

# HPLC 法测定小儿消退糖浆中大黄酚含量

王淑蓓 袁恒杰 戚爱棣

**摘要** [目的] 建立以高效液相色谱法测定小儿消退糖浆中的大黄酚含量的方法。[方法] 色谱为  $C_{18}$  色谱柱 (4 mm×250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为甲醇—水—磷酸—戊烷磺酸钠 (80:20:0.1:0.1), 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为室温。[结果] 大黄酚检测浓度在 5~25 mg/L 范围内与峰面积值线性关系良好 ( $r=0.9999$ ), 平均回收率为 100.13% (RSD=1.1%)。[结论] 本方法可用于消食退热糖浆的质量检测。

**关键词** 高效液相色谱法 小儿消退糖浆 大黄酚 含量

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-9043(2009)02-0089-03

## Determination of Chrysophanol in Pedo-digestion & fever-bringing-down Syrup by HPLC

WANG Shu-bei, YUAN Heng-jie, QI Ai-di

(Department of Pharmacy, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

**Abstract:** [Objective] To establish HPLC method for determination of chrysophanol in pedo-digestion & fever-bringing-down syrup. [Method] The determination was performed on  $C_{18}$  column, the mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid-sodium pentanesulfonic acid (80:20:0.1:0.1 g) with flow rate at 1.0 mL/min and detection wavelength at 254 nm under room temperature. [Results] Chrysophanol had good linear relation in the range of 5~25 mg/L ( $r=0.9999$ ), the average recovery was 100.13% (RSD=1.1%). [Conclusion] The method can be used to control the quality of digestion & bringing down a fever syrup.

**Key words:** HPLC; Digestion & bringing down a fever syrup; Chrysophanol determination

小儿消退糖浆是由大黄、柴胡、知母、青蒿、槟榔、牡丹皮、水牛角、荆芥穗、黄芩、厚朴等 10 余种中药材制成的中成药, 具有消食除积, 退热解表之功效。在处方中大黄、柴胡为主药。由于柴胡没有法定对照品, 而大黄中的大黄酚性质较稳定, 不易溶于水, 专属性强干扰少<sup>[1-2]</sup>。为有效控制该制剂质量, 笔者建立了高效液相色谱法测定大黄酚含量的方法。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** LC-2010 高效液相色谱仪 (日本岛津株式会社), 2201 型紫外检测器 (日本岛津株式会社), AR2140 电子分析天平 (美国奥豪斯公司)。

**1.2 试剂** 大黄酚对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0796-200211); 小儿消退糖浆 (天津医科大学总医院制剂室自制, 批号 070621、070622、070623); 甲醇为色谱醇, 磷酸、戊烷磺酸钠等均为分析醇, 水为重蒸馏水。

作者单位 300052 天津医科大学总医院 (王淑蓓 袁恒杰)  
300193 天津中医药大学 (戚爱棣)

作者简介 王淑蓓 (1980-) 女 药师 天津中医药大学中药专业在职研究生, 主要从事中医制剂工作。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件及系统适应性试验** 色谱柱: ALL-tech  $C_{18}$  (4 mm×250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 甲醇—水—磷酸—戊烷磺酸钠 (80:20:0.1:0.1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 室温。进样量 20  $\mu$ L, 灵敏度 0.02 AUFS。分别取样品测定项下溶液 20  $\mu$ L, 各重复进样 5 次, 记录色谱图, 量出大黄酚的保留时间和半峰高宽, 计算理论塔板数, 结果其理论塔板数均大于 2000; 大黄酚保留时间为 13.2 min; 拖尾因子亦符合药典规定。大黄酚的液相色谱图见图 1。阴性对照图谱显示阴性的色谱峰。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取大黄酚对照品 5 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中用甲醇溶解稀释至刻度, 摇匀, 制成 1 mL 中约含 50  $\mu$ g 的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液及阴性对照品溶液的制备** 取小儿消退糖浆约 50 g, 精密称定, 加 0.5 mL 稀盐酸, 加乙醚适量超声波提取 30 min, 分离乙醚层, 低温挥干乙醚层, 加适量甲醇, 溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。同法取不含大黄的样品制备成阴性对照品溶液。

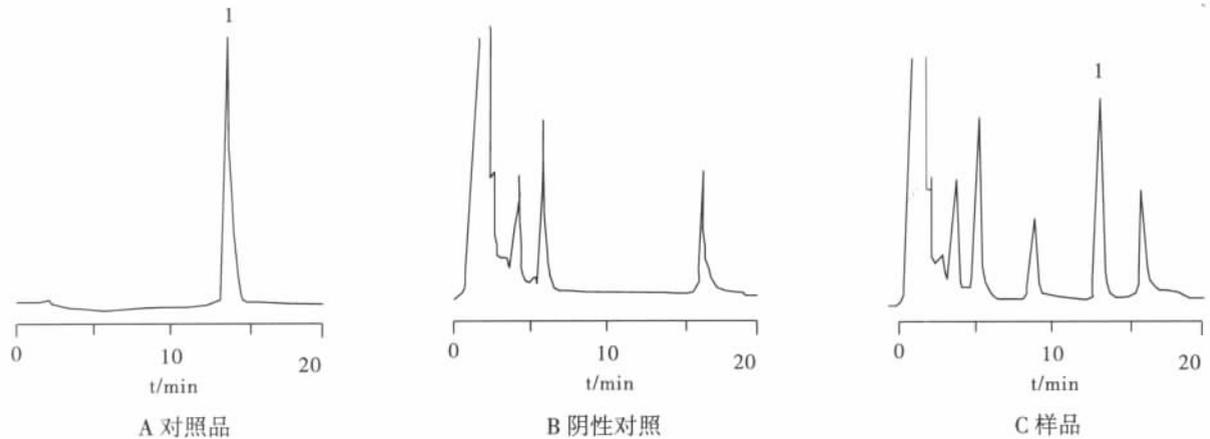


图1 大黄酚的HPLC图谱

**2.4 线性关系考察** 精密量取对照品溶液1、2、3、4、5 mL,分别置10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,分别配制成5、10、15、20、25 mg/L系列浓度的对照品溶液,按“2.1 色谱条件”项下进样20  $\mu$ L。进样后,记录峰面积,以浓度 $X$ 与峰面积 $Y$ 进行线性回归,得回归方程为 $Y=4\ 048.58X+42\ 915.7$  ( $r=0.999\ 9$ )。结果,大黄酚浓度在5~25 mg/L范围内与峰面积线性关系良好。

**2.5 精密度实验** 取“2.3 供试品溶液”项下,按“2.1 色谱条件”项下进样20  $\mu$ L,连续测定5次,记录峰面积,RSD为1.1% 结果见表1。

表1 大黄酚精密度实验结果

浓度 (mg/L)	峰面积				平均值	RSD (%)
	1	2	3	4		
12.03	610 891	620 754	615 409	629 890	617 727	1.3
15.04	769 569	760 951	771 054	760 184	768 522	1.1
18.05	918 143	912 480	905 831	898 864	911 560	1.0

**2.6 稳定性实验** 取“2.3 供试品溶液”项下,按“2.1 色谱条件”项下于配置0、1、2、4、6、12 h分别进样20  $\mu$ L,进行含量测定,大黄酚峰面积RSD为1.5%,结果表明供试品溶液在12 h内稳定,见表2。

表2 大黄酚稳定性实验结果

浓度 (mg/L)	不同时间的峰面积					RSD (%)
	0 h	2 h	4 h	6 h	12 h	
12.03	610 891	627 034	614 879	609 381	628 094	1.4
15.04	762 509	779 064	761 738	755 608	763 517	1.1
18.05	894 205	925 637	918 347	920 284	929 041	1.5

**2.7 加样回收率实验** 取已知含量的样品,准确加入大黄酚对照品适量,按“2.1”项下方法测定含量,

计算回收率 结果见表3。

表3 加样回收率实验结果

取样量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.3215	0.100 6	0.421 0	99.66	100.13	1.1
	0.101 0	0.420 8	99.47		
	0.100 7	0.421 6	99.81		
	0.205 0	0.526 1	99.88		
	0.204 6	0.535 7	102.99		
	0.204 4	0.525 7	99.94		
	0.310 0	0.631 0	99.84		
	0.309 7	0.630 4	99.75		
	0.309 8	0.630 8	99.84		

**2.8 样品含量测定** 取3批样品,按“2.3 制备供试品溶液”项下方法,再按“2.1 色谱条件”项下进样20  $\mu$ L,测定,记录峰面积积分值,按外标法计算样品中大黄酚的含量,结果详见表4。

表4 样品含量测定结果

批号	大黄酚含量(mg/L)			平均值 (mg/L)	RSD (%)
	1	2	3		
070621	15.04	14.95	15.36	15.12	1.4
070622	14.88	14.92	15.21	15.00	1.2
070623	15.02	14.94	15.33	15.10	1.4

### 3 讨论

本实验过程中曾选取多种流动相进行实验,包括不同比例的甲醇—水和甲醇—水—磷酸系统。实验结果表明:加入戊烷磺酸钠后,各组分分离效果较好,并且流动相甲醇:水:磷酸:戊烷磺酸钠(80:20:0.1:0.1) g 所得的色谱图分离效果最好,达到分离要求。根据大黄酚的化学性质特点选用氯仿<sup>[3]</sup>作为提取液,在选定的色谱条件下杂质峰较多,而且氯仿的毒性较大,遂改用乙醚<sup>[4]</sup>作为提取液对大黄酚进

行提取,结果较氯仿效果好。因此选用乙醚为提取液,提取方法为超声波提取。实验结果表明,检测方法简单,实验条件成熟,符合定量分析的要求,可用于小儿消渴糖浆的质量检测。

参考文献:

[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(4):173-174.

- [2] 肖培云,杨永寿. HPLC 法测定小儿导赤片中大黄酚的含量[J].西北药学杂志,2008,23(2):85-87.
- [3] 张素中,孙冬梅,罗文汇. HPLC 法测定肾安康胶囊中大黄素、大黄酚和丹参素钠的含量[J].中国新药与临床药理,2008,3(19):137-140.
- [4] 靳朝东,许瑞征,刘书堂. HPLC 法测定清热化滞颗粒中大黄酚[J].中草药,2006,37(2):224-225.

(收稿日期:2008-11-20)

## · 雏鹰之窗 ·

# 清法是少阳病本证的代表治法

曾瑞才

关键词 《伤寒论》辨证论治 少阳病本证 治法

中图分类号:R222 文献标识码:A 文章编号:1673-9043(2009)02-0091-01

读张仲景书,悟张仲景意,用张仲景方,笔者深入剖析《伤寒论》少阳篇及相关内容,从少阳病感邪性质、形成过程、辨证立法及柴胡汤法归属等方面讨论,认为“清法是少阳病的代表治法”。

从感邪来看,导致少阳病本证表成的病邪性质有寒热之分。转属性少阳病多感受阴寒类邪气,由太阳伤寒或太阳中风证失治误治,外邪传入少阳,从阳化热导致。原发性少阳病言“少阳中风”,其尽见火热之象,不排除风阳类邪气致病的可能,“妇人中风”(143条)亦属此类。少阳病本证无论病邪寒热,寒者入里化热,热者留恋少阳,热势已成,均应用清法。

论中263条“口苦”3症,提示胆热内郁,胆火上炎的病机,列为少阳病提纲证。而189条“阳明中风”,也有“口苦咽干”的症状。张仲景既知“口苦”三症非少阳病所特有,其旨在示后人探讨少阳病及其证治应着眼于少阳经腑本身。264条“两耳无所闻,目赤”既重于“口苦”3症,“胸中满而烦”又是三焦经气不利,气郁化火上扰心神的表现,为原发性手足少阳同病。两者均是无形风火内扰胆腑、三焦及少阳经脉所致,随证立法,治以清降火热之法。原文96条除主症“往来寒热”,“胸胁苦满”示转属少阳病病机之外,兼证及或然之症的本质仍为邪恋少阳,胆火内郁,三焦气机不利,或因其而致,张仲景详述其治疗及加减之法,但仍以清降火热,疏散火气之法为主。

另外,动态来看少阳和阳明胃肠之间的关系,103条及104条示临证若只予下法清阳明热实而不清少阳之热,邪热

反复转入阳明,犹隔靴搔痒,难奏全效。少阳病兼里实证和少阳阳明同病的治疗当以清法为主,“先与小柴胡”清泄少阳邪热,或清下结合,阳明之虞方有根除之机。

再者,张仲景所言“和”剂,意为缓和、平调味的方剂,如原文70、387条主以调胃承气汤、桂枝汤轻剂和调营卫、和缓清下,是相对于大承气汤、麻黄汤等峻剂而说的。而“和”解之法并未涉及小柴胡汤等汤剂。显然,柴胡汤并未在仲师“和”法汤剂系列之中。《本草经》言:“柴胡主……寒热邪气”。“黄芩主诸热……恶疮前天蚀火疮。”后世著作亦有论述,《本草纲目》言:“柴胡平肝、胆、三焦、包络相火。”《本草正》言黄芩“退往来寒热”,《滇南本草》言:“除六经实火实热。”足可柴胡、黄芩苦寒,长“寒以胜之”,直折火热之本——柴胡汤中,柴胡、黄芩用量俱重。重用柴胡,取其散热退热之用,柴胡、黄芩合用,为清泄少阳邪热的典型配伍。总而言之,柴胡汤系列总属“清”剂范畴。至于小柴胡汤中半夏、人参、生姜之辈,非相反相成之用,而是相辅相成,为兼顾而设。

妇人伤寒,或妇人中风,不解,热与血结,寒热而作,此为少阳病。经水“适来”者,热邪与血俱下,“必自愈”,以下代清故也。经水适断者,邪热没有出路,“小柴胡汤主之”,由此证明小柴胡汤为“清”剂。

张仲景示脾胃气虚、痰湿中阻、升降失职为痞者,中气大伤、脾虚失运者,脾阳不足、寒饮内停者,均不宜用柴胡汤。少阳病邪不在表,也不在胃肠,故禁用汗、吐、下,邪热得清剂方能解除。两者反证柴胡汤苦寒清泄之性。

(收稿日期:2008-12-15)

作者单位:300193 天津中医药大学

作者简介:曾瑞才(1986-),男,2005级本科生。