

2.5 样品测定:取 3 种不同来源的板蓝根多糖,按照上述方法进行样品制备和测定,计算得到木糖、阿拉伯糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露糖、组成半乳糖物质量的比分别为($n=3$):1 号 1.69 9.04 53.1 1.00 1.67 6.51;2 号 0.65 5.79 29.5 1.00 3.28 4.07;3 号 1.12 3.63 19.8 1.00 1.88 2.64。

3 讨论

虽然实验结果表明 3 个不同来源板蓝根多糖的单糖组成类似,但其组成比例差异显著。中药内在质量的稳定性是实现中药质量控制的前提,中药标准化研究急需突破。

曾选择硫脲、苯巴比妥、水杨酸等作为内标物,鉴于样品成分复杂,最终选用硫脲作为内标物,保留时间适宜,且其他成分对选取的内标电泳峰无干扰。

马莉等^[4]报道通过薄层色谱分析,所得到板蓝根多糖的 4 种组分均由单一木糖组成。而本实验结果表明板蓝根多糖含有木糖、阿拉伯糖、葡萄糖、鼠

李糖、甘露糖和半乳糖等多种单糖。结果的差异可能是因为文献采用了不同来源的板蓝根药材所含多糖种类不同,也可能是文献采用的薄层色谱法分辨率不理想造成了结果的差异。毛细管电泳法柱效高、分离能力强,用于分析多糖的单糖组成,专属性高,可靠性强。

参考文献:

- [1] 肖珊珊,金郁,孙毓庆.板蓝根化学成分、药理及质量控制研究进展[J].沈阳药科大学学报,2003,20(6):455-459.
- [2] 雷黎明,潘清平.板蓝根化学、药理、质量及提取方法的研究进展[J].时珍国医国药,2007,18(10):2578-2580.
- [3] 吴寿金,赵泰,秦永奇.现代中草药成分化学[M].北京:中国医药科技出版社,2002.
- [4] 马莉,唐健元,李祖伦,等.板蓝根多糖分离纯化及其性质的研究[J].中草药,2007,38(8):1143-1146.
- [5] 王志远,戴玲,朱业云,等.半枝莲酸性多糖 SBPs 的纯化、性质及抗氧化活性研究[J].中草药,2009,40(5):728-731.
- [6] 陈蕾,吴昊.多糖降解方法的研究进展[J].中华中医药学刊,2008,26(1):133-135.

正交试验法优选麻黄的提取工艺研究

吴晓云

(杭州市第三人民医院 药剂科,浙江 杭州 310009)

摘要:目的 筛选 50%乙醇回流法提取麻黄中盐酸麻黄碱的最佳工艺。方法 采用正交试验法,以提取次数、提取时间、溶媒用量为因素,HPLC 法测定盐酸麻黄碱并作为评价指标。采用 Dikma Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm ×4.6 mm,5 μm);流动相:0.2%磷酸水溶液-乙腈(96/4);检测波长:205 nm;体积流量:1 mL/min。结果 盐酸麻黄碱在 0.488~3.416 μg 线性关系良好,平均回收率为 100.26%,RSD 为 2.17%。提取次数对盐酸麻黄碱的提取率有显著性影响。结论 麻黄中盐酸麻黄碱的最佳提取工艺为 50%乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,7 倍量溶媒。

关键词:麻黄;盐酸麻黄碱;提取工艺;正交试验

中图分类号:R284.2

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)05-0747-03

麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf、中麻黄 *E. intermedia* Schrenk et C. A. Mey. 或木贼麻黄 *E. equisetina* Bag. 的干燥草质茎。味辛、微苦,性温,具发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿之功效^[1]。主要成分为盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱。本实验以盐酸麻黄碱为指标,采用 HPLC 法测定,利用正交试验设计,以 50%乙醇为溶媒加热回流提取,考察影响盐酸麻黄碱提取率的因素,筛选麻黄的最佳提取工艺条件。

1 仪器与试剂

Perkin Elmer Series 200 高效液相色谱仪(Perkin Elmer 公司);Perkin Elmer Lambda 20 紫外/可见分光光度计(Perkin Elmer 公司);Dikma Diamonsil C₁₈ 柱(迪马公司);AB204—S 电子分析天平(Mettler Toled 公司)。

乙腈(色谱纯,TEDIA 公司);盐酸麻黄碱对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号 722-200006);麻黄药材购自萧山市医药有限责任公司中药分公司,经浙江省中药研究所药材资源室鉴定为草麻黄。

收稿日期:2009-10-23

作者简介:吴晓云(1981—),女,浙江庆元人,中药师,2002 年毕业于浙江中医药大学药学系,从事中药成分测定及中药不良反应研究。Tel:(0571)87823122 E-mail:yaojianmeng@126.com

2 方法与结果

2.1 正交试验设计因素与水平:以盐酸麻黄碱的量为指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表,对提取次数、提取时间、溶媒用量进行考察,因素与水平见表 1。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 提取次数/次	B 提取时间/h	C 溶媒用量/倍
1	1	1	5
2	2	2	7
3	3	3	9

2.2 盐酸麻黄碱的 HPLC 法测定^[2]

2.2.1 测定波长的确定:取盐酸麻黄碱对照品适量,加水溶解,稀释至一定刻度,置紫外/可见分光光度仪中,在 190~400 nm 扫描,绘制紫外吸收光谱。结果表明盐酸麻黄碱在 205 nm 处有最大吸收。因此,将测定波长定为 205 nm。

2.2.2 色谱条件:Dikma Diamonsil C_{18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m, 迪马公司);流动相:0.2%磷酸水溶液-乙腈(96:4);体积流量:1 mL/min;检测波长:205 nm;柱温:30℃;进样量:10 μ L。理论塔板数按盐酸麻黄碱计不低于 3 000。

2.2.3 对照品溶液的制备:精密称取真空干燥至恒重的盐酸麻黄碱对照品适量,加流动相溶解,制成 150 μ g/mL 溶液,作为对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备:取 1~9 号样品各约 1.0 mL,分别精密称定,置 10 mL 量瓶中,加 5%甲醇至刻度,超声提取 20 min,取出,放冷,摇匀,用 0.45 μ m 的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 线性范围考察:精密称取盐酸麻黄碱适量,置 50 mL 量瓶中,加流动相溶解分别制成 48.8、97.6、146.4、195.2、224.0、292.8、341.6 μ g/mL 的对照品溶液,分别进样 10 μ L,测定峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,求得回归方程为 $Y = 566\,680 X - 18\,313$, $r = 0.999\,8$,结果表明盐酸麻黄碱在 0.488~3.416 μ g 呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验:取同一 0.146 4 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液重复进样测定 6 次,进样量 10 μ L,测定色谱峰面积,RSD 为 1.61%。

2.2.7 稳定性试验:取 6 号供试品溶液,分别于放置 0、2、4、8、12、24 h 后,注入液相色谱仪,测定盐酸麻黄碱色谱峰面积,RSD 为 1.70%,结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.2.8 重现性试验:取 6 号样品,制备 6 份供试品溶液,测定峰面积,计算盐酸麻黄碱质量分数的

RSD 为 1.88%。

2.2.9 回收率试验:精密称取 6 号样品 0.5 g,取 5 份,置 10 mL 量瓶中,分别加入 0.224 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液 3 mL,制成供试品溶液,依法进行测定,计算得平均回收率为 100.26%,RSD 为 2.17%。

2.2.10 样品测定:取 1~9 号样品,制备供试品溶液,用 0.45 μ m 的微孔滤膜滤过,取续滤液,按上述色谱条件测定色谱峰面积,计算样品中盐酸麻黄碱提取率(盐酸麻黄碱提取率 = 样品中盐酸麻黄碱总量/投入药材中盐酸麻黄碱总量 × 100%)。

2.3 提取方法:取麻黄(切成约 1 cm 的小段)100 g,按 $L_9(3^4)$ 正交试验表设计分别进行提取,所得的提取液经合并、滤过,浓缩至一定体积,作为 1~9 号样品。结果见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 试验安排和结果

Table 2 Arrangement and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	35.87
2	1	2	2	48.11
3	1	3	3	57.65
4	2	1	2	67.03
5	2	2	3	63.76
6	2	3	1	66.25
7	3	1	3	71.18
8	3	2	1	62.45
9	3	3	2	65.77
K_1	141.63	174.08	164.57	165.40
K_2	197.04	174.32	180.91	185.54
K_3	199.40	189.67	192.59	187.13
R	57.77	15.59	28.02	21.73

可知在 3 个因素中,对盐酸麻黄碱提取率的影响程度依次为: $A > B > C$ 。据测定结果并考虑省时节、降低成本的角度,优选出最佳提取工艺为 $A_2B_2C_2$,即 50%乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,7 倍量溶媒。

2.4 工艺验证试验:取同批麻黄药材(切成约 1 cm 的小段)3 份,每份 100 g,分别按照最佳提取工艺进行试验,制得的样品测定盐酸麻黄碱。结果见表 3。

表 3 验证试验($n=3$)

Table 3 Verification test ($n=3$)

样品	药材中盐酸麻黄碱/(mg·g ⁻¹)	样品中盐酸麻黄碱总量/mg	平均提取率/%
1	12.3	886.52	
2	12.3	897.23	71.99
3	12.3	872.56	

3 讨论

有效成分盐酸麻黄碱既溶于醇又溶于水,经预

试验结果表明,采用 50 %乙醇加热回流提取麻黄碱的量高于水煎煮提取,故本工艺选择 50 %乙醇作为溶媒加热回流提取。

盐酸麻黄碱的测定采用高效液相色谱法,经方法学考察实验表明,本方法线性好,精密度高,重现性及回收率均较好,测得结果准确。

以盐酸麻黄碱作为指标考察提取工艺条件评价

因素的影响。3 个因素对盐酸麻黄碱提取率的影响程度依次为提取次数 > 提取时间 > 溶媒用量。综合结果表明:麻黄药材采用 50 %乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,7 倍量溶媒为最佳工艺。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 祝 婧,凌云,龚千锋. RP-HPLC 法测定麻黄及其炮制品中盐酸麻黄碱[J]. 中草药,2009,40(4):580-582.

HPLC 法测定抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚

宁 洁

(天津市南开医院,天津 300100)

摘 要:目的 应用 HPLC 法测定抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚。方法 采用 AGT C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1 %磷酸(85:15);检测波长:254 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:25℃;进样量:20 μL。结果 大黄素线性范围为 0.036 ~ 2.400 μg/mL, $r=0.9997$,回收率为 97.11 %,RSD 为 1.11 %;大黄酚线性范围为 0.078 ~ 5.200 μg/mL, $r=0.9998$,回收率为 98.77 %,RSD 为 0.67 %。结论 该方法用于测定抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚具有操作简便、结果准确、灵敏的特点,可用于该制剂的质量控制。

关键词:抗眩晕颗粒;大黄素;大黄酚;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)05-0749-02

抗眩晕颗粒主要由决明子、川芎、泽泻、益母草等组成,具有化痰利水,平肝熄风,活血通络的功效,主要用于治疗痰浊中阻及肝阳上亢之眩晕、梅尼埃氏病。决明子为方中主药之一,具有清热明目、润肠通便的功效。以大黄素和大黄酚为代表的蒽醌类成分是大黄的主要药理成分,与制剂质量有着密切的关系。因此本实验采用 RP-HPLC 法测定抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚,为制剂质量标准的制定提供科学的依据。

1 仪器与材料

LC—10A 型高效液相色谱仪,岛津 SPD—10A 紫外检测器, AUTO SCIENCE AT—330 柱温箱;试剂均为色谱纯,水为娃哈哈饮用纯净水;大黄素和大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所);抗眩晕颗粒(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:AGT C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1 %磷酸(85:15);检测波长:254 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:25℃;进样量:20 μL。见图 1。

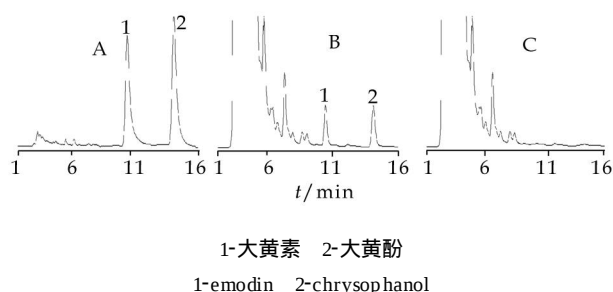


图 1 对照品(A)、抗眩晕颗粒(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Kangxuanyun Granula (B), and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取大黄素对照品 2.40 mg, 甲醇溶解并稀释至 10 mL, 制得 240 μg/mL 大黄素对照品溶液母液;精密称取大黄酚对照品 5.20 mg, 甲醇溶解并稀释至 10 mL, 制得 520 μg/mL 大黄酚对照品溶液母液。分别精密吸取两种对照品溶液母液各 0.5 mL, 用甲醇溶解并稀释至 10 mL, 即得混合对照品溶液(含大黄素 12 μg/mL、含大黄酚 26 μg/mL)。

收稿日期:2009-10-07

基金项目:天津市卫生局中西医结合资助课题(07018)

作者简介:宁 洁(1968—),女,天津市人,主管药师,1991年毕业于天津第二医学院药学系药剂专业,从事医院药剂的管理工作。

E-mail: nankaijiyuanxyk@yahoo.com.cn