

图 4 冰片真实值和预测值的相关性
Fig. 4 Correlations between real value
and predicted value of borneol

定的反映, 以此为依据, 可以采用光谱法对冰片含量进行预测。

3.2 对光谱数据进行一元线性回归分析, 不同质量浓度的冰片氯仿溶液在特征峰位置处呈现较好的线

性。在特征波段对数据进行偏最小二乘法建模, 冰片的预测值和标称值的相关性较好, 预测标准偏差较小。将几个特征波段综合考虑建立模型, 冰片的预测值和实际值的相关性达到 0.999 9, 预测标准偏差 RMSEP 为 0.061 07 mg/mL。光谱法和偏最小二乘法结合用来预测冰片含量, 可以达到较高的精度, 有望应用于在线检测。

References:

- [1] Wu S R, Cheng G, Feng Y. Progress in studies on pharmacology of borneol [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(12): 143-145.
- [2] Lu W Z, Yuan H F, Xu G T. *Modern Analyses Technique of NIR* (现代近红外光谱分析技术) [M]. Beijing: China Petrochemistry Press, 2000.
- [3] Xu L. *Chemometrics* (化学计量学方法) [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [4] Lu X H. *Chemometrics* (化学计量学方法) [M]. Wuhan: Huazhong Science and Engineering College Press, 1997.

非水反相液相色谱法测定三黄片中大黄酸、大黄素、 大黄酚和大黄素甲醚的含量

蒋 晔, 郝晓花, 刘红菊

(河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017)

三黄片是一种常用中成药, 大黄为君药, 而大黄的主要活性成分为大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等蒽醌类成分。《中华人民共和国药典》2000 年版采用反相高效液相色谱法测定三黄片中大黄素、大黄酚的含量, 采用的流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (85:15)。其他文献也报道了多种测定蒽醌类成分的方法, 如薄层色谱法^[1]、反相高效液相色谱法^[2]等, 最为常用的是反相液相色谱法, 其流动相均含一定比例的水, 测定蒽醌类成分所需时间长、峰对称性差、理论板数低。本实验采用非水反相液相色谱法测定三黄片中的大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量, 缩短了分析时间, 4 种物质在 10 min 内达到完全分离, 提高了色谱峰对称性及理论板数。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: LC5500 高压泵, LC5500 紫外检测器 (北京东西电子仪器厂), 千谱色谱工作站 (南京千谱软件有限公司), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照

品由中国药品生物制品检定所提供, 三黄片由广西半宙制药厂提供, 批号为 020816、021103、030410。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 室温; 测定波长: 254 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 流动相: 甲醇-冰醋酸 (99.9:0.1); 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的配制: 精密称定大黄酸对照品 7.90 mg、大黄素对照品 8.4 mg、大黄酚对照品 20.04 mg 及大黄素甲醚对照品 10.50 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 用少量氯仿溶解后用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得储备液。临用时, 吸取各储备液 1 mL 置 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至所需质量浓度, 即得混合对照品溶液。

2.3 系统适用性试验: 在上述色谱条件下, 取混合对照品溶液进样, 理论板数以大黄酸计不低于 4 000、以大黄素计不低于 13 200、以大黄酚计不低于 14 500、以大黄素甲醚计不低于 18 600。在上述色

收稿日期: 2004-06-21

作者简介: 蒋 晔, 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事药物分析化学教学及科研工作。

Tel: (0311) 6266069 E-mail: jiangye@hebm. edu. cn

谱条件下以三黄片及缺大黄阴性样品溶液进样,色谱图见图 1。

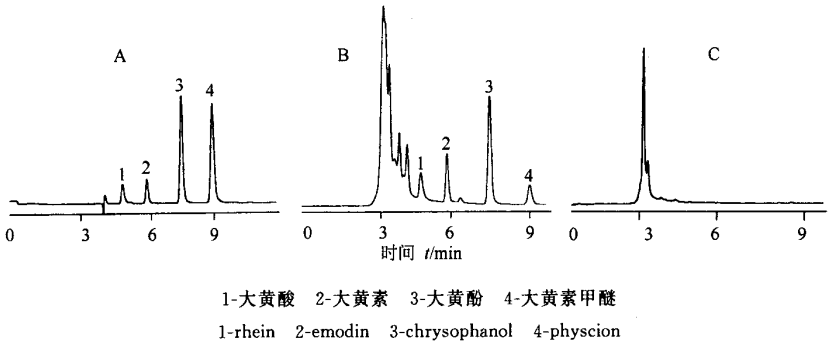


图 1 混合对照品溶液(A)、三黄片(B)和缺大黄阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Sanhuang Tablet (B), and negative sample without *Rheum officinale* (C)

2.4 供试品溶液的制备:取本品 20 片,除去包衣,研细,精密称取适量(约相当于 1 片重,0.25 g),置锥形瓶中,精密加乙醇 25 mL,密塞,称定质量,置水浴上加热回流 1 h,放冷,用乙醇补足减失质量,滤过。精密量取续滤液 10 mL,置烧瓶中,水浴蒸干,加 30%乙醇-盐酸(10:1)溶液 15 mL,置水浴中加热水解 1 h,立即冷却,用氯仿强力振摇提取 4 次,每次 15 mL,合并氯仿液,置水浴上蒸干,残渣用甲醇溶解,移置 25 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液 20 μL 进样。

2.5 线性关系的考察:准确配制含大黄酸 31.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄素 33.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄酚 80.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄素甲醚 42.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合对照品溶液,采用倍比稀释,在上述色谱条件下以对照品质量浓度(C)为横坐标,峰面积为纵坐标(A),进行回归,结果见表 1。

表 1 四种成分的线性关系和回归方程

Table 1 Linear ranges and regression equations for four components

成分	线性方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
大黄酸	$A=1.90 \times 10^4 + 6.32 \times 10^4 C$	0.999 7	0.395~31.60
大黄素	$A=1.41 \times 10^4 + 9.41 \times 10^4 C$	0.999 9	0.420~33.60
大黄酚	$A=1.70 \times 10^5 + 1.63 \times 10^5 C$	0.999 7	1.000~80.20
大黄素甲醚	$A=-1.51 \times 10^4 + 1.80 \times 10^4 C$	0.999 1	0.525~42.00

2.6 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 20 μL 进样,重复 5 次,以峰面积计 RSD 分别为大黄酸 0.8%、大黄素 0.6%、大黄酚 0.5%、大黄素甲醚 0.9%。

2.7 稳定性试验:取同一批样品溶液,在 0、1、5、10、24 h 分别进样 20 μL ,记录峰面积,RSD 分别为大黄酸 0.9%、大黄素 0.7%、大黄酚 0.6%、大黄素甲醚 0.9%。

2.8 重现性试验:取同一批样品 5 份,制备供试品

溶液,进样 20 μL ,以工作曲线法计算,结果大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的质量分数分别为 5.05、2.83、4.34、1.42 mg/g,RSD 分别为 0.5%、0.3%、0.4%、0.7%。

2.9 回收率试验:取批号为 021103 的样品粉末约 0.25 g,按所含物质的 80%、100%、120%水平加入混合对照品溶液适量,制备供试品溶液,测定,代入工作曲线计算加样回收率,结果大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的加样平均回收率分别为 98.8%、100.4%、100.3%、99.8%、RSD 分别为 0.9%、0.6%、0.5%、0.8% ($n=9$)。

2.10 样品的测定:取样品,制备供试品溶液,进样 20 μL ,以工作曲线法计算其中大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量,结果见表 2。

表 2 三黄片中大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination of rhein, emodin, chrysophanol, and physcion in Sanhuang Tablet ($n=3$)

批号	质量分数/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$			
	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
020816	4.98	2.81	4.42	1.42
021103	5.03	2.68	4.50	1.52
030410	5.12	2.87	4.34	1.47

3 讨论

3.1 游离蒽醌极性较小,一般溶于乙醇、乙醚、苯、氯仿等有机溶剂,不溶于水。本实验测定的为游离蒽醌,当采用传统的含水流动相时,流动相极性较大,保留时间长,若采用非水的不含极性较大的水的流动相,则可降低流动相的极性,故可大大缩短非极性物质的分析时间。

3.2 游离蒽醌含有酸性较强的酚羟基或羧基,酚羟基或羧基在流动相中电离后与固定相的残留硅醇基

作用使得峰形展宽,在流动相中加入少量酸可抑制酚羟基及羧基的电离,增大其保留时间及减小拖尾因子。在含水的流动相中,由于其介电常数大,蒽醌类化合物的电离度也较大,通常需要加入较强、浓度较高的无机酸(如磷酸、高氯酸)来抑制其电离。而非水体系降低了流动相的介电常数,减少了游离蒽醌的电离,减少其与固定相残留硅醇基的作用,故加入少量酸(0.1%冰醋酸)即可抑制其电离,减少其拖尾

因子,使得其峰形对称,获得较高的柱效。且非水流动相黏度小,可降低柱外效应,有利于柱效的提高。

References:

- [1] Zhou J H, Yuan Y S, Yang J W. HPTLC determination of three anthraquinone derivatives of *Chinese Rhubarb* in plasma [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1995, 15(6): 36-39.
- [2] Oshima T, Hirayama F, Wang K, et al. The analysis of anthraquinones in *Polygonum multiflorum* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(4): 219-222.

GC 法测定降香油中橙花叔醇的含量

郭晓玲, 孟 青, 冯毅凡, 陈耕夫, 黄蓓蓓*, 潘 贞*

(广东药学院, 广东 广州 510224)

降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材, 性温、味辛, 归肝、脾经, 能行气活血、止痛、止血, 用于脘腹疼痛, 肝郁胁痛、胸痹刺痛、跌打损伤、外伤出血等症^[1]。为控制降香油质量, 本实验采用 GC 法对降香药材经超临界 CO₂ 萃取所得的降香油中有效成分之一橙花叔醇进行测定。该法灵敏、简便、准确和重现性好, 可作为该原料的质量控制。

1 仪器与材料

HP 5890A 气相色谱仪, 氢离子火焰检测器 (FID), 泰立 TL-9900 色谱数据工作站, BP210D 型电子天平 (Sartorius 公司)。醋酸乙酯 (分析纯), 正十四烷 (色谱纯)。降香油由广州中医药大学提供。橙花叔醇对照品为自制, GC 归一化法测得其纯度为 98.15%, 广东药学院中心实验室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性: 色谱柱: SE-30 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 检测器 (FID) 温度: 300 °C; 进样品温度: 200 °C; 柱头压: 90~85 kPa; 尾吹 20 mL/min; 柱流量: 1.3 mL/min; 总流量: 20 mL/min; 柱温: 115 °C, 停留 39 min, 以 20 °C/min 升温至 160 °C, 停留 14 min。正十四烷为内标峰, 橙花叔醇峰的理论塔板数为 65 712, 与其前后峰分离度分别为 2.9、5.0, 说明在此色谱条件下, 样品能很好地分离。结果见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取橙花叔醇对照品

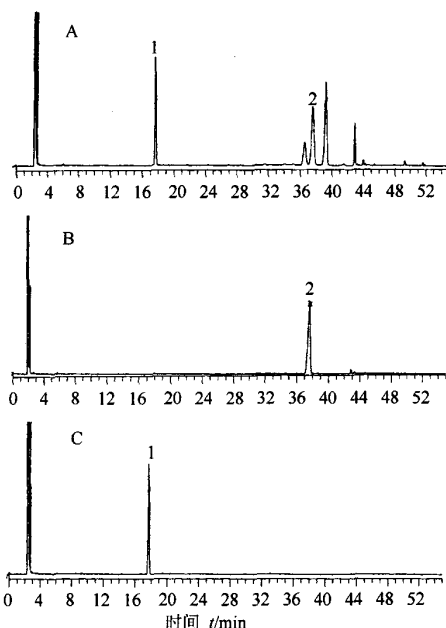


图 1 降香油(A)、橙花叔醇对照品(B)和正十四烷内标物(C)的 GC 图谱

Fig. 1 GC chromatogram of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* oil (A), nerolidol reference substance (B), and *n*-tetradecane (C)

29.36 mg, 置 25 mL 量瓶, 加醋酸乙酯溶解并加至刻度, 即得。

2.3 内标液的制备: 精密称取正十四烷 255.32 mg, 加醋酸乙酯溶解并定容至 100 mL, 即得。

2.4 供试品溶液的制备: 精密称取降香油 30 mg,