

[关键词] 紫外分光光度法; 颠茄合剂; 颠茄酊; 莨菪碱; 含量测定

[中图分类号] R927 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213 (2006) 07-0908-02

颠茄合剂(处方为: 颠茄酊 50 mL, 5% 羟苯乙酯溶液 6 mL, 纯化水加至 1 000 mL^[1])是医院常用制剂, 收录于《中国医院制剂规范》, 它的质控标准中只有莨菪碱的鉴别, 没有含量测定, 其有效成分为颠茄酊中的莨菪碱, 所以可以以颠茄酊为对照, 采用紫外分光光度法测定颠茄合剂中莨菪碱的含量。

1 仪器与试剂

756CRT 型紫外可见分光光度计(上海分析仪器总厂); 颠茄酊对照品(以莨菪碱计为 0.030%, 广州星群(药业)股份有限公司, 批号 AS30004); 氯仿、溴甲酚绿为分析纯。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择精密吸取 5 mL 颠茄酊置 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 5 mL 置分液漏斗中, 加溴甲酚绿溶液(取溴甲酚绿 50 mg 与邻苯二甲酸氢钾 1.021 g, 加 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 6.0 mL 使溶解, 加水稀释至 100 mL, 摇匀, 过滤, 即得。2 mL, 再加 10 mL 氯仿, 振摇提取 2 min, 静置分层, 分离出下层氯仿层。精密吸取纯化水 5 mL, 加溴甲酚绿溶液 2 mL, 再加 10 mL 氯仿, 振摇提取 2 min, 静置分层, 分离出下层氯仿层作空白, 在 300~500 nm 波长处进行扫描, 结果在 418 nm 处有最大吸收, 本实验选择 418 nm 为测定波长。

2.2 干扰的排除按处方比例, 精密吸取 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL 置 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀得对照溶液。精密吸取 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 5 mL 置分液漏斗中, 余同上述操作。结果对照溶液在 418 nm 也有吸收, 所以样品的含量测定必须以按处方比例同法制备的羟苯乙酯溶液作对照, 以消除干扰。

2.3 标准曲线的制备精密吸取 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL 颠茄酊置 100 mL 量瓶中, 加 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL, 加水至刻度, 摇匀, 得含莨菪碱浓度分别为 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 mg·L⁻¹ 的溶液。精密吸取上述溶液各 5 mL 置分液漏斗中, 加溴甲酚绿溶液 2 mL, 再加 10 mL 氯仿, 振摇提取 2 min, 静置分层, 分离出下层氯仿层^[2]。另取 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL 置 100 mL 量瓶中, 同法处理后作为对照, 在 418 nm 处测定吸收度, 并求标准曲线方程。标准曲线方程: $Y = 2.8506X + 0.01885$, $r = 0.9998$ 。由标准曲线方程可见, 莨菪碱在 0.9~2.1 mg·L⁻¹ 浓度范围内, 浓度和吸收度线性关系良好。

2.4 回收率试验精密量取颠茄酊 4.0, 5.0, 6.0 mL 各 3 份, 置 100 mL 量瓶, 加 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL, 加水至刻度, 摇匀, 得含莨菪碱浓度分别为 1.2, 1.5, 1.8 mg·L⁻¹ 的溶液。另取 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL 稀释至 100 mL 作为空白对照, 在 418 nm 处测定吸收度, 代入标准曲线方程计算浓度, 并求得回收率和 RSD, 见表 1。

2.5 样品测定取不同批号颠茄合剂两份, 精密吸取 5 mL 置分液漏斗中, 加溴甲酚绿溶液 2 mL, 再加 10 mL 氯仿, 振摇提取 2 min, 静置分层, 分离出下层氯仿层。另取 0.5% 羟苯乙酯溶液 6 mL 稀释至 100 mL 同条件作对照, 在 418 nm 处测定吸收度, 代入标准曲线方程, 求得莨菪碱含量, 结果见表 2。

[作者简介] 李道婷, 女, 学士, 讲师, 电话: 0759-3233128

表 1 样品回收试验结果

Tab 1 Results of recovery test

| 投入浓度/mg·L ⁻¹ | 测得浓度/mg·L ⁻¹ | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|-------------------------|-------------------------|--------|---------|-------|
| 1.2 | 1.196 | 99.67 | 100.39 | 0.710 |
| | 1.213 | 101.08 | | |
| | 1.205 | 100.42 | | |
| 1.5 | 1.490 | 99.33 | 99.47 | 0.110 |
| | 1.493 | 99.53 | | |
| | 1.493 | 99.53 | | |
| 1.8 | 1.800 | 100.00 | 100.22 | 0.241 |
| | 1.803 | 100.17 | | |
| | 1.809 | 100.50 | | |

表 2 样品浓度测定结果

Tab 2 Assay of samples

| 样品批号 | 吸收度 | 浓度/% |
|--------|-------|---------|
| 031010 | 0.523 | 0.151 0 |
| | 0.524 | 0.151 3 |
| 031011 | 0.521 | 0.150 4 |
| | 0.520 | 0.150 1 |

3 小结

试验所用分液漏斗必须干燥, 如果有水滴, 会影响试验结果。羟苯乙酯极难溶于水, 所以实验中不用处方中的 5% 羟苯乙酯溶液, 而用 0.5% 羟苯乙酯溶液。

本方法可以用来测定颠茄合剂中莨菪碱的含量, 方法简便、准确。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药政司. 中国医院制剂规范[S]. 第 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 1995. 60. 1
- [2] 中国药典. 二部[S]. 2000. 875.

[收稿日期] 2005-08-22

高效液相色谱法测定抗脑衰胶囊中大黄素的含量

李道婷¹, 吴文珊² (1. 广东省湛江中医学校, 广东 湛江 524003; 2. 华中科技大学实验室与设备管理处, 湖北 武汉 430030)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法测定抗脑衰胶囊中大黄素的含量, 以控制该制剂的质量。方法: 精密称定不同批次的抗脑衰胶囊内容物, 经水解、提取、用高效液相色谱测定。结果: 大黄素在 11.0~33.0 mg·L⁻¹ 内呈良好的线性关系, $r = 0.9999$, 平均加样回收率为 97.0% (RSD 为 1.8%, $n = 5$)。结论: 本法测定抗脑衰胶囊中大黄素的含量, 结果准确, 重复性好。

[关键词] 抗脑衰; 大黄素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213 (2006) 07-0909-02

抗脑衰胶囊是根据中医理论和长期临床经验, 经反复筛选验证总结出的具有增强体液免疫功能, 提高机体素质, 改善睡眠, 减轻疲劳, 延长细胞寿命; 改善脑血循环, 增加脑血流量, 改善大脑功能的有效药物。抗脑衰胶囊由何首乌、熟地黄、人参、黄芪、远志、茯神、石菖蒲、丹参、葛根、菊花、远志、龙骨等 21 味中药组成^[1]。仅有采用薄层扫描法测定了

该产品中大黄素的含量^[2], 而用高效液相色谱法测定抗脑衰胶囊中大黄素的含量未见文献报道。本实验采用高效液相色谱法对抗脑衰胶囊中大黄素进行了含量测定, 为控制抗脑衰胶囊的内在质量提供依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(德国诺尔)包括: 紫外检测器 smartline uv detector 2500, 溶剂输液泵 smartline pump 1000; 抗脑衰胶囊(石家庄四药股份有限公司, 批号 050212、050318、050326); 大黄素对照品(中国生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 水为二次纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromosil C₁₈ (4.6 mm × 200 mm); 流动相: 甲醇 0.1% 磷酸 (85: 15, v/v); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 室温; 检测波长: 436 nm; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液、供试品溶液与阴性对照液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品 5.50 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 制成 110 mg · L⁻¹ 的标准溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取抗脑衰胶囊内容物 1.8 g, 置 500 mL 锥形瓶中, 加 2.5 mol · L⁻¹ 硫酸 20 mL, 超声 5 min, 加入氯仿 20 mL, 在沸水浴中加热回流 1 h, 冷却, 置分液漏斗中, 静置, 分取氯仿层, 酸层加氯仿提取 3 次(每次 15 mL), 合并氯仿液, 加入无水硫酸钠 1 g, 过滤, 滤液置水浴中蒸干。残渣加甲醇 10 mL 水浴加热溶解, 冷却, 定容至 10 mL, 过滤, 即为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照液的制备 取按处方量除去何首乌的阴性样品 1.5 g, 同法制成阴性供试品溶液。

2.3 系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照液 20 μL 注入色谱仪, 记录色谱图, 见图 1, 阴性对照色谱图在大黄素峰位置无色谱峰, 表明其他组分对测定无干扰。大黄素峰与相邻组分的分离度为 6.6, 理论塔板数以大黄素峰计算为 6 520。

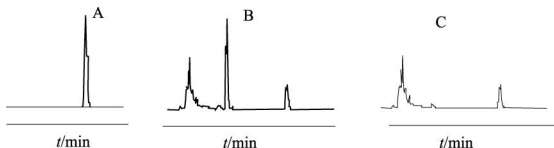


图 1 高效液相色谱图

A. 大黄素对照品; B. 供试品溶液; C. 阴性对照液

Fig 1 HPLC chromatograms

A. emodin reference substance; B. sample; C. negative solution

2.4 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别吸取 20 μL, 注入 PCHL, 记录色谱图, 分别进样, 依法测定, 得回归方程: $Y = -93\ 470.7 + 302\ 951.5X$; $r = 0.999\ 9$ 。大黄素在 11.0~33.0 mg · L⁻¹ 之间呈良好的线性。

2.5 精密度试验 取上述对照品溶液 22.0 mg · L⁻¹ 连续进样 5 次, 记录色谱图峰面积, 其峰面积平均值为 6 916 314, RSD 为 0.11%。

2.6 稳定性试验 取上述对照品溶液 22.0 mg · L⁻¹ 分别于 0, 1, 6, 12, 24 h 取 20 μL, 注入 PCHL, 记录色谱图, 结果表明该样品在 24 h 内稳定。峰面积平均值为 6 930 527, RSD 为

0.36%。

2.7 回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量批号为 050212 的样品适量, 精密称定, 再准确加入大黄素对照品适量, 依法操作, 计算。结果见表 1。

表 1 回收率测定结果 (n=5)

Tab 1 Results of recovery (n=5)

| 样品含量 / mg | 加入量 / mg | 测得总量 / mg | 回收率 / % | 平均回收率 / % | RSD / % |
|-----------|----------|-----------|---------|-----------|---------|
| 0.063 | 0.088 | 0.149 | 97.7 | | |
| 0.103 | 0.11 | 0.209 | 96.4 | | |
| 0.106 | 0.11 | 0.213 | 97.3 | 97.0 | 1.8 |
| 0.143 | 0.132 | 0.274 | 99.2 | | |
| 0.105 | 0.11 | 0.209 | 94.5 | | |

2.8 重复性试验 取同一抗脑衰胶囊样品 5 份, 按供试液制备方法制备, 分别依法测定, 结果大黄素含量的 RSD 为 1.7% (n=5), 表明本法重复性好。

2.9 样品测定 取对照品溶液 22.0 mg · L⁻¹ 和样品溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 各进样 20 μL, 读取峰面积值, 按外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 3 批样品测定结果

Tab 2 Assay of the samples

| 批号 | n | 每粒含量/μg | RSD / % |
|--------|---|---------|---------|
| 050212 | 5 | 32.2 | 1.7 |
| 050318 | 5 | 33.4 | 1.8 |
| 050326 | 5 | 31.7 | 1.6 |

3 小结

采用 5 种不同提取方法对样品中总蒽醌是否水解完全进行了比较, 结果表明本实验采用的提取方法是合适的。

检测波长的选择 文献报道^[3] 大黄素的测定选用 254 nm, 但经过实验发现在 436 nm 处, 大黄素的干扰峰较小。因此选择 436 nm 为测定波长。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部. 中药成方制剂[S]. 第 16 册. WS₃-B-3058-3098.
 [2] 马秀嫖, 马冬春. 薄层扫描法测定抗脑衰胶囊及何首乌中大黄素的含量[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(11): 31-32.
 [3] 郭清, 鲁静. 高效液相色谱法测定何首乌及其炮制品中蒽醌类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(5): 326-328.

[收稿日期] 2005-07-05

对随机 15 批枳实药材中橙皮苷含量的考察

王玉花¹, 陈征², 向大雄¹, 欧阳荣³ (1. 中南大学湘雅二医院, 湖南长沙 410011; 2. 湖南省药品检验所, 湖南长沙 410001; 3. 湖南中医学院第一附属医院, 湖南长沙 410007)

[摘要] 目的: 考察枳实中橙皮苷含量, 为枳实药材质量控制提供依据。方法: 采用高效液相色谱法测定枳实中橙皮苷的含量。流动相: 甲醇 5% 醋酸溶液 (25: 75, v/v); 检测波长: 283 nm; 柱温: 40 °C; 流速: 1.0 mL · min⁻¹。橙皮苷在 0.2~2.0 mg · L⁻¹ 范围内具有良好的线性关系。结果: 15 批次枳实中橙皮苷含量差异较大。结论: 应尽快制订枳实的定量控

[作者简介] 王玉花, 女, 学士, 主管药师, 电话: 0731-5292073, E-mail: wang yuhua6602@sina.com