

高效液相色谱法用于复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷含量测定

LC-349

摘要：本文参照国家药品监督管理局 2021 年第 124 号通告《复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷检查项补充检验方法》(BJY 202112)，使用高效液相色谱仪对复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷进行测定。实验结果表明，对照品的理论塔板数 11661，大于 3000，系统适应性满足检测要求；土大黄苷的检出限为 0.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.0024%)，定量限为 0.081 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.0081%)，可满足检测要求。

关键词：复方龙胆碳酸氢钠片 土大黄苷 高效液相色谱仪 二极管阵列检测器

土大黄苷 (Rhaponticin) 又称土大黄素。《中国药典》(2020 年版) 以大黄中不得检出土大黄苷为鉴定大黄真伪的标准。

《中国药典》收录的大黄为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄的干燥根和根茎。其性寒，味苦，具有泻热通肠、凉血解毒、逐淤通经的功效。正品不含土大黄苷，而藏边大黄、华北大黄、河套大黄和波叶大黄等伪品含有土大黄苷，未含大黄的蒽酮苷类功效成分，故具有不同的作用和疗效，但大黄与其伪品的外观性状相似而不易区分，容易

造成生产企业的误投料和患者的误服。加之含大黄的成药标准中存在着不完善的地方，从而不能完全保证用药安全有效。因此对复方龙胆碳酸氢钠片 (含有大黄粉) 中的土大黄苷进行监测是必要的。

本法采用甲醇进行超声提取，过滤后直接上机测定，具有操作简单，效率高，重现性好等特点。利用岛津液相色谱 - 二极管阵列检测器，通过比对供试品与对照品的保留时间及其光谱图，对复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷进行定性定量检查，建立了土大黄苷的检测方法，供相关行业参考。

■ 实验部分

1.1 仪器配置

输液泵：LC-30AD \times 2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

在线脱气机：DGU-20A_{SR}

系统控制器：CBM-20A

色谱工作站：LabSolutions

二极管阵列检测器：SPD-M30A

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack Scepter C18-120 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm I.D., 5 μm ;
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-31020-06)

流动相：A 相—水；B 相—乙腈

流速：1.0 mL/min

进样量：10 μL

波长：190 nm-700 nm, 325 nm

柱温：35 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：等度洗脱，A：B=80:20 (v/v)

1.3 标准溶液的配制

对照品溶液的制备：

取土大黄苷适量，加乙醇配制成 1 mg/mL 的储备液；然后用乙醇稀释至 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液，作为对照品溶液。

1.4 供试品溶液的制备

参照《复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷检查项补充检验方法》(BJY 202112)。

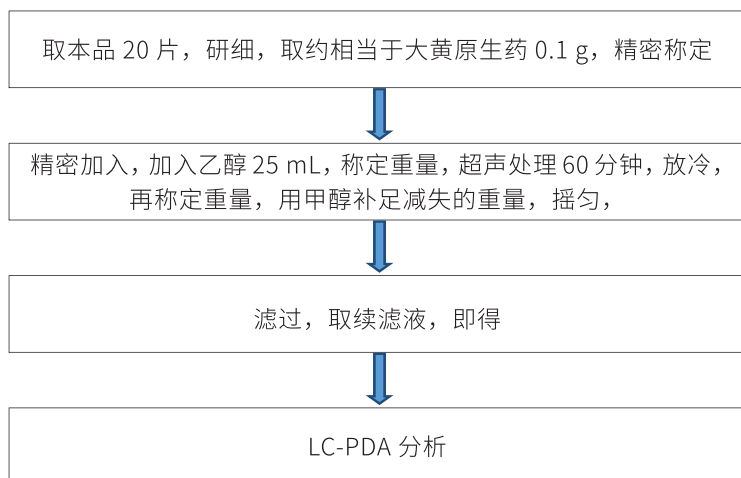


图 1 前处理流程图

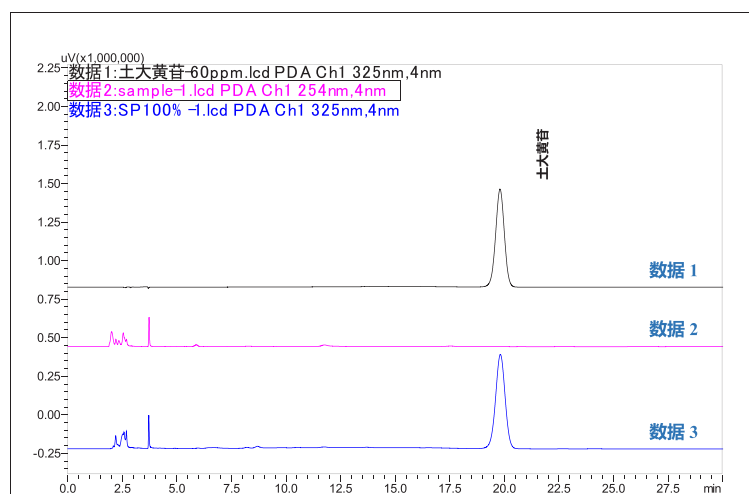
1.5 结果判断

供试品色谱中，在与土大黄苷对照品色谱峰保留时间相应的位置上应不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，则采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰的紫外 - 可见吸收光谱，吸收光谱应不同（土大黄苷对照品色谱峰在 219 nm 和 325 nm 波长处有最大吸收）；若吸收光谱相同，则视为阳性检出。[源自《复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷检查项补充检验方法》(BJY 202111)，国家药品监督管理局，2021 年 10 月]

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

土大黄苷对照品按照等度条件分析，土大黄苷保留时间为 RT=19.800 min，理论塔板数 11661，大于 3000，系统适应性通过。对照品、供试品、供试品加标进行分析，如下图 2，供试品中未检出土大黄苷，而供试品加标样品可检出土大黄苷，结果符合预期。



注：数据 1 为对照品；数据 2 为供试品；数据 3 为供试品加标样品

图 2 对照品、供试品、供试品加标色谱图

2.2 检出限及定量限

对浓度为 60 $\mu\text{g/mL}$ 的土大黄苷溶液进样分析，由信噪比计算其检出限及定量限 (LOD, $S/N=3$; LOQ, $S/N=10$)，结果如表 1 所示。

表 1 土大黄苷的检出限和定量限

名称	基质	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
土大黄苷	复方龙胆碳酸氢钠片	0.0024	0.081

2.3 光谱图相似度判别

将土大黄苷对照品溶液按照上述分析条件进行上样分析，得到标准的色谱图以及光谱图。供试品和供试品加标溶液在相同条件下进行上样分析，供试品中未检测到峰，供试品加标溶液中松香酸保留时间为 19.568 min，与对照品溶液保留时间一致。将供试品加标样品中对应色谱图的光谱图与土大黄苷对照品标准光谱图进行比较如图 3 所示，其光谱相似度为 99.99%。

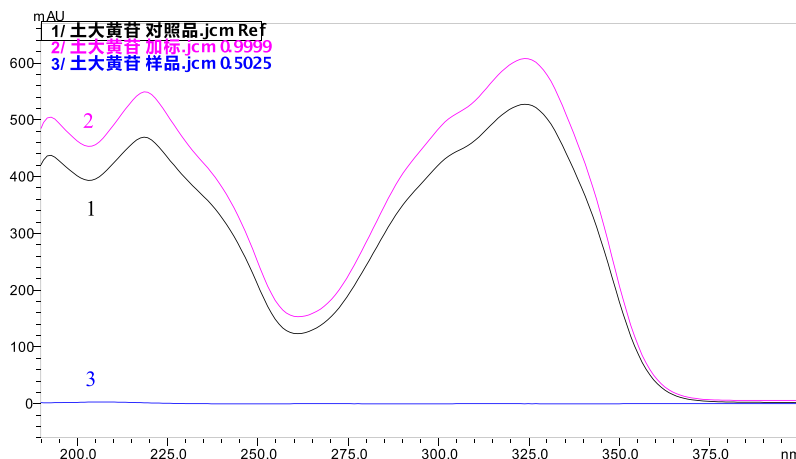


图 3 土大黄苷标品与复方龙胆碳酸氢钠片加标光谱图 (190-400 nm)
(1 为对照品, 2 为供试品加标, 3 为供试品)

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	对照品.jcm	设置	1.00	324/219/666/642	203/261/512/676/663	Ref	
2	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	加标.jcm	设置	1.00	324/219/663	203/261/553/636	0.9999	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	样品.jcm	设置	1.00	207/646/268	249/662	0.5025	

图 4 光谱相似度对比结果 (1 为对照品, 2 为供试品加标, 3 为供试品)

结论

本文采用岛津 LC-PDA 高效液相色谱二极管阵列检测系统，建立了复方龙胆碳酸氢钠片中违规使用土大黄苷的定性确认方法。试验证明，该方法基于色谱保留时间以及 UV 光谱图定性，选择性强，准确度高，可有效地检测复方龙胆碳酸氢钠片中的土大黄苷，供相关行业参考。

岛津应用云

