

# 系数倍率法测定消肿散瘀软膏中蒽醌类成分的含量

吕 鹏, 房德敏, 唐淑萍\*

(天津医院, 天津 300211)

**摘要:** 目的 建立消肿散瘀软膏的质量控制标准。方法 采用系数倍率分光光度法。结果 能直接消除空白基质的背景干扰, 平均回收率为 97.94% ( $RSD=1.03\%$ ) 在  $2.46\sim 24.6\mu\text{g/mL}$  浓度范围内线性良好 ( $r=0.9998$ )。

**结论:** 方法简便、经济、重复性好, 可用于消肿散瘀软膏的质量控制。

**关键词:** 消肿散瘀软膏; 总蒽醌; 系数倍率法; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)07-0608-02

## Quantitative determination of anthraquinone in XIAOZHONGSAN YU OINTMENT by K-ratio method

LU Peng, FANG De-min, TANG Shu-ping

(Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China)

**Key words** XIAOZHONGSAN YU OINTMENT; total anthraquinone; K-ratio method; quantitative determination

消肿散瘀软膏是由大黄、当归、红花、血余炭等十几味中草药加羊毛脂、凡士林等软膏基质制成, 具有消肿、止痛、活血功能, 用于跌打损伤、肌肉红肿疼痛等症的止痛药物。大黄为本制剂君药之一, 其有效成分为蒽醌类成分, 而结合蒽醌往往具有更强的生理活性, 因此测定消肿散瘀软膏中蒽醌类成分的含量, 对于控制药品质量、制定质量标准具有重要参考价值, 本文以 1,8-二羟基蒽醌为标样, 对该制剂中游离、结合总蒽醌的含量进行了测定。

### 1 仪器与药品

UV-760CRT 型双光束紫外可见分光光度计 (上海第三分析仪器厂); 1,8-二羟基蒽醌对照品 (中国药品生物制品检定所, 0829-9702); 所用试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

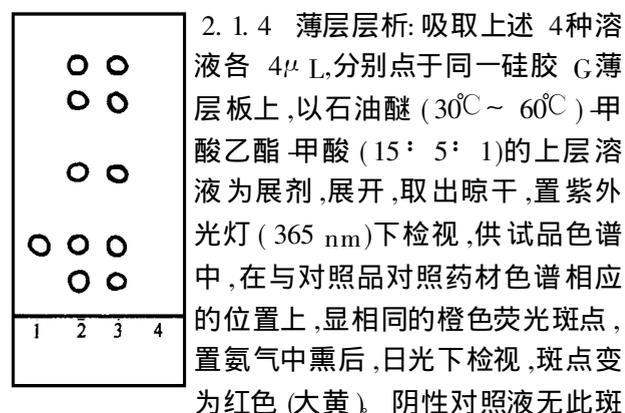
#### 2.1 大黄的鉴别

2.1.1 供试品液的制备: 取样品 2 g, 加甲醇 20 mL 浸渍 1 h, 滤过, 取滤液 5 mL 蒸干, 加水 10 mL 使溶解, 再加盐酸 1 mL, 置水浴上加热 30 min, 立即冷却, 用乙醚分 2 次提取, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加氯仿 1 mL 使溶解, 备用。

2.1.2 大黄对照药材和大黄酸对照品液的制备: 取大黄对照药材 0.1 g, 按供试品液的制备方法制备。再取大黄酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的

溶液, 作为对照品溶液。

2.1.3 阴性对照液的制备: 按处方比例制成缺大黄的空白药膏, 同供试品液的制备方法制成阴性对照液。



1-大黄酸

2-大黄对照药材

3-消肿散瘀膏

4-阴性药膏

图 1 样品的 TLC 图

2.1.4 薄层层析: 吸取上述 4 种溶液各  $4\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 ( $30^{\circ}\text{C}\sim 60^{\circ}\text{C}$ ) 甲酸乙酯-甲酸 (15:5:1) 的上层溶液为展剂, 展开, 取出晾干, 置紫外光灯 ( $365\text{ nm}$ ) 下检视, 供试品色谱中, 在与对照品对照药材色谱相应的位置上, 显相同的橙色荧光斑点, 置氨气中熏后, 日光下检视, 斑点变为红色 (大黄)。阴性对照液无此斑点。见图 1。

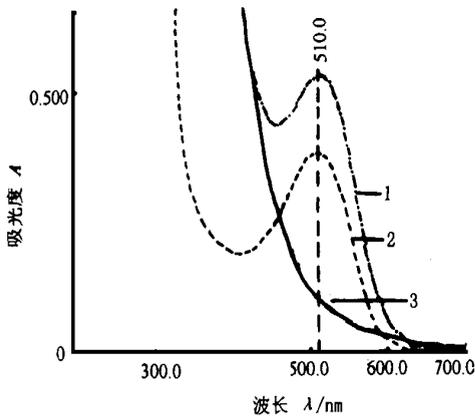
### 2.2 含量测定

2.2.1 标准溶液的配制: 精密称取  $105^{\circ}\text{C}$  干燥至恒重的 1,8-二羟基蒽醌标准品 25 mg, 置 200 mL 容量瓶中, 用乙醚溶解稀释至刻度, 即为  $0.125\text{ mg/mL}$  标准储备液。

2.2.2 空白药膏的制备<sup>[1]</sup>: 按消肿散瘀膏处方比例, 加入除大黄药材以外的其它 10 味中药, 按消肿散瘀膏制备工艺制备。

2.2.3 紫外吸收光谱的测定: 精密吸取标准储备液

3 mL置 25 mL容量瓶中,水浴挥干乙醚,用 5% NaOH-2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 定容至刻度,在沸水浴中加热 4 min,冷却,放置 30 min 同法将供试品溶液及空白药膏提取液用紫外分光光度在 190~ 900 nm 范围内,以 5% NaOH-2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 为空白,进行光谱扫描,结果见图 2



1 供试品 2 标准品 3 空白药膏

图 2 紫外吸收图谱

2.2.4 测定波长对的选择及 K 值的确定: 由图 2 可见,标准品及供试品溶液的最大吸收波长为 510 nm,而空白提取液在此处也有部分吸收,对测定有影响,故采用系数倍率法<sup>[2]</sup>以消除干扰。根据波长对选择原则,为获得  $\Delta A$  较大且 K 尽量接近于 1,又考虑到在吸收曲线的峰位上对吸光度测定影响较小,选定测定波长对为  $\lambda_1=485\text{ nm}, \lambda_2=516\text{ nm}$  测定吸光度  $A_1, A_2$ ,按倍率系数  $K=A_2/A_1$ ,计算 K 值,结果平均值  $K=1.567, RSD=1.89\% (n=6)$

2.2.5 标准曲线:精密吸取标准储备液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 置于 25 mL 容量瓶中,水浴挥干乙醚,用 5% NaOH-2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 为空白,在紫外分光光度计上测定光谱中  $\lambda_1, \lambda_2$  处吸光度  $A_1, A_2$ ,令  $\Delta A=KA_2/A_1$ ,求出  $\Delta A$ ,得 C 与  $\Delta A$  的回归方程:

$\Delta A=35.99573C-0.00196, r=0.9998 (n=3)$  结果表明,浓度在 2.46~ 24.6  $\mu\text{g/mL}$  范围内呈良好线性。

2.2.6 回收率试验:精密吸取适量标准储备液于锥形瓶中,水浴挥干乙醚,精密加入适量空白药膏,加入甲醇 40 mL,水浴回流 3 h,过滤,残渣再加甲醇液提取 2 次,每次 25 mL,水浴回流 1 h,过滤,并用少量甲醇液洗涤残渣,合并滤液,在 100℃ 水浴上挥干,加入 2.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 mL,氯仿 30 mL,水浴回流 1 h,冷却,移置分液漏斗中,用少量氯仿洗涤容器,并入分液漏斗中,分取氯仿层,酸液用氯

仿再提取 2 次,每次 30 mL,合并氯仿液,用 5% NaOH-2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 萃取 3 次,每次 30 mL,合并碱液,定容于 100 mL 容量瓶中,过滤,取续滤液在沸水浴中加热 4 min,冷却,放置 30 min,以 5% NaOH-2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 为空白,在紫外分光光度计上测定  $\lambda_1, \lambda_2$  处的吸光度,求出  $\Delta A$ ,并代入回归方程计算 C 与回收率,平均回收率为 97.94%,  $RSD=1.03\% (n=6)$ 。

2.2.7 样品测定:精密称取适量样品药膏于锥形瓶中,加入甲醇 40 mL,按回收率实验项下方法操作,测得  $\lambda_1, \lambda_2$  时的吸光度  $A_1, A_2$ ,出  $\Delta A$ ,并代入回归方程计算 C,并按样品药膏加入量,折算出每克药膏中总蒽醌含量,结果见表 1

表 1 样品含量测定结果 (mg/g, n=3)

批号	样品含量 (mg/g)			$\bar{x}$	RSD (%)
990819	0.2150	0.2171	0.2193	0.2171	0.92
990823	0.2218	0.2235	0.2273	0.2242	1.34
990826	0.2298	0.2323	0.2288	0.2303	0.78

2.2.8 精密度试验:精密吸取 1, 8-二羟基蒽醌标准品储备液 2 mL,按上述标准曲线项下操作,重复 5 次,测得结果的 RSD 为 0.75%。

2.2.9 重复性试验:分别称取同一批号样品药膏,共 5 份,按样品测定方法项下操作,测定结果 RSD 为 1.27%。

### 3 讨论

3.1 药典中规定的大黄药材有:掌叶大黄、唐古特大黄和药用大黄。这三种大黄总蒽醌含量相差较多,药材的来源不同,产地不同,会造成每批次消肿散瘀膏中大黄总蒽醌总含量差异,且大黄为该制剂的君药这一,因此,用紫外分光光度系数倍率法测定该软膏中总蒽醌的含量,可作为控制其质量的标准

3.2 该制剂的软膏基质是由凡士林和羊毛脂组成的。由于基质的影响,在对大黄中总蒽醌定量时,容易造成误差,故本文采用系数倍率法测定,选定  $\lambda_1=485\text{ nm}, \lambda_2=516\text{ nm}$  两波长测定  $A_1, A_2$ ,计算  $\Delta A$ ,可消除基质干扰。

3.3 据文献报道<sup>[3]</sup>,显色剂以用 0.8% 醋酸镁甲醇液较为适宜,但由于本品供试液颜色较深,显色不明显,无法测定,故仍采用混合碱液萃取方法,碱液显色后,避光 1 h 内稳定,测定结果可靠。

### 参考文献:

[1] 房德敏,唐淑萍,高玉珍,等.消肿散瘀膏提取工艺的研究[J].中草药,1999,30(3):190-191.  
 [2] 孙毓庆主编.分析化学[M].北京:人民卫生出版社,1986.  
 [3] 郭澄,张纯,邵元福.大黄蒽醌类成分含量测定的探讨[J].时珍国药研究,1998,9(3):223.