

清淋冲剂中大黄酸含量测定研究

宋友昕¹, 吕武清,¹ 虞金宝¹, 杨林¹, 丁芳² (1. 江西省中医药研究所, 江西 南昌 330077; 2. 江西省医药学校, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 建立清淋冲剂的含量测定方法。方法 采用酸水解制备供试品, 应用薄层扫描法测定清淋冲剂中大黄酸的含量。结果 以稀盐酸水解二次, 每次 2h 即可水解完全, 大黄酸斑点峰面积在 3h 内稳定, 回收率为 98.36%, 精密度 RSD 为 2.38%, 重复性实验 RSD 在 5% 以内。结论 建立了清淋冲剂中大黄酸的薄层扫描测定方法, 且方法稳定、简便可行。

关键词: 大黄酸; 清淋冲剂; 薄层扫描法

中图分类号: R289 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2003)01-0046-03

Concentration detection of rhein in Qingling granules

SONG You-xin¹, LU Wu-qing¹, YU Jin-bao¹, YANG Lin¹, DING Fang² (1. Jiangxi Institute of traditional Chinese Medicine, Nanchang 330077, China; 2. Jiangxi Medical school, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method of detecting the Concentration of Qingling granules. **METHOD** The rhein concentration in Qingling granules was detected by TLC-scanning. The sample was extracted by the method of acid hydrolysis. **RESULTS** The sample was hydrolyzed twice with dilute hydrochloric acid two hours per time. The peak area of rhein is constant within three hours. The rate of recovery is 98.36%, RSD of accuracy is 2.38% and RSD of reproduction is within 5%. **CONCLUSION** The method is simple and very suitable for detecting the concentration of rhein in Qingling granules.

清淋冲剂是部颁标准·中药成方制剂(第六册)中收载品种,由瞿麦、藜蓄、车前子、大黄、栀子等组成,具有清热泻火,利尿通淋之功效,用于膀胱湿热,尿频涩痛,淋沥不畅,癃闭不通,小腹胀满,口干咽燥等症疗效满意。但由于原质量标准不能很好控制产品质量,因而疗效波动较大。为了有效地控制产品质量,我们对制剂中的大黄酸进行了含量测定,结果满意,为产品的质量的控制提供了依据。

1 仪器及药品

CS - 930 薄层扫描仪(日本岛津),层析缸(200 mm × 200 mm,上海信谊玻璃仪器厂);硅胶 H(青岛海洋化工厂)。

大黄酸对照品(含量测定用,批号:0080-9504,中国药品生物制品检定所),氯仿、正己烷、醋酸乙酯等均为 AR。

清淋冲剂(批号 20001202,20010303,20010318,江西定南制药厂)。

2 水解条件的选择

取清淋冲剂 20g,碾细,精密称取样品 6g 共四份,分别加入氯仿 40 mL,稀盐酸 20 mL,其中一份水解三次,每次 2h;另三份水解二次,每次水解时间分别为 1,2,3h。水解完成后,放至室温,分取并合并氯仿层,氯仿加无水硫酸钠脱水、浓缩并定容至 5 mL 量瓶中,测定大黄酸的量;水液再加入 20 mL 氯仿水解 1h,同上分取氯仿层,浓缩至约 0.5 mL,薄层色谱。结果:除 1h2 次的水液色谱仍显示有大黄酸斑点存在外,其余各组均无大黄酸斑点存在;水解 1h 与 2h 生成大黄酸的量有较大差异,而 2h 与 3h 之间无显著差异;同时水解 2 次大黄酸含量明显高于 1 次,而与 3 次无显著差异,见表 1;

表 1 不同水解条件对大黄酸含量的影响

水解条件	1h2 次	2h2 次	3h2 次	2h3 次
含量(mg/10g)	0.384	0.433	0.445	0.436
统计分析	$P < 0.01$		$P > 0.05$	$P > 0.05$

根据上述结果,最后确定水解条件为:取样品 6g,加稀盐酸 20 mL,氯仿 40 mL 水解两次,每次 2h。

3 方法学研究

3.1 测定波长及主要扫描参数的选择

分别吸取供试品溶液 2 μ L,大黄酸对照品溶液 3 μ L,点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯-甲酸(30:10:0.5)为展开剂,展开,晾干,在 370 ~ 700 nm 范围内进行扫描,结果供试品与对照品光谱图一致,在 435 nm 处有最大吸收,峰面积值分别为 6669.21,11143.52;不含大黄的阴性样品色谱,在对照品色谱相应位置上无斑点,在上述波长峰面积值为 0。薄层色谱图见图 1

根据上述结果,确定的扫描参数为: $\lambda_s = 435 \text{ nm}$, $\lambda_R = 600 \text{ nm}$,线性参数 SX=3,狭缝 1.2 mm × 1.2 mm,反射锯齿扫描。

3.2 线性关系考察

对照品溶液的制备 精密称取五氧化二磷干燥至恒重的对照品溶液的制备 精密称取五氧化二磷干燥至恒重的

大黄酸对照品适量,加无水乙醇制成每 1 mL 含 0.146 mg 的对照品溶液。

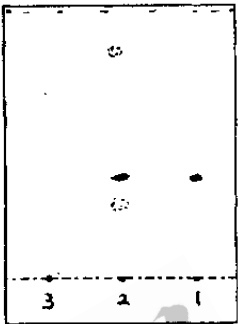


图 1 清淋冲剂薄层色谱图

Fig 1 TLC of Qinglin granules

1. 大黄酸对照品 2. 清淋冲剂供试品 3. 阴性样品

1. rhein 2. The sample of Qingling granules 3. negative control

标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液 0.5,1,2,3,4,5,6,7 μ L,点于同一硅胶 H-CMCNa 薄层板上,依上法展开,测定各斑点峰面积值,结果大黄酸对照品在 0.073 μ g ~ 0.730 μ g 之间呈良好线性关系见表 2。以浓度为横坐标,扫描面积值为纵坐标,绘制标准曲线图见图 2。

表 2 大黄酸对照品溶液薄层扫描浓度与峰面积值

点样量	0.5 μ L	1 μ L	2 μ L	3 μ L	4 μ L	5 μ L
峰面积	2034.27	3898.28	7663.99	11286.83	14826.14	18274.09
	0.073 μ g	0.146 μ g	0.292 μ g	0.438 μ g	0.584 μ g	0.730 μ g
线性方程	$A = 24764.689C + 323.52$					$r = 0.9999$

3.3 稳定性实验

吸取供试品溶液 2 μ L 点于同一硅胶 H-CMCNa 薄层板上,依上法展开,测定。同一斑点每隔 30 min 测定一次,连续测定 3h。结果 0,30,60,90,120,180 min 峰面积分别为 6654.80,6531.84,6539.47,6467.55,6541.46,6505.69 $\bar{x}$ = 6540.135, RSD = 1.0(%)。斑点峰面积值在 3h 内基本保持不变。

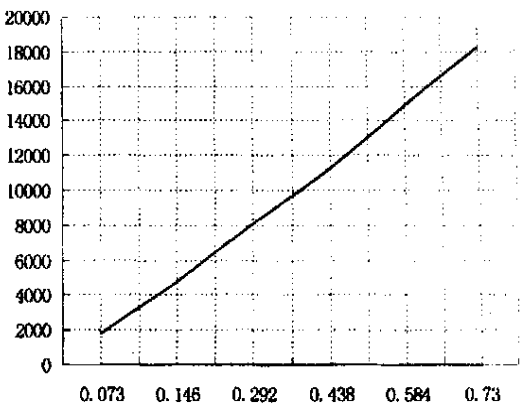


图 2 大黄酸标准曲线图

Fig 2 Calibration curve of rhein

3.4 精密度的测定

精密吸取供试品溶液 2 μ L,重复 5 次点于同一硅胶 H-CMCNa 薄层板上,依上法展开,测定供试品斑点峰面积值,以考察同板精密度。结果五点的峰面积值分别为:6205.87,6277.38,6429.59,6586.80,6464.63;RSD = 2.38 %。

精密吸取供试品溶液 2 μ L,分别点于 5 块硅胶 H-CMCNa 薄层板上,依上法展开,测定供试品斑点峰面积值,以考察异板精密度。结果五点的峰面积值分别为:6348.25,6679.38,6622.94,6147.84,6773.21;RSD= 3.97 %。

3.5 重复性实验

称取 20001202 样品共 5 份,每份约 10g,分别碾细,每份精密称取 6g,分别依法测定,测得各样品浓度分别为(mg/10g): 0.493,0.512,0.482,0.496,0.502,RSD = 2.2 %。

3.6 回收率的测定

取已知样品,碾细,精密称取 6g,共 5 份,分别加入大黄酸对照品溶液 0.35 ~ 0.55 mg,依上法制备供试品溶液,测定各样品含量,并计算对照品回收率,测得回收率结果见表 3。

表 3 加样回收率实验结果表

Tab 3 Recovery of rhein			
样品原有量 (mg)	标准品加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)
0.451	0.438	0.884	98.86
0.459	0.511	0.971	100.2
0.456	0.438	0.882	97.26
0.450	0.365	0.807	97.81
0.434	0.365	0.796	99.18
0.479	0.511	0.974	96.87

注:平均回收率 = 98.36 %,RSD = 1.29 %

Note :average recovery = 98.36 %,RSD= 1.29 %

3.7 样品的含量测定

取清淋冲剂样品 6 批,分别取样、提取、点样、展开、测

定,测得各批样品中大黄酸含量见表 4。

表 4 清淋冲剂中大黄酸含量测定结果(n = 4)

Tab 4 Concentration of rhein in Qingling Granules (n = 4)		
批 号	大黄酸含量(mg/10g)	RSD(%)
20001202	0.50	2.23
20010303	0.56	1.36
20010318	0.55	1.22

4 讨论

4.1 大黄主含蒽醌类化合物,主要有结合性蒽醌和游离性蒽醌;其中游离性蒽醌为酯溶性,不溶于水,在清淋冲剂水提工艺中不被提出,而蒽醌苷(结合性蒽醌)可溶于水,在清淋冲剂水提工艺中可被提出。蒽醌苷经水解可生成大黄酸、大黄素、大黄酚^[1]。最近有报道^[2],瞿麦全草除含瞿麦皂苷 A、B、C、D、E、F、G、H 等三萜皂苷和少量生物碱等,还含大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-O-葡萄糖苷,但其含量仅为十万分之二^[3]。经实验证明,方中其它药物对大黄酸的测定无影响。

4.2 实验比较了稀硫酸水解和稀盐酸水解对大黄酸含量的影响,结果以稀硫酸水解 2 次、每次 2h 大黄酸含量为 0.410mg/10g,而稀盐酸则为 0.507mg/10g,两者有显著差异(P<0.01),故实验中选用稀盐酸水解。

4.3 实验比较了外界温度、湿度、硅胶活性对展开剂斑点分离效果的影响,结果温度从 15 ~ 35℃,湿度从 40 % ~ 75 %均不影响斑点分离,而硅胶 H-CMCNa 板则需临用活化。

参考文献

[1] 肖崇厚.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1987: 130.
[2] 阴健.中药现代研究与临床应用(2)[M].北京:中医古籍出版社,1995:394.
[3] 汪向海、巢启荣、黄浩,等.瞿麦化学成分研究[J].中草药, 2000,31(4):248.