

HPLC 法测定通便宁片中芦荟大黄素和大黄酸的含量

于 永 洲

(广州市药品检验所, 广东省广州市荔湾区西村西增路 23 号, 510160)

摘要 番泻叶为通便宁片复方制剂中的君药, 原标准采用分光光度法测定其中番泻苷 B 的含量, 但操作复杂且所测成分易见光分解。文章以 HPLC 法测定其芦荟大黄素和大黄酸的含量, 以此作为番泻叶成分的测定指标, 以期探索方便有效的测定方法。

关键词 通便宁片; 芦荟大黄素; 大黄酸

Determination of Contents of Aloe-emodin and Rhein in Tongbianning Tablet with HPLC

Yu Yongzhou

(Guangzhou Institute for Drug Control, Add.: No. 23, Xizeng Road, Liwan District, Guangzhou, Guangdong Province, Post code: 510160)

Abstract Senna is the sovereign ingredient of Tongbianning compound Tablet. According to established standard, content of sennoside B assessed by spectrophotometry is used to determine Senna, but the operation is complicated and sennoside B is easily disintegrated under exposure to light. In this article, methods of HPLC for determination of Aloe-emodin and Rhein are discussed in order to discover new parameters and more effective methods for Sennas analysis.

Key Words Tongbianning Tablet; Aloe-emodin; Rhein

通便宁片是由番泻叶干膏粉、牵牛子、砂仁、豆蔻组成的复方制剂, 具有宽中理气, 泻下通便的功效, 用于实热便秘, 其中番泻叶为君药。原标准采用分光光度法测定番泻叶中番泻苷 B 的含量, 其测定操作复杂且所测成分易见光分解, 故本文中采用芦荟大黄素和大黄酸作为番泻叶的指标成分进行 HPLC 法测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; SPD-M20A 检测器; SHIMADZU LC solution 工作站。

1.2 试剂 芦荟大黄素 (0795-200806), 大黄酸 (110757-200206) 均由中国药品生物制品检定所提供; 通便宁片及相关阴性对照药由某药厂提供; 甲醇为色谱纯; 水为超纯水, 其他均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 岛津 shim pack VP-DOS C18 (150mm × 4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (70:30); 检测波长为 254nm; 流速为 1.0mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

2.2 对照品溶液的制备 取芦荟大黄素对照品、大黄酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1mL 含 30 μ g 芦荟大黄素和 100 μ g 大黄酸的混合溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 称定重量, 研细, 取 1g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 超声处理 30min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 15mL, 置锥形瓶中, 水浴

蒸干, 残渣加 8% 盐酸溶液 15mL, 水浴加热回流 30min, 放冷, 加二氯甲烷 20mL, 继续加热回流 1h, 立即冷却, 转移置分液漏斗中, 用二氯甲烷少量多次的洗涤容器, 溶液并入分液漏斗中, 分取下层溶液, 酸水层再用二氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 20mL, 合并二氯甲烷提取液, 80 $^{\circ}$ C 水浴蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 依照“2.3”项下的方法制备阴性对照溶液。试验结果表明阴性对照溶液无芦荟大黄素和大黄酸的吸收峰, 故认为阴性无干扰。

2.5 线性关系考察 取芦荟大黄素、大黄酸对照品, 用甲醇溶解稀释配成含芦荟大黄素 30.23 μ g/mL 和大黄酸 117.4 μ g/mL 的混合对照品溶液, 分别进样 1 μ L、3 μ L、5 μ L、10 μ L、20 μ L、30 μ L。以进样量 (m) 为横坐标 (x), 峰面积积分为纵坐标 (y), 绘制标准曲线, 得线性方程: 芦荟大黄素 $y = 4863.3x - 11477$, $r = 1$; 大黄酸 $y = 4321.5x - 37631$, $r = 1$, 结果表明在 30.23 ~ 906.9ng 范围内芦荟大黄素线性关系良好, 在 117.4 ~ 3522ng 范围内大黄酸线性关系良好。

2.6 重复性试验 取同一批通便宁片样品 6 份, 每份约 1g, 精密称定, 研细, 按“2.3”项下的制备方法制备供试品溶液并测定, 结果芦荟大黄素平均含量为 0.202mg/片, RSD 为 2.0%。大黄酸平均含量为 0.673mg/片, RSD 为 1.1%, 结果表明本方法重复性良好。

表 1 芦荟大黄素回收率试验结果

取样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加 入量(mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5010	0.2100		0.4257	101.74		
0.5024	0.2106		0.4218	99.62		
0.5081	0.2130		0.4177	96.56		
0.5018	0.2103	0.2120	0.4246	101.08	100.9	2.5
0.5020	0.2104		0.4299	103.54		
0.5067	0.2123		0.4304	102.88		

表 2 大黄酸回收率试验结果

取样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加 入量(mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5010	0.6997		1.4054	100.38		
0.5024	0.7016		1.4105	100.84		
0.5081	0.7096		1.4074	99.26		
0.5018	0.7008	0.703	1.4067	100.41	100.3	0.5
0.5020	0.7011		1.4086	100.64		
0.5067	0.7076		1.4133	100.38		

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于0、2、4、8、12、24、48h 依法测定样品,结果芦荟大黄素含量的RSD为1.0%,大黄酸含量的RSD为0.6%,表明供试品溶液在48h以内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的(含芦荟大黄素为0.202mg/片,大黄酸0.673mg/片)粉末约0.5g,精密称定,共6份,置锥形瓶中,精密加入混合对照品溶液(含芦荟大黄素8.48μg/mL,大黄酸28.12μg/mL)25mL,继续“2.3”项下制备供试品溶液,

按“2.1”项下的色谱条件测定。结果见表1和表2。

表 3 样品测定结果

批号	样1(mg/片)		样2(mg/片)		平均(mg/片)	
	芦荟大黄素	大黄酸	芦荟大黄素	大黄酸	芦荟大黄素	大黄酸
8001	0.211	0.684	0.212	0.688	0.212	0.686
8002	0.217	0.697	0.213	0.693	0.215	0.695
8003	0.202	0.674	0.203	0.672	0.202	0.673

2.9 3批样品测定结果 取收集到的通便宁片样品3批,照“2.3”项下的制备方法制备供试品溶液,分别吸取对照品溶液与供试品溶液各10μL,按上述色谱条件测定,计算,测定结果见表3。

3 讨论

参考《中国药典》2005年版一部中“大黄”含量测定项下的提取方法并进行修改,由于三氯甲烷毒性较大,改为二氯甲烷作为提取溶剂,并对比了直接酸水解提取与先酸水解再提取的差异,结果表明先酸水解再提取所得含量明显高于直接酸水解提取的含量,故作为本文选择的提取方法。曾对4%盐酸溶液、8%盐酸溶液、16%盐酸溶液进行考察,结果表明当盐酸溶液浓度为8%时,其提取的芦荟大黄素和大黄酸含量最高,故选择8%的盐酸溶液进行酸水解。考察不同酸水解时间对芦荟大黄素和大黄酸测定结果的影响。分别将水浴加热回流30min、1h、2h,结果表明,酸水解30min就可以水解完全,因此选择酸水解时间为30min。

(2000-0-0 收稿)②

对白细胞减少症宜健脾补肾化痰

王 鸣¹ 杨文华²

(1 天津中医药大学,天津市南开区双峰道9号,300193; 2 天津中医药大学第一附属医院)

关键词 白细胞减少/中医药疗法

白细胞减少症系多种原因引起的血白细胞持续低于正常值($4 \times 10^9/L$)的综合征,临床较为常见,多由感染、放射线、药物及某些疾病所致。根据白细胞减少症的临床表现归属于中医“虚劳”“血虚”范畴。白细胞减少症虽病因各异,但根据临床特点,其病发于内,常因先天禀赋不足或后天失调所致,病位为骨髓,与脾肾相关,病性多虚实夹杂,本病以脾肾亏虚、气血不足贯穿始终;治疗上应以健脾补肾化痰为其大法。介绍1例如下。

患者某,男,35岁,2009年10月9日初诊,主诉:乏力9个月余,加重伴头晕3天。患者9个月前无明显诱因出现乏力,四肢酸软,时有心悸,于附近医院查血常规:白细胞 $2.8 \times 10^9/L$,红细胞 $4.3 \times 10^{12}/L$,血红蛋白128g/L,血小板 $157 \times 10^9/L$,建议血液病专科治疗,遂就诊于某血液病医院,查血常规示白细胞减少,骨穿:粒系增生不良,红、巨两系大致正常,予利血生等生白药物,其间多次化验血常规:白细胞在 $3.0 \times 10^9/L$ 左右,偶有

正常,3日前患者乏力头晕等症状加重,遂就诊于我院门诊。刻诊:神清,精神尚可,面色少华,乏力,头晕,四肢酸软,腰膝冷痛,心悸气短,活动后加重,胃脘不适,时恶心,纳差,寐安,二便调,舌暗红苔薄白,脉沉细涩。查血常规:白细胞 $3.1 \times 10^9/L$,红细胞 $4.7 \times 10^{12}/L$,血红蛋白147g/L,血小板 $202 \times 10^9/L$ 。中医辨证属脾肾亏虚,兼以血瘀,治以健脾补肾化痰。方选:四君子汤合右归丸加穿山甲、红花等活血化痰药物。药用:党参20g,白术25g,茯苓30g,炙甘草6g,竹茹6g,熟地黄10g,山茱萸15g,鹿角胶15g(烊化),补骨脂10g,菟丝子20g,杜仲20g,山药30g,穿山甲10g,桃仁15g,红花10g,7剂,水煎服150mL,每日2次。

2009年10月17日二诊:患者头晕乏力、胃脘不适等症状明显好转,纳食较前增加,仍时有心悸气短等症状,查血常规:白细胞 $4.2 \times 10^9/L$,红细胞 $5.1 \times 10^{12}/L$,血红蛋白139g/L,血小板 $253 \times 10^9/L$,于前方中加入川芎15g、丹参30g、檀香6g,再服7剂,服药后诸症好转,嘱继服理中丸加金匮肾气丸以巩固疗效。

(2009-12-16 收稿)