

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)07-0077-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.07.016



高效液相色谱法同时测定解毒化癍丸中3种成分含量

杨庆芳

(河南省安阳市市场监管审评中心·河南省安阳市药物警戒中心,河南 安阳 455000)

摘要:目的 建立同时测定解毒化癍丸中橙皮苷、大黄素和大黄酚含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长分别为 284 nm(橙皮苷)、254 nm(大黄素、大黄酚), 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。结果 橙皮苷、大黄素、大黄酚的进样量分别在 0.343 5~3.434 6 μg($r=0.999 9, n=6$)、0.043 9~0.439 2 μg($r=0.999 9, n=6$)、0.081 7~0.816 6 μg($r=0.999 9, n=6$) 范围内与峰面积线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$); 平均加样回收率分别为 95.92%, 93.57%, 97.06%, RSD 分别为 1.62%, 1.84%, 2.26% ($n=6$)。3 批样品中橙皮苷、大黄素、大黄酚的平均含量分别为 2.100 0, 0.160 8, 0.368 0 mg/g。结论 该方法操作简便、结果准确, 重复性和稳定性均较好, 可用于同时测定解毒化癍丸中橙皮苷、大黄素、大黄酚的含量, 有助于进一步完善其质量标准。

关键词: 高效液相色谱法; 解毒化癍丸; 橙皮苷; 大黄素; 大黄酚; 含量测定

Simultaneous Determination of Three Components in Jiedu Huayu Pills by HPLC

YANG Qingfang

(Anyang Market Supervision and Evaluation Centre · Anyang Pharmacovigilance Centre, Anyang, Henan, China 455000)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for simultaneous determination of hesperidin, emodin, and chrysophanol in Jiedu Huayu Pills. **Methods** The chromatographic column was Symmetry C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was set at 284 nm for hesperidin and 254 nm for emodin and chrysophanol, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of hesperidin, emodin, and chrysophanol were 0.343 5 - 3.434 6 μg ($r=0.999 9, n=6$), 0.043 9 - 0.439 2 μg ($r=0.999 9, n=6$), and 0.081 7 - 0.816 6 μg ($r=0.999 9, n=6$), respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0% ($n=6$). The average recoveries of hesperidin, emodin, and chrysophanol were 95.92%, 93.57%, and 97.06%, with RSDs of 1.62%, 1.84%, and 2.26% ($n=6$), respectively. The average contents of hesperidin, emodin, and chrysophanol in the three batches of samples were 2.100 0, 0.160 8, and 0.368 0 mg/g, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, and has good repeatability and stability, which can be used for the simultaneous determination of hesperidin, emodin, and chrysophanol in Jiedu Huayu Pills. It is helpful to further improve the quality standard of Jiedu Huayu Pills.

Key words: HPLC; Jiedu Huayu Pills; hesperidin; emodin; chrysophanol; content determination

解毒化癍丸是由金银花、玄参、大黄、延胡索、青皮、甘草等15味中药材制成的中药复方制剂。方中, 大黄为臣药, 具有泻下攻积、清热泻火等功效^[1-4], 大黄素和大黄酚为大黄的主要有效成分; 青皮具有疏肝破气、消积化滞等作用, 为使药, 可调和配方中其他药物的药性, 橙皮苷为青皮的有效成分, 具有抗氧化、抗炎和降低胆固醇的作用^[5-8]。中药成分的检测方法中, 高效液相色谱法具有分离效果好、灵敏度高、分析速度快等优点。解毒化癍丸现行质量标准只有显微鉴别和黄连的薄层色谱鉴别, 无法全面控制药品质量。故本研究中参考文献^[1-8], 建立了同时测定解毒化癍丸中橙皮苷、大黄素和大黄酚3种成分含量的高效液相色谱法, 为完善其质量标准提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); MSA225S-000-DU 型电子天平(德国 Sartorius 公司, 精度为十万分之一); SB-5200DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司, 功率为 220 W, 频率为 50 kHz)。

1.2 试剂

橙皮苷对照品(批号为 110721-202019, 含量为 95.3%), 大黄素对照品(批号为 110756-201913, 含量为 96.0%), 大黄酚对照品(批号为 110796-201922, 含量为 99.4%), 均购于中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为自制超纯水; 解

毒化癍丸(医院自制,批号分别为220301,220504,220701)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Symmetry C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A) - 0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~13 min时40%A,13~18 min时40%A → 90%A,18~35 min时90%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:284 nm(橙皮苷)、254 nm(大黄素、大黄酚);柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

取橙皮苷对照品18.02 mg、大黄素对照品11.44 mg、大黄酚对照品10.27 mg,精密称定,分别置20 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,制成单一成分对应质量浓度分别为0.858 6,0.549 1,0.510 4 mg/mL的对照品贮备液。分别精密吸取各单一成分对照品贮备液5,1,2 mL,置同一25 mL容量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,即得质量浓度分别为171.73,21.96,40.83 μg/mL的混合对照品溶液。取样品适量,研细,取2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇20 mL,密塞,再称定质量,超声提取(功率为220 W,频率为50 kHz)30 min,放至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方工艺分别制备缺大黄、青皮的阴性对照品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下混合对照品溶液、供试品

溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现,3种成分的色谱峰分离度大于1.5,基线分离良好,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察:精密吸取2.2项下混合对照品溶液2,4,6,8,10,20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标、待测成分进样量(X, μg)为横坐标进行线性回归。结果见表1。

表1 线性关系考察结果(n=6)

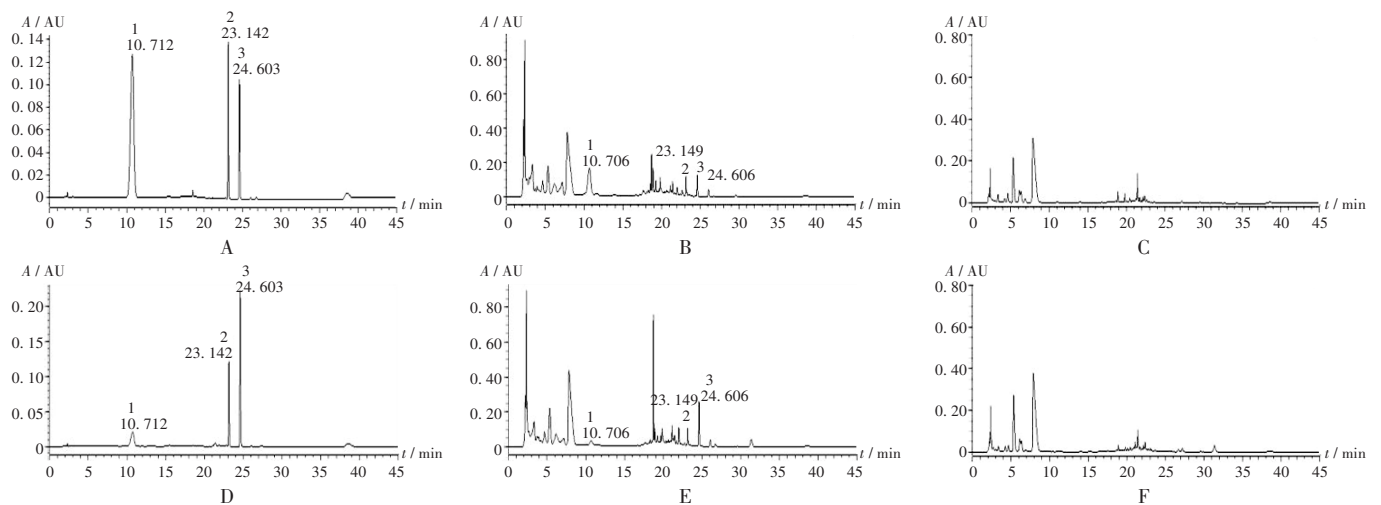
Tab. 1 Results of the linear relation test (n = 6)

成分	回归方程	r	线性范围(μg)
橙皮苷	$Y = 19\ 666\ 650 X - 127\ 055.3$	0.999 9	0.343 5~3.434 6
大黄素	$Y = 33\ 307\ 930 X - 20\ 787.8$	0.999 9	0.043 9~0.439 2
大黄酚	$Y = 38\ 908\ 220 X - 46\ 055.2$	0.999 9	0.081 7~0.816 6

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果混合对照品溶液中橙皮苷、大黄素、大黄酚峰面积的RSD分别为0.31%,0.28%,0.22%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为220301)适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于室温放置0,2,4,6,8,12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果橙皮苷、大黄素、大黄酚峰面积的RSD分别为1.90%,0.78%,1.63%(n=6),表明供试品溶液在室温放置12 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为220301)适量,精密称



1. 橙皮苷 2. 大黄素 3. 大黄酚

A, D. 混合对照品溶液(284,254 nm) B, E. 供试品溶液(284,254 nm) C, F. 阴性对照品溶液(284,254 nm)

图1 高效液相色谱图

1. Hesperidin 2. Emodin 3. Chrysophanol

A, D. Mixed reference solution (284,254 nm) B, E. Test solution (284,254 nm) C, F. Negative reference solution (284,254 nm)

Fig. 1 HPLC chromatograms

定,平行6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果橙皮苷、大黄素、大黄酚含量的RSD分别为1.18%,0.52%,1.51%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为220301)6份,每份1.0g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入橙皮苷、大黄素、大黄酚对照品2.1400,0.2000,0.2980mg,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表2。

表2 加样回收试验结果(n=6)

Tab.2 Results of the recovery test (n=6)

成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
橙皮苷	1.0775	2.2628	2.1400	4.3420	97.16	95.92	1.62
	1.0222	2.1466	2.1400	4.1840	95.21		
	1.0062	2.1130	2.1400	4.1700	96.12		
	1.0598	2.1626	2.1400	4.1880	94.64		
	1.0138	2.1290	2.1400	4.1440	94.16		
	1.0339	2.1502	2.1400	4.2520	98.21		
大黄素	1.0775	0.1733	0.2000	0.3580	92.35	93.57	1.84
	1.0222	0.1644	0.2000	0.3500	92.80		
	1.0062	0.1618	0.2000	0.3460	92.10		
	1.0598	0.1704	0.2000	0.3640	96.80		
	1.0138	0.1630	0.2000	0.3500	93.50		
	1.0339	0.1663	0.2000	0.3540	93.85		
大黄酚	1.0775	0.3965	0.2980	0.6820	95.81	97.06	2.26
	1.0222	0.3762	0.2980	0.6700	98.59		
	1.0062	0.3703	0.2980	0.6600	97.21		
	1.0598	0.3900	0.2980	0.6680	93.29		
	1.0138	0.3731	0.2980	0.6660	98.29		
	1.0339	0.3805	0.2980	0.6760	99.16		

2.4 样品含量测定

取3批样品(批号分别为220301,220504,220701)各适量,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算样品含量。结果见表3。

表3 样品中3种成分含量测定结果(mg/g)

Tab.3 Results of the content determination of the three components in samples (mg/g)

批号	橙皮苷	大黄素	大黄酚
220301	2.1121	0.1639	0.3695
220504	2.0926	0.1589	0.3668
220701	2.0952	0.1596	0.3678
\bar{X}	2.1000	0.1608	0.3680

3 讨论

3.1 流动相选择

本研究中考察了用不同比例的甲醇-水、乙腈-水为流动相(梯度洗脱)时的分离效果,结果3种成分色谱峰的分离效果较差。又参考文献[9-15],考察不同比例的甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相(等度洗脱)时的分离效果,结果以甲醇-0.1%磷酸溶液(40:60,V/V)为流动相时的分离效果较好,但耗时较长,在此基础上用梯度洗脱进行优化,最终确定2.1项下色谱条件中的洗脱程序,结果橙皮苷、大黄素、大黄酚3种成分不仅分离效果好,还节约时间。

3.2 检测波长选择

参考文献,大黄素、大黄酚在254nm波长处有明显吸收^[1-4],橙皮苷在284nm波长处有明显吸收^[5-8],故采用二极管阵列检测器进行全波长扫描,结果大黄素、大黄酚在254nm波长处有最大吸收,橙皮苷在284nm波长处有最大吸收,且杂质干扰少。最终确定2.1项下分段检测波长。

3.3 方法评价

本研究建立的方法操作简便、结果准确、重复性和稳定性良好,可用于同时测定解毒化痰丸中橙皮苷、大黄素、大黄酚的含量,有助于进一步完善其质量标准。

参考文献

- [1] 肖琳婧,秦学玲,金蒙,等. HPLC法多成分含量测定结合化学计量学评价上清丸中大黄的质量[J]. 中国民族民间医药, 2023,32(20):28-37.
- [2] 黄敏,陆石英,叶萍. HPLC法测定上清丸中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量[J]. 中药材, 2013,36(7):1174-1176.
- [3] 周海,陈章源,谢学深. 高效液相色谱法测定乌军治胆片中 大黄素和大黄酚含量[J]. 中国药业,2009,18(20):24-25.
- [4] 萨日古拉,牧其尔,乌汉其木格,等. 高效液相色谱法同时测定阿木日-6胶囊中大黄素和大黄酚含量[J]. 中国药业, 2022,31(18):73-75.
- [5] 徐兰,李刚,彭秘,等. 高效液相色谱法同时测定胃特安片中4种成分含量[J]. 中国药业,2023,32(23):99-102.
- [6] 张东霞,张火旺. 高效液相色谱法测定复方半夏片中橙皮苷含量[J]. 中国药业,2023,32(3):84-86.
- [7] 承晨,李莉. HPLC法同时测定代代花中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷和辛弗林的含量[J]. 药学与临床研究,2020, 28(4):263-265.
- [8] 张婷婷,梁燕,彭灿. 不同方法提取陈皮中黄酮类有效成分含量比较[J]. 中国药业,2021,30(13):40-43.
- [9] 许丁香,谭智艳,李仁伟,等. 镇咳宁口服液质量标准提高研究[J]. 中国药业,2022,31(8):86-88.
- [10] 李霞,易徐航,杨恢检,等. 高效液相色谱法同时测定橘红