175	0.307	98.39
2	2.002 3	0.312	1.17	0.301	96.47
3	2.016 3	0.312	1.175	0.30	96.15
4	1.998 7	0.312	1.177	0.304	99.36
5	2.002 1	0.312	1.174	0.305	97.75
6	2.001 0	0.312	1.167	0.299	95.83
平均回收率/%		RSD=1.44%			97.33

### 2.9 样品测定

对 3 批中试样品的含量测定结果如表 2 所示。本制剂中每粒含大黄素和大黄酚总含量不低于 0.20 mg。

表 2 供试品含量测定数据表 (n=3)  
Tab2 Result of sample determination (n=3)

批号	对照品	对照品	对照品	供试品 取样量/g	供试品含量 大黄素+大黄酚
	进样量/ $\mu\text{L}$	大黄素峰面积	大黄酚峰面积		
20060315	10	374 117.213	442 807.52	2.876 4	0.22 mg/粒
20060326	10			3.625 9	0.28 mg/粒
20060403	10			3.352 2	0.21 mg/粒
平均含量					0.23 mg/粒

## 3 讨论

大黄素及大黄酚的含量测定方法文献报道较多，本文参照大黄浸膏含量测定方法 (中国药典 2005

年版), 采用测定波长 254 nm。流动相的选择以甲醇—水为基础系统, 进行了 pH 值及极性调整, 结果以甲醇—0.1%磷酸溶液 (85 : 15) 为流动相, 供试品中的大黄素及大黄酚能与其它峰达基线分离, 分离度都大于 1.5。在提取溶剂的选择上尽可能提取本品全部大黄素及大黄酚, 除去其它杂质, 进行了酸不同水解时间的比较, 以大黄素及大黄酚提取量为指标。结果酸水解处理 1 h 后, 样品大黄素及大黄酚提取量变化不大。因此采用酸水解 1 h。用氯仿脱脂可消除油脂类成分对大黄素和大黄酚测定的影响, 还可消除此类成分对色谱柱的损坏, 延长色谱柱的使用时间。

#### [参考文献] (References)

- [1] 魏玉梅, 薛利华, 李炜, 等. HPLC 测定一清软胶囊中大黄素和大黄酚的含量[J]. 西北药学杂志, 2007, 22 (6): 173.  
WEI Y M, XUE L H, LI W, et al. Determination of emodin and chrysophanol in Yiqing soft capsules by HPLC[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2007, 22(6): 173. (in Chinese)
- [2] 余英, 董玲, 杜秋霞, 等. HPLC 测定妇炎灵泡腾片中大黄素、大黄酚的含量[J]. 中成药, 2004, 26 (7): 551~552.  
YU Y, DONG L, DU Q X, et al. Determination of emodin and chrysophanol in fuyanling effervescent tablets by HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2004, 26(7): 551~552. (in Chinese)