

大黄素、盐酸小檗碱在醇沉工艺中的含量变化

★ 涂兴明 (广州中医药大学附属骨伤科医院药剂科 广州 510240)
★ 黄有仲 欧阳毅 (广东省广州市芳村区人民医院 广州 510370)
★ 朱涛 (广东省广州市暨南大学第一附属医院中医科 广州 510360)

关键词: 大黄素; 盐酸小檗碱; 醇沉法; 复方大黄喷雾液

中图分类号: TQ 460.7⁺2 文献标识码: A

醇沉是中药水提液澄清处理的常用工艺, 近年来随着研究日益增多, 发现醇沉对中药各种有效成分均有影响, 尤其是对生物碱, 韩桂茹等^[1]报道 70% 浓度醇沉苦参碱、麻黄碱分别损失 22.94%、54.85%; 也有人研究比较了醇沉法、大孔树脂吸附法和超滤法对芍药苷含量的影响, 结果表明醇沉有

一定的优越性^[2], 说明具体到每个不同的复方制剂, 其精制法应根据所含成分的不同特性进行选择。本文在复方大黄喷雾液的醇沉工艺过程中, 对大黄素、盐酸小檗碱进行了全程追踪, 发现二者在醇沉过程中各有特点, 大黄素损失不多, 盐酸小檗碱虽损失近一半, 但经采用酸醇处理后也可大幅度降低损失,

2.7 血浆样品的处理 取磺基水杨酸, 配制为 5.0 mg/mL 的溶液。每毫升血样加入磺基水杨酸溶液 10 μ L, 涡流混匀后离心 (8 000 r/min, 15 分钟), 取上清液直接进样测定。

2.8 回收率测定 取高、中、低 3 种不同浓度的芦丁对照品溶液 1 mL, 50 $^{\circ}$ C 氮气吹干后加入空白血浆 1 mL, 涡流混匀后照血浆样品处理方法进行操作, 测定峰面积, 以实测量与加入量之比求算相对回收百分率。测定结果见表 1。回收率在 98.92% ~ 112.33% 之间, 表明该方法的准确度符合生物样品分析要求。

表 1 血浆中芦丁回收率测定结果 ($n=3$)

加入浓度 (μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	测定浓度 (μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	回收率 (%)	RSD (%)
100.00	112.33 $\pm$ 0.31	112.33 $\pm$ 0.26	0.28
50.00	50.55 $\pm$ 0.15	101.10 $\pm$ 0.31	0.31
5.00	4.95 $\pm$ 0.23	98.92 $\pm$ 0.46	0.47

3 讨论

用全波长扫描观测时可以看出芦丁峰在 260 nm 和 360 nm 处紫外吸收比较强, 260 nm 处峰比 360 nm 处响应值低, 且 260 nm 处杂质峰较强, 故本实验选择了 360 nm 作为检测波长。

本实验曾选用甲醇^[6]处理血样, 将血样用甲醇进行多次提取, 合并上清液, 低温氮气吹干, 甲醇定

容后测定。但该方法回收率较低 (< 80%), 且因进行多次提取, 操作繁琐, 误差较大, 经筛选后选用磺基水杨酸处理血样。该法操作简便, 经磺基水杨酸处理后的血样色谱图中干扰峰少, 且样品回收率高。具体操作时发现磺基水杨酸的用量对测定结果具有明显影响。用量过少, 则沉淀蛋白不完全; 过多则会影响测定, 出现干扰峰, 本实验中每毫升血浆所需磺基水杨酸的用量为 50 μ g。因磺基水杨酸为固体, 微克级不易定量, 故用其水溶液进行血样处理, 以体积进行定量。

参考文献

- [1] 江苏新医学院编. 上海科学技术出版社出版. 中药大辞典[M], 1495, 2128, 2 435
- [2] 闫花丽, 吉曙光, 黄安军. HPLC 测定珍菊降压片中氢氯噻嗪和芦丁的含量[J]. 中成药, 2004, 26(7): 547
- [3] Yi Sun, Tao Guo, Yin Sui, et al. Quantitative determination of rutin, quercetin, and adenosine in Flos Carthami by capillary electrophoresis[J]. Journal of Separation science, 2003, 26, 1 203 ~ 1 206
- [4] 叶晓镭, 支月芳, 周萍. HPLC 法测定珍菊降压片中绿原酸、氢氯噻嗪和芦丁的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(1): 43
- [5] 邓富良, 陈国华. RP HPLC 测定老鼠血浆中芦丁的含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(3): 253 ~ 255
- [6] 肖小华. 复方芦丁的药代动力学研究[J]. 局解手术学杂志, 2004, 13(6): 367

(收稿日期: 2005-09-15)

报道如下。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 型高效液相色谱仪;瑞士 METTLER AE200 型电子分析天平;大黄素、盐酸小檗碱对照品由中国药品生物制品检定所提供;甲醇、乙醇、盐酸、氯仿、磷酸二氢钾、十二烷基硫酸钠等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 醇沉试验 取复方大黄喷雾液提取浓缩液 1 000 mL 3 份,加入 94% 乙醇分别使达 60%、70%、80%,记录醇沉过程中体积的变化,药渣的重量,同时采用 HPLC 按文献方法^[3]法测定各步骤中大黄素、盐酸小檗碱的含量,结果见表 1、表 2。由表 1 可见,大黄素随着醇沉浓度的增高,滤液体积增大,保留在滤液中的总量也最多,而在沉渣中的含量逐渐减少,回收乙醇后含量以 80% 为好;由表 2 可见,小檗碱随着醇沉浓度的增高,保留在 70%、80% 两个浓度滤液中的总量比 60% 稍好,在沉渣中的含量也以 60% 最多,回收乙醇后 60%、70%、80% 3 个浓度的含量也相差不多,保留仅 50% 左右。

表 1 大黄素在醇沉过程中的含量变化

样品	体积/mL	大黄素		保留率 (%)
		含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	总量/ μg	
浓缩液	1000	145.356	145356	100
60%	2210	51.47	113752.8	78.26
醇沉液 70%	3250	37.32	121290	83.44
80%	5820	21.84	127108.8	87.45
60%	264	64.669	17072.616	11.74
药渣 g 70%	311	50.55	15721.05	10.82
80%	408	34.922	14276.736	9.82
60%	1010	111.806	112924.06	77.68
回收液 70%	990	127.399	126125.01	86.77
80%	1000	134.132	134132	92.28

注:保留率以浓缩液混合液含量为 100% 计,下同。

表 2 小檗碱在醇沉过程中的含量变化

样品	体积/mL	盐酸小檗碱		保留率 (%)
		含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	总量/ μg	
浓缩液	1000	84.686	84868	100
60%	2210	25.618	56615.78	66.85
醇沉液 70%	3250	18.740	60905.0	71.92
80%	5820	10.492	61063.44	72.10
60%	264	95.058	25095.312	29.63
药渣 g 70%	311	72.75	22625.25	26.72
80%	408	55.096	22479.168	26.54
60%	1010	41.107	41518.07	49.02
回收液 70%	990	46.501	46035.99	54.36
80%	1000	47.575	47575	56.18

2.2 酸醇洗涤 取 80% 醇沉浓度沉渣 50g,分别用 3 倍量 80% 乙醇、80% 酸乙醇(加入 1mLHCl)洗涤 3 次,记录滤液体积,测定盐酸小檗碱的含量,结果见

表 3。80% 乙醇、80% 酸乙醇回收盐酸小檗碱总量分别为 26.85%、88.31%,且 80% 酸乙醇洗涤二次已达 80.92%。验证实验:另取 400 mL 浓缩液,加 95% 乙醇使浓度为 80%,静置过夜,滤过;沉淀用 3 倍量的 80% 乙醇洗涤 2 次,每次加入 1 mL HCl,合并滤液,回收乙醇使为 400 mL,测定并计算回收液中小檗碱保留率为 83.62%,结果理想。

表 3 80% 醇沉沉渣醇洗工艺中盐酸小檗碱的含量变化

样品	洗涤次数	体积/mL	盐酸小檗碱		保留率 (%)	pH
			含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	总量/ μg		
80% 醇洗	1	155	2.8347	439.377	15.95	5.90
	2	145	1.243	180.244	6.54	6.31
	3	150	0.8013	120.196	4.36	6.73
80% 酸醇洗	1	165	8.49	1400.85	50.85	4.10
	2	165	5.021	828.465	30.07	3.16
	3	155	1.314	203.637	7.39	2.62

注:保留率以 80% 醇沉沉渣含量为 100% 计。

3 讨论与小结

(1)醇沉对不同成分的影响是不同的,这与有效成分自身的理化性质密切相关。由于大黄素为醇溶性物质,随着醇沉浓度(60%、70%、80%)递增,体积增大,溶解增多,致使含量增高。刘晓华等^[4]对活血胶囊(大黄为主药)的醇沉浓度进行了筛选,也得到相似的结果,随着醇沉浓度(10%、20%、30%、40%)递增,大黄素含量增高。

(2)盐酸小檗碱较易溶于热水,在冷水中溶解度小,药材经热提、浓缩、冷置后,浓缩液中的部分盐酸小檗碱极有可能沉降出来,本资料显示加入乙醇后仍有 26.54%~29.63% 的盐酸小檗碱在沉渣中。根据盐酸小檗碱的另一特性

易溶于酸性环境,采用酸醇洗涤沉渣,其中约 80% 的盐酸小檗碱得以回收,结果理想。

(3)复方大黄喷雾液 60%、70%、80% 回收液室温静置 1 周,60% 回收液出现沉淀,70% 回收液有少量沉淀,80% 回收液几无沉淀。综上所述,80% 回收液保留大黄素、小檗碱含量也最多,同时考虑到制剂为喷雾液,需保持澄清无沉淀,因此采用 80% 醇沉进行澄清处理应属可行。

参考文献

- [1]韩柱茹,徐初柳,冯丽,等.水提醇沉对中药各类有效成分的影响[J].中国中药杂志,1993,18(5):286
- [2]臧琛,聂其震,赵小妹,等.不同精制方法对抗感颗粒剂中药药味含量的影响[J].中国实验方剂学,2000,6(2):1
- [3]唐红梅.炎痛宁喷雾液中 2 种成分的含量.中药新药与临床药理,1997;8(3):163
- [4]刘晓华,黄芳,卢琴.活血胶囊制备工艺研究[J].中成药,1997,19(8):6

(收稿日期:2005-05-16)