

# 反相 HPLC 法测定益脉康颗粒中大黄素的含量

吴智南 赵陆华<sup>1</sup>(佛山 528000 佛山德众药业有限公司;<sup>1</sup>南京 210009 中国药科大学理化测试中心)

**摘要:**采用反相 HPLC 法,测定益脉康中大黄素( $C_{15}H_9O_5$ )的含量,用反相柱和甲醇-0.5%磷酸(90:10)作为流动相,用紫外检测器。对提取方法、样品的纯化方法进行了考察,测定了三个批号益脉康颗粒样品,结果显示该法重现性好,干扰因素少。

**关键词** 首乌;大黄素;反相 HPLC

益脉康由首乌、黄芪等 12 味药材组成的中药复方制剂,具有益气健脾,化浊导滞,消痰降脂功效,用于眩晕头痛、血脂升高等症的治疗。首乌为方中的主药,其有效成份大黄素,有较强的降脂作用。首乌中大黄素的含量测定,已报道的文献有比色法、薄层扫描法、高效液相等<sup>[1,2]</sup>,但上述方法多限于药材中大黄素的测定,本文对提取方法、样品液的纯化进行考察,建立一灵敏、专属可靠的方法测本制剂中大黄素的含量。同时为测定含首乌的复方制剂中的大黄素含量测定提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与药品

Water 高效液相色谱仪;510 高压泵;486 检测器;810 液相色谱工作站。

大黄素对照品(中国药品生物制品检定所购买,供含量测定用);益脉康颗粒(佛山德众药业有限公司提供);甲醇为色谱用试剂, Sep-pak  $C_{18}$  小柱(Waters);其他试剂均为分析纯。

### 1.2 色谱条件

色谱柱:十烷基硅烷键合硅胶  $6 \times 150$ mm,流动相:甲醇-0.5%磷酸(90:10);检测波长:254nm;柱温:室温;流速:0.8ml/min。此条件大黄素与其它组分均能达到基线分离。

### 1.3 提取方法的选择

取本品 1g,精密称定,用甲醇为溶剂分别用超声波提取,索氏提取器提取、热回流两次等不同的提取方法比较,结果表明,3 种提取方法测定结果无明显的差别,故选择操作简便的超声波提取法。

### 1.4 供试品溶液的纯化

为了获得较好的色谱分离效果,实验中对供试品溶液进行纯化:提取后直接进样、酸碱处理后进样、提取后通过  $C_{18}$  净化柱洗脱后进样、酸碱处理后通过  $C_{18}$  净化柱洗脱后进样,实验结果表明:酸碱处理后通过  $C_{18}$  小柱处理方法最佳。

### 1.5 线性关系的考察

取大黄素用流动相制成 0.01mg/ml 溶液,精密吸取对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 $\mu$ l 按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,大黄素量为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程:  $Y = 809258X - 19641$ ,  $r = 0.9996$ 。表明大黄素在 0.05 ~ 0.25 $\mu$ g 范围内具有良好的线性关系。

### 1.6 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液,重复进样 5 次,大黄素峰面积积分值相对标准偏差为 0.93%。

### 1.7 重现性试验

取同一批样品 6 份,按样品测定项下方法进行测定,大黄素含量相对标准偏差为 2.5%。

### 1.8 回收率测定

采用加样回收法,取已知含量的颗粒,分别加入大黄素对照品,按样品测定项下相同的方法提取、测定,结果见表 1。

表 1 回收率测定结果(单位: $\mu$ g)

序号	样品含量	加入量	测出总量	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
1	0.1200	0.1000	0.2116	96.18		
2	0.1200	0.1000	0.2108	95.81		
3	0.1200	0.1000	0.2143	97.41	96.20	2.5
4	0.1200	0.1000	0.2101	95.50		
5	0.1200	0.1000	0.2114	96.09		

### 1.9 样品的测定

取本品 1g,精密称定,加甲醇 50ml,超声波处理 1h,滤过,残渣用少量甲醇洗涤,合并甲醇液,挥干,残渣加盐酸 2ml,水 20ml,水浴回流 1h,放冷,加入氯仿 30ml 水浴回流半小时,放冷,分取氯仿层,水层用氯仿萃取 2 次,每次 20ml,合并氯仿液,浓缩至 20ml,用 5% 的碳酸氢钠萃取四次,每次 15ml,合并提取液,用盐酸调节 pH 1~2,用乙醚萃取 4 次,每次 20ml,合并乙醚液,挥干<sup>[3]</sup>,残渣用 50% 的甲醇使溶解,通过 sep-pak

C<sub>18</sub>净化柱,用50%甲醇20ml洗脱,弃去洗脱液,再用85%甲醇8ml洗脱,收集洗脱液,定容于10ml的量瓶中,稀释至刻度,作为供试品溶液。分别吸取供试品溶液,对照品溶液各5 $\mu$ l,注入液相色谱仪,测定峰面积,以外标法计算,即得。结果列入表2。

表2 样品测定结果(单位:mg/g,%,n=3)

批号	含量(%)	RSD(%)
981205	40.20	1.6
981213	44.66	1.9
981225	43.52	2.2

## 2 讨论

2.1 本文采用超声波振荡提取样品,简便易行。通过对同一份样品考察了不同的超声时间的提取率,结果表明,超声提取1h,即可完全提取。

2.2 样品成份复杂,提取液经酸碱预处理后,通过sep-pak C<sub>18</sub>净化柱,除去大部分的干扰成分,分别对C<sub>18</sub>净化柱选用不同的溶剂浓度、用量洗脱后,进行HPLC分析,选择出最佳的洗脱条件。

## 参考文献

- 1 孙彤云等.中成药研究,1985,11:8.
- 2 姚桂根等.中成药研究,1984,3:4.
- 3 张志荣等.华西药学杂志,1994,9(4):225.