

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

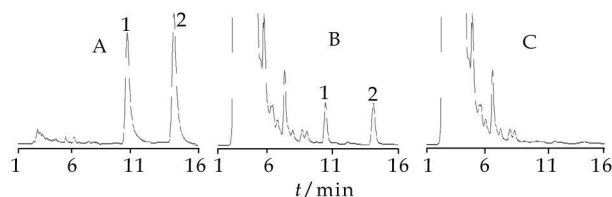
抗眩晕颗粒主要由决明子、川芎、泽泻、益母草等组成,具有化痰利水,平肝熄风,活血通络的功效,主要用于治疗痰浊中阻及肝阳上亢之眩晕、梅尼埃氏病。决明子为方中主药之一,具有清热明目、润肠通便的功效。以大黄素和大黄酚为代表的蒽醌类成分是大黄的主要药理成分,与制剂质量有着密切的关系。因此本实验采用 RP-HPLC 法测定抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚,为制剂质量标准的制定提供科学的依据。

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。



1-大黄素 2-大黄酚

Femodin 2-chrysophanol

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)。

¹ 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

2 3 供试品溶液的制备: 取抗眩晕颗粒适量, 研细, 精密称取 5 g 于烧瓶中, 加氯仿 50 mL 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液减压回收氯仿至干, 残渣加无水乙醇-醋酸乙酯(2: 1)溶解并定容至 10 mL, 微孔滤膜滤过, 即得。

2 4 阴性样品溶液的制备: 按处方取除决明子的各味药材, 煎煮, 制成阴性样品, 按供试品溶液的制备项下方法制得阴性样品溶液。

2 5 标准曲线的制备: 精密吸取混合对照品溶液 0. 03、0. 10、0. 20、0. 50、1. 00、2. 00 mL, 用甲醇稀释并定容至 10 mL, 得到大黄素质量浓度为 0. 036、0. 120、0. 240、0. 600、1. 200、2. 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 大黄酚质量浓度为 0. 078、0. 260、0. 520、1. 300、2. 600、5. 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液的系列溶液。将上述溶液进行测定, 以大黄素峰面积对其相应质量浓度作线性回归, 得回归方程 $Y=104\,706\,X+1\,694.4$, $r=0.999\,7$, 表明大黄素在 0. 036~2. 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好; 以大黄酚峰面积对其相应质量浓度作线性回归, 得回归方程 $Y=80\,598\,X+3\,196.6$, $r=0.999\,8$, 表明大黄酚在 0. 078~5. 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2 6 精密度试验: 取批号为 20090218 样品, 制备供试品溶液, 连续进样 5 次, 测定峰面积值, 得大黄素峰面积 RSD 为 1. 49%; 大黄酚峰面积 RSD 为 1. 57%。

2 7 重现性试验: 取批号为 20090218 样品, 精密称取 5 份, 制备供试品溶液, 进行测定, 测定大黄素和大黄酚质量分数, 结果大黄素、大黄酚的 RSD 分别为 1. 62%、1. 40%。

2 8 稳定性试验: 取批号为 20090218 样品, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8 h 进行测定, 测定大黄素和大黄酚质量分数, 结果大黄素、大黄酚的 RSD

分别为 1. 77%、1. 61%。

2 9 回收率试验: 取批号为 20090218 样品, 精密称取 5 份(2. 428、2. 433、2. 439、2. 424、2. 422 g), 每一份分别加入大黄素对照品溶液母液 5 μL , 大黄酚对照品溶液母液 20 μL , 制备供试品溶液, 进行测定, 计算回收率, 结果大黄素的平均回收率为 97. 11%, RSD 为 1. 11%; 大黄酚的平均回收率为 98. 77%, RSD 为 0. 67%。

2 10 样品测定: 取两批抗眩晕颗粒, 每批次 2 份, 制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL 注入高效液相色谱仪, 采用外标法计算各成分质量分数, 结果见表 1。

表 1 抗眩晕颗粒中大黄素和大黄酚的测定结果($n=2$)
Table 1 Determination of emodin and chrysophanol in Kangxuanyun Granula ($n=2$)

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	大黄素	大黄酚
20090218	0. 557 5	4. 217 0
20090708	0. 553 0	4. 214 5

3 讨论

HPLC 法测定蒽醌类成分已有报道^[1,2], 本实验对流动相进行了优化, 当甲醇与酸的比例为 85: 15 时, 保留时间适当, 峰形好。

本实验分别以三氯甲烷超声提取, 三氯甲烷萃取以及三氯甲烷加热回流提取考察大黄素、大黄酚的提取方法。结果显示, 加热回流提取效果为最好, 大黄素和大黄酚量之和最高, 并最终确定了本实验提取方法为加三氯甲烷 50 mL, 加热回流提取 1 h。

参考文献:

[1] 杨文远, 王天勇. 反相高效液相色谱法同时测定决明子中芦荟大黄素和大黄素[J]. 分析试验室, 1997, 16(2): 55

[2] 王云娇, 李武毅, 张永云. 清火片中大黄素和大黄酚的 HPLC 法测定[J]. 中草药, 2006, 37(7): 1034-1035