

高效液相色谱法测定千柏鼻炎分散片中大黄酚的含量

★ 庄妍 曾文丽 朱红 (江西省药物研究所 南昌 330029)

关键词:千柏鼻炎分散片;高效液相色谱法;大黄酚;含量测定
中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

千柏鼻炎分散片由千里光、卷柏、羌活、决明子、麻黄、川芎、白芷七味中药组成,功能清热解毒,活血祛风,宣肺通窍。用于风热犯肺,内郁化火,凝滞气血所致的鼻塞,流涕黄稠,或持续鼻塞,嗅觉迟钝;急慢性鼻炎,急慢性鼻窦炎见上述症候者。由于方中盐酸麻黄碱,及异欧前胡素含量较低,实验条件不易控制,决明子为方中主药,有效成分明确,笔者选择测定决明子的大黄酚含量建立标准,采用高效液相色谱法测定决明子中大黄酚的含量,取得满意效果。

1 仪器与试剂

大连依利特 Hypersil 液相色谱,UV 200 紫外可变波长检测器,P II 200 高压恒流泵,HW2000 色谱工作站,ZW 色谱柱温箱,METTLER M3 电子天平($d = 0.001\text{mg}$)(梅特勒公司),METTLER AE100 电子天平($d = 0.0001\text{g}$)(梅特勒公司)。

大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所),千柏鼻炎分散片(自制)甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其它试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱为 Alltima C_{18} 柱($5\ \mu\text{m}$, $4.6 \times 250\text{mm}$);流动相为甲醇-0.1% 磷酸(85:15);检测波长:254 nm;流速:1.0 ml/min;检测温度:室温。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄酚对照品适量,加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)制成每毫升含 $20\ \mu\text{g}$ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片,研细,取粉末(过三号筛)3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 ml 称定重量,置水浴上加热回流 30 分钟,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 ml,蒸干,加 10% 盐酸溶液 20 ml,三氯甲烷 20 ml。置水浴中加热水解 90 分钟,立即冷却,倒入分液漏斗中,收集三氯甲烷液,另用三氯甲烷液振摇提取 5 次,每次 20 ml,合并三氯甲烷液,回收溶剂至干,残渣用无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)溶解,转移至 10 ml 容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续

滤液,即得。

精密吸取上述两种溶液各 $20\ \mu\text{l}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法计算,即得。

3 结果

3.1 系统适用性实验 分别取大黄酚对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 $20\ \mu\text{l}$ 注入液相色谱仪中,记录色谱图。结果大黄酚峰保留时间约为 18 分左右,阴性对照在相应位置上无干扰峰,大黄酚在上述色谱条件下与其它组分分离较好,理论塔板数按大黄酚计在 3 000 以上。

3.2 线性关系 精密称定大黄酚对照品 5.0 mg 至 25 ml 容量瓶中,加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,从中分别精密吸取 0.2、0.5、1.2、3、5 ml 至 10 ml 容量瓶中,加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取 $20\ \mu\text{l}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图,以大黄酚进样浓度($\mu\text{g/ml}$)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程为: $Y = 70\ 520\ 154.2X + 20\ 875.5$, $r = 0.999\ 9$ ($n = 6$),表明大黄酚在 $4.011 \sim 100.280\ \mu\text{g/ml}$ 的浓度范围内具有良好的线性关系。

3.3 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 $20\ \mu\text{l}$,连续进样 6 次,记录峰面积,测定峰面积,结果 RSD 为 1.11%。

3.4 样品前处理方法研究 由于本样品前处理方法比较复杂,对实验结果的影响因素比较多,所以我们选择了三个因素:甲醇回流时间 A(20、30、40 分钟),盐酸水解时间 B(30、60、90 分钟),萃取次数 C(3、4、5 次),进行正交实验。见表 1、2。

表 1 正交实验因素水平表

水平	因 素		
	A 甲醇回流时间 /分钟	B 盐酸水解时间 /分钟	C 萃取次数 /次
1	20	30	3
2	30	60	4
3	40	90	5

牛黄及其伪品的鉴别

★ 柯荣勋 (福建省晋江市食品药品监督管理局 晋江 362200)

关键词:牛黄;鉴别

中图分类号:R 282.5 文献标识码:A

牛黄为牛科动物牛(*Bos taurus domesticus* Gmelin)的干燥胆结石。牛黄始载于《神农本草经》,列为上品。《名医别录》载:“牛黄生陇西及晋地,特牛胆中得之,即阴干百日使燥,无令见日月光。”由此可见,古代所用牛黄与现今相符。牛黄有很高的药用价值,具清心,豁痰,开窍,凉肝,息风,解毒功效。由于用途广泛,来源稀缺,故价格昂贵,掺假现象严重。现将牛黄及几种伪品的性状、显微、理化鉴别方法简介如下:

1 性状鉴别

本品多呈卵形,类球形,三角形或四方形,大小不一,直径 0.6~3 cm,少数呈管状或碎片。表面黄红色至棕黄色,有的表面挂有一层黑色光亮的薄膜,习称“乌金衣”;有的粗糙,

具疣状突起;有的具龟裂纹。体轻,质酥脆,易分层剥落,断面金黄色,可见细密的同心层纹,有的夹有白心。气清香,味苦而后甘,有清凉感,嚼之易碎,不粘牙。

1.1 经验鉴别

1.1.1 水试法 取本品少量,投入清水中,可吸水变潮湿但不变形、不溶解、不脱色、不浑浊;加少许清水调和,涂于指甲上,能将指甲染成黄色,习称“挂甲”。若加水煮沸,静置,真者全部溶化,水不混浊,无沉淀及漂浮物。

1.1.2 舌试法 取本品用舌尖舔之,味先苦而后转甜,有清凉感直达舌根及喉部,嚼之不粘牙,可慢慢溶化,无杂味及臭味。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验设计及结果分析

实验号	因 素				大黄酚含量 /mg·片 ⁻¹
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.0482
2	1	2	2	2	0.0614
3	1	3	3	3	0.0894
4	2	1	2	3	0.0488
5	2	2	3	1	0.0800
6	2	3	1	2	0.0844
7	3	1	3	2	0.0563
8	3	2	1	3	0.0667
9	3	3	2	1	0.0754
K_1	0.1990	0.1534	0.1993	0.2036	
K_2	0.2132	0.2081	0.1856	0.2021	
K_3	0.1984	0.2491	0.2257	0.2049	
R	0.0049	0.0319	0.0134	0.0009	

从以上实验可以看出,各因素对实验结果的影响顺序是 $B > C > A$,最佳选择是 $A_2B_3C_3$,即甲醇回流 30 分钟,加盐酸三氯甲烷水解 90 分钟,三氯甲烷萃取 5 次。

3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液于 0、1、2、4、6、8 小时分别测定,结果表明,供试品溶液在 8 小时内稳定。

3.6 重复性试验 精密称取同一批号千柏鼻炎分散片,照样品含量测定方法,重复测定 5 次,计算, RSD 为 1.05%。

3.7 回收率试验 精密称取已知含量的千柏鼻炎分散片适量,共 5 份,精密加入一定量的大黄酚对照品,按样品含量测定方法测定,结果平均回收率为 97.45%, RSD 为 1.29%。

3.8 样品测定 按样品含量测定方法对 10 批样品进行测定,结果见表 3。根据测定结果,暂定本品每片含大黄酚不

得少于 60 μg 。

表 3 千柏鼻炎分散片样品测定实验结果 $\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$

批号	大黄酚的含量	批号	大黄酚的含量
060601	75.3	060701	88.6
060602	76.9	060702	92.1
060603	78.6	060703	85.7
060604	80.4	060704	78.2
060605	82.3	060705	79.6

4 讨论

(1)采用 HPLC 法,以甲醇-0.1% 磷酸(85:15)为流动相,检测波长为 254 nm,测定本品中大黄酚的含量,线性范围 4.011~100.280 $\mu\text{g}/\text{ml}$, $r = 0.9999$ ($n = 6$);方法精密度 RSD 为 1.11%;平均回收率为 97.45%, RSD 为 1.29% ($n = 5$)。说明本方法准确,重现性良好。

(2)在样品前处理方法研究中,首先,我们参照药典中决明子中大黄酚的前处理方法对样品进行前处理,结果发现,加盐酸在水浴中水解不能将大黄酚完全水解出来,因此参考文献[1,2]的方法加盐酸和三氯甲烷同时水解,实验结果表明大黄酚能被完全水解出来。

参考文献

- [1]张莲莲. 高效液相色谱法测定千柏鼻炎胶囊中大黄酚的含量[J]. 海峡药学, 2004, 16(3): 61-62.
- [2]同利琪,朱长福. 千柏鼻炎片质量标准研究[J]. 中华实用中西医结合杂志, 2004, 4(17): 1881-1882.

(收稿日期:2007-06-07)