

液 5 mL 后, 70 °C 水浴加热反应 10 min, 用水稀释至刻度, 摇匀。放置 10 min 后置入电极, 进行方波伏安测定扫描。相应参数: 起始电位 -0.30 V, 终止电位 -0.7 V, 电位增量 0.004 V, 方波频率 15 Hz, 静止时间 5 s, 灵敏度 10 μ A。

3 结果与讨论

3.1 反应体系及测定底液的选择: NH_4Ac 溶液为中性介质时甘草酸与 Pb^{2+} 定量生成沉淀且物质的量比为 1:1^[1]。同时, 在实验所选择的时间及温度条件下能够充分反应。对反应后上清液中剩余 Pb^{2+} 的方波伏安法测定研究发现, -0.45 V 处出现的铅离子还原峰峰形尖锐而对称, 峰电流稳定。故不必进行其他的分离或处理手段实现直接测定上清液中剩余 Pb^{2+} , 间接计算甘草酸含量。

3.2 标准曲线的制作: 准确移取 0.01 mol/L 硝酸铅溶液 0.2 mL 于电解池中, 分别加入不同量的甘草酸。按前述实验方法进行测定。以 -0.45 V 处峰电流 $I(\mu\text{A})$ 对甘草酸质量浓度 $C(\text{mg/L})$ 作图, 得回归方程 $I = 98.28 - 0.4846C$, $r = 0.9984$ 。结果表明, 甘草酸在 3~160 mg/L 与电流呈良好的线性关系。

3.3 干扰试验: 甘草的浸取物除主要成分甘草酸外, 还有部分水解产物甘草次酸、黄酮类化合物如芦丁, 甘草制剂中常加入的辅料为樟脑或苯甲酸钠。本研究考察了上述物质对测定的影响, 结果表明: 等量的甘草次酸和芦丁不影响测定, 5 倍量的樟脑和苯甲酸钠亦不影响测定。而实际甘草制品中上述共存物含量不会太高, 因而此法可用于甘草及其制品中甘草酸含量的准确测定。

3.4 精密度试验: 在上述实验条件下, 对甘草酸对照品溶液 (50 mg/L) 进行了 6 次平行测定, 结果峰电流 RSD 为 0.60%。

3.5 回收率试验: 精密称取已知含量的同一批样品适量 (约含甘草酸 5.0 mg), 分别加入甘草酸对照品 1~2 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 进行了 6 次平行测定, 结果平均回收率为 98%。

3.6 样品测定: 将甘草细粉和复方甘草片按照文献方法^[1]提取样液, 并进行测定。结果见表 1。

表 1 样品中甘草酸分析结果 ($n=6$)

Table 1 Results of glycyrrhizic acid in samples ($n=6$)

样 品	本法/%	药典法 ^[2] /%
甘草细粉 1	10.2	9.8
2	8.4	8.2
复方甘草片 1	78.6	78.2
2	85.2	84.2

4 讨论

方波伏安法用于方波伏安活性较好的铜、铅等离子的分析具有极高的灵敏度, 同时分析不受样品浑浊、颜色等干扰。因此, 一些有机化合物在一定条件下若能够与铜、铅等离子定量生成沉淀, 可以通过在线测定上清液离子含量, 间接定量分析这些有机化合物。分析过程简单、快速、准确, 为原料和制剂的质量控制提供参考。

References:

- [1] Lang H Y, Xie Z H, Zhao Y Z. Application of atomic absorption spectrometry in organic analysis (V) — Determination of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhizae* and its products [J]. *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 1995, 7 (1): 75.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.

HPLC 法测定虎杖提取物中白藜芦醇和大黄素的含量

汪冬庚, 刘文英, 沈于兰

(中国药科大学 药物分析教研室, 江苏 南京 210009)

虎杖提取物具有抗炎、预防心血管疾病等多种药理活性, 其主要活性成分为白藜芦醇 (resveratrol) 和大黄素 (emodin)。白藜芦醇是一种天然植物抗毒素, 存在于葡萄、花生、桑树、虎杖等植物中。葡萄酒、花生中白藜芦醇的含量测定方法已有

报道^[1,2]。大黄素是一种存在于多种植物中的蒽醌类化合物, 其测定方法主要有薄层扫描色谱法、HPLC 法^[3,4]。为了有效地控制虎杖提取物的内在质量并探讨其质量控制方法, 本实验对虎杖提取物中白藜芦醇和大黄素采用 HPLC 法同时进行测定。

收稿日期: 2003-12-28

作者简介: 汪冬庚 (1965—), 男, 湖南醴陵人, 中国药科大学药物分析专业 2001 级在读博士生。Tel: (025) 83271251

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 紫外检测器, Agilent ChemStation Rev. A. 09. 03 工作站。上海产 756MC 型紫外可见分光光度计。

虎杖提取物(自制), 白藜芦醇对照品(纯度>99.0%)购自 Sigma 公司, 大黄素对照品(批号: 0756-200110)由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择: 在 200~400 nm 波长分别对适当质量浓度的白藜芦醇、大黄素对照品溶液进行扫描。结果白藜芦醇在 216、291 nm 处具有最大吸收峰, 大黄素在 221、252、266、288 nm 处具有最大吸收峰。因此选择 290 nm 作为检测波长。

2.2 色谱条件及系统适用性试验: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS (M) 柱 (150 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相: A 泵 20% 乙腈水溶液, B 泵 80% 乙腈, 冰醋酸调 pH 3.5; 柱温: 25 °C; 检测波长: 290 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 灵敏度: 0.02 AUFS; 梯度洗脱: 0 min 0% B (100% A) → 14 min 40% B (60% A) → 20 min 100% B (0% A) → 25 min stop。理论塔板数按白藜芦醇计, 应不低于 7 000; 按大黄素计, 应不低于 5 500。色谱图见图 1。

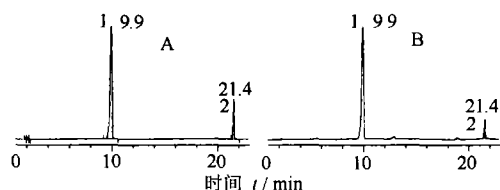


图1 混合对照品(A)和虎杖提取物(B)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *P. cuspidatum* extract (B)

2.3 线性关系考察: 分别精密称取白藜芦醇、大黄素对照品 12.68、5.52 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得含白藜芦醇 126.8 μg/mL、大黄素 55.2 μg/mL 混合对照品溶液。分别精密量取上述对照品溶液 0.3、0.6、1.2、5 mL 置 5 个 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 混匀。每份进样 3 次, 每次 20 μL, 在上述色谱条件下分析。以峰面积及其对应的质量浓度进行回归。得回归方程, 白藜芦醇: $Y = 1.586\ 97 \times 10^5 X - 32.66$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围: 3.84~63.4 μg/mL; 大黄素: $Y = 5.193\ 4 \times 10^4 X$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围: 1.65~27.6 μg/mL。

2.4 精密度试验: 各取白藜芦醇、大黄素对照品溶液进样 20 μL, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果峰面积 RSD 分别为 0.96%、1.10%。

2.5 稳定性试验: 取 16.2 μg/mL 虎杖提取物溶液, 置室内自然光下放置, 于 0、1、2、3、4、5、6、7、8 h 测定峰面积, 计算。结果溶液 8 h 内稳定, 白藜芦醇 RSD 为 1%, 大黄素 RSD 为 1.6%。

2.6 重现性试验: 取同一批样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果白藜芦醇质量分数为 65.5%, RSD = 1.7%; 大黄素质量分数为 6.28%, RSD = 1.9%。

2.7 回收率试验: 采用加样回收试验方法。取含白藜芦醇 65%、大黄素 6.4% 的虎杖提取物 24 mg, 精密称定, 按高、中、低量分别加入 16.4 μg/mL 白藜芦醇、11.5 μg/mL 大黄素对照品溶液适量, 制备供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 计算回收率。结果白藜芦醇的平均回收率为 99.9%, RSD = 1.1% ($n = 9$), 大黄素的平均回收率为 101.3%, RSD = 1.8% ($n = 9$)。

2.8 样品的测定: 取本品粉末约 24 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 混匀。精密量取 10 mL 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 混匀, 滤过。分别在上述色谱条件下测定, 按外标法计算, 测定结果见表 1。

表1 虎杖提取物中白藜芦醇、大黄素的测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Resveratrol and emodin in *P. cuspidatum* extract ($n = 3$)

批号	白藜芦醇/%	RSD/%	大黄素/%	RSD/%
1	64.5	0.9	6.25	1.3
2	63.6	1.2	6.21	0.8
3	64.1	1.0	6.40	1.4

3 讨论

3.1 波长的选择: 白藜芦醇、大黄素的紫外吸收光谱分别具有多个吸收峰, 以往白藜芦醇、大黄素的测定分别以 300、254 nm 作为检测波长者居多。考虑到虎杖提取物中大黄素的含量较低, 选择波长要既能兼顾白藜芦醇和大黄素的检测灵敏度, 又能将外源干扰降低到最小限度, 因此, 选择了 290 nm 作为检测波长, 并收到较好的实验效果。

3.2 HPLC 条件的选择: 由于白藜芦醇、大黄素均属于极性较小且呈弱酸性的物质, 因此, 本实验采用反相色谱法, 且调 pH 至 3.5。曾试图用甲醇-水为流动相, 但以甲醇-水作为流动相会导致柱压升高, 且梯度洗脱时基线漂移程度大, 分离效果不佳。曾试用等度洗脱的分离方法, 但当乙腈的比例较低时, 大

素不能被洗脱出来,乙腈的比例较高时,白藜芦醇的出峰时间接近死时间,因此,采用梯度洗脱的方法,这样能获得较好的分离效果。

3.3 溶液的稳定性:白藜芦醇的甲醇溶液在光照条件下不稳定,易转化成反式异构体,影响测定。故白藜芦醇的含量测定应在避光条件下进行。实验表明在夜间测定或用黑纸包裹量瓶测定所得稳定性均良好。大黄素的甲醇溶液在光照条件下稳定。

References:

[1] Careri M, Andlauer W, Kolb J. Direct HPLC analysis of

quercetin and trans-resveratrol in red wine, grape, and wine-making by products [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 27: 51 (18): 5226-5231.

[2] Dobiasova Z, Pazourek J, Havel J. Simultaneous determination of trans-resveratrol and sorbic acid in wine by capillary zone electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2002, 23(2): 263-267.

[3] Ding M, Siebert K, Furst P. Simultaneous determination of hydroxyanthraquinones in rhubarb and experimental animal bodies by high-performance liquid chromatography [J]. *Anal Sci*, 2003, 19(8): 1163-1165.

[4] Zheng F Z. *Modern Study and Application of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Vol 3. Beijing: Xueyuan Press, 2000.

复方石韦片的喷雾制粒工艺研究

李忠思¹,刘振华²

(1. 承德颈复康药业集团有限公司,河北 承德 067000; 2. 承德医学院附属医院 药剂科,河北 承德 067000)

复方石韦片由承德颈复康药业集团有限公司独家生产,系国家中药保护品种,该药由石韦、扁蓄、黄芪、苦参 4 味中药组成,具有清热消炎、燥湿利尿之功效,用于泌尿系统感染、急慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、膀胱炎、尿道炎等,具有很好的疗效。原制剂方法采用传统的工艺,即按处方投料,将提取的浸膏与药材细粉制成大颗粒,干燥后粉碎成细粉,湿法制粒,压片,包糖衣片。为适应市场需求,公司决定将糖衣改为薄膜衣。但采用上述方法中的制粒工艺,经过反复实验均未达到理想的效果;并且此工艺存在干燥时间长、干燥温度高、有效成分破坏大、质量不稳定等问题。喷雾制粒又称一步制粒,它是集混合、制粒、干燥于一体,具有占地少、简化操作、提高生产效率、符合 GMP 要求、适用范围广、中间产品质量提高等优点^[1]。本研究采用正交试验法,以药材细粉作为种子,提取部分的浸膏作为黏合剂,以制得的 14~40 目颗粒的质量为考核指标,对影响喷雾制粒的喷雾速度、雾化压力、进风温度、辅风温度进行考察,确定喷雾制粒的最佳工艺条件。

1 仪器与材料

PGL-80 型喷雾干燥制粒机(重庆广厦干燥设备工程公司)。复方石韦片提取浸膏,相对密度为 1.20~1.22 (50~60 °C 热测),由承德颈复康药业集团有限公司提取车间提供;石韦、扁蓄、黄芪 3 味

药材细粉由承德颈复康药业集团有限公司前处理车间提供。

2 方法与结果

在预试验的基础上,按处方投料和工艺要求提取浸膏 1 080 kg,粉碎混合后的药材细粉 153 kg,将浸膏和药粉平均分为 9 份,取 17 kg 药材细粉作为种子,加入到喷雾干燥制粒机的容器内,喷入 120 kg 浸膏,选定喷雾速度、雾化压力、进风温度、辅风温度为考察因素,每个因素取 3 个水平,因素水平表见表 1。以制得的 14~40 目颗粒的质量为考核指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素			
	A 喷雾速度 /(kg·h ⁻¹)	B 雾化压力 /MPa	C 进风温度 /°C	D 辅风温度 /°C
1	30	0.2	90	45
2	40	0.3	100	55
3	50	0.4	110	65

表 2 和表 3 结果表明,以制得的 14~40 目颗粒的质量为考核指标,各因素对喷雾制粒的影响程度依次为 A>C>D>B,方差分析表明,因素 A 影响差异具有显著性,最佳工艺参数为 $A_3B_2C_2D_3$,即喷雾速度为 50 kg/h,雾化压力为 0.3 MPa,进风温度

收稿日期:2004-01-14

作者简介:李忠思(1969—),男,河北省承德市人,主管药师,主要从事中药制剂研究。Tel: (0314) 2153758