

度上无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 非那西丁和咖啡因含量测定结果 ($n = 3$)

药物	样品	本法		部颁标准法	
		标示量 (%)	RSD (%)	标示量 (%)	RSD (%)
非那西丁	1	97.0	0.83	96.96	0.35
	2	99.1	0.69	98.66	0.32
	3	99.9	0.87	99.91	0.48
	4	98.4	0.58	98.96	0.29
咖啡因	1	97.9	0.37	98.17	0.23
	2	98.4	0.59	98.76	0.31
	3	97.8	0.74	97.45	0.29
	4	97.7	0.48	97.68	0.30

参考文献

- 1 蓝琪田, 罗国安, 邓胡宁. 系数倍率法测定复方阿司匹林片的含量. 分析化学, 1988, 16(9): 831
- 2 于春杰, 朱玲. 复方乙酰水杨酸片的系数倍率测定法. 医

药工业, 1992, 23(7): 320

- 3 罗国安, 蓝琪田, 王镇浦等. PLS- 紫外分光光度法同时测定复方阿司匹林片中三组分的含量. 药学学报, 1989, 24(9): 684
- 4 刘世庆, 袁波. 岭回归分光光度法同时测定复方阿司匹林片中的各组分. 药化学报, 1990, 25(2): 137
- 5 刘世庆, 袁波, 张玉琴. 因子分析分光光度法及其应用研究. 沈阳药学院学报, 1990, 7(2): 88
- 6 刘世庆, 袁波, 佟可今. 多组分计算分光光度分析—AKC 法与 CPA 法的比较研究. 沈阳药学院学报, 1990, 7(3): 167
- 7 方洪壮, 雷力力, 周天明. 多波长多元回归分光光度的定量分析方法. 计算机与应用化学, 1995, 12(4): 312

(收稿: 1998- 07- 07)

大黄及制剂中蒽醌类成分含量测定的研究近况

向征兵 谢怀龙(解放军第 533 医院药剂科 昆明 650224)

摘要 本文总结了以往关于大黄及制剂中蒽醌类成分含量测定方法的研究状况, 主要包括比色法、薄层色谱法、高效液相色谱法、毛细管电泳色谱法。其中, 毛细管电泳色谱法是种新兴的分析方法, 已广泛应用于各个方面。

关键词 大黄; 蒽醌类; 含量测定

大黄为蓼科植物, 内含蒽醌类、苯丁酮类、鞣质类等^[1], 有明显的致泻、抗菌、消炎作用, 在中药复方及制剂中经常使用, 而活性成分为蒽醌类成分。关于大黄及复方制剂中蒽醌类成分含量测定方法的报道较多, 主要有比色法、薄层色谱法、高效液相法、毛细管电泳法。现综合分述如下。

1 比色法

用比色法测定蒽类成分的含量, 常以 1, 8- 二羟基蒽醌为参考标准, 利用蒽醌类成分在碱性溶液中变红的反应, 进行测定, 此法的关键在于蒽醌类成分的提取及显色。Paris 等认为中药大黄, 以硫酸水解, 氯仿提取较好, 用乙醚提取则杂质较多。经研究, 此法也适于决明子及何首乌等一般中药蒽醌类成分的提取。蒽醌类成分在碱性溶液中红色不太稳定, 提取及比色一般在暗室进行。有人^[2]用此法测定泻心丸

中蒽醌类成分的含量, 实验表明, 该法干扰少, 加样回收率为 94.98%, RSD 为 2.989%。因此, 此法也用于中药制剂的测定。

张志荣等^[3]曾用硫酸水解、溶剂多次萃取的方法, 测定制剂牛黄解毒片和三黄片中蒽醌衍生物的含量。样品用硫酸水解, 氯仿多次提取, 加 5% 碳酸氢钠溶液萃取, 最后加显色剂测定。测得样品平均回收率为 96.97% ($n = 9$, RSD = 3.11%)。本文采用标准比色法测定样品含量, 只需在测定时制备随行对照液, 免去了制作标准曲线的步骤, 且制备好的样品比色液可随时测量, 不受时间限制。

以上测定是以 5% 氢氧化钠- 2% 氢氧化氨(1: 1) 的混合液为显色剂, 因其稳定性差, 不同时间吸收度不同, 从而影响结果。沙世炎等^[4]介绍用醋酸镁显色测定制剂中蒽醌类的含量。Zwaring 比较了醋酸镁和氢氧化钠, 认为前

者灵敏、干扰少,不用避光。王玉钰等^[5]用 0.5% 醋酸镁甲醇液为显色剂测定牛黄解毒片中大黄的含量,其它成分干扰少。由于此法灵敏、方便,故应用较多。

2 薄层色谱法

此法测定大黄及制剂中蒽醌类成分的报道较多,特别是双波长薄层扫描的应用,消除了杂质干扰,通过扫描消除铺板、点样带来的误差,使得测定结果更准。王玉等^[6]用两次展开层析法测定三黄片中有效成分的含量,以硅胶 G 为吸附剂,以苯-乙酸乙酯-甲酸(75:25:15)为展开剂分离样品中大黄素和大黄酸。扫描,挥干溶剂,用氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(7:3:1:1)溶剂系统展开,在上述条件下扫描。此法加样回收率大黄酸为 102.2%, 大黄素为 97.4%, 无杂质干扰。大黄酸灵敏度为 $(135.5 \pm 0.8) \text{ mm}/\mu\text{g}$, 检测限为 $(20.5 \pm 0.1) \times 10^{-2} \mu\text{g}$; 大黄素为 $(85.7 \pm 0.7) \text{ mm}/\mu\text{g}$, 检测限 $(46.7 \pm 0.4) \times 10^{-2} \mu\text{g}$ 。将薄层板在 80℃ 烘干 10min 后取出冷却,测得值与未加热前测得斑点值无明显差异。

蓝琪田等^[7]测定防风通圣丸中大黄素和黄芩素的含量,以甲醇提取,硅胶 GF₂₅₄ 为吸附剂,以两种溶剂系统分别展开测定。提取液以苯-乙酸乙酯-甲酸(3:1:0.05)加少量水提取,大黄素较好的分离,而黄芩素 $R_f < 0.1$, 干扰大。选择甲苯-乙酸乙酯-甲酸(2:3:1.2)为展开剂,采取标准加入法^[8]测定黄芩素的含量。大黄素加样回收率为 100.1%, *RSD* 为 2.1%; 黄芩素加样回收率 94.64%, *RSD* 为 5.3%。此法点样展开后,不同时间测定,结果表明,大黄素在 5h 内稳定。

汪宝琪等^[9]用 β -环糊精单分子胶囊荧光法测定大黄素、大黄酚与大黄酸的含量,采用薄层法与荧光法相结合,提高了测定的灵敏度,大黄素的检测极限达 $5.6 \times 10^{-10} \text{ g/ml}$, 线性范围 $2 \times 10^{-8} \sim 10 \times 10^{-6} \text{ g/ml}$, 平均回收率 94.58%, 其灵敏度比比色法提高了三个数量级。薄层色谱法为蒽醌类成分含量测定的传统方法,快速、简便,因此使用范围广。

3 高效液相色谱法

高效液相色谱法较多的用于大黄及制剂中蒽醌类成分的定性分析。郑俊华等^[1]报道用高效液相色谱法测定正品大黄中 34 种化学成分,包括 5 种游离蒽醌、12 种蒽甙、5 种芪甙、3 种苯丁酮甙、2 种萘酚甙和 7 种鞣质化合物,由此鉴别唐古特大黄、掌叶大黄和药用大黄中各成分含量多少,控制正品大黄的质量,进行大黄原植物品种的鉴定。水溶性成分,唐古特大黄含量最高,特别是番泻甙 A,因此唐古特大黄有较强的泻下作用;脂溶性成分,唐古特大黄也最多,且含有较多的苯丁酮甙类,因此有较好的抗炎、解热作用。

罗文毓等^[10]用反相高效液相色谱法分离测定大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 5 种蒽醌衍生物的含量。固定相为 Nucleosil ODS(5 μm), 含 0.1% 高氯酸的 80% 甲醇溶液为流动相,以 0.5ml/min 流速洗脱,在波长 UV-254nm 处检测 5 种蒽醌衍生物的对照溶液及供试溶液,均较好分离。用甲醇提取大黄粉末,冷浸,再加乙醚及盐酸提取,挥干提取液加甲醇配成流动相,进样,测得结果为游离蒽醌的含量。将甲醇提取液挥干,加盐酸在水浴上水解 30min,其余操作同游离蒽醌的提取。此法测得结果为总蒽醌甙元,二者之差为结合蒽醌的含量。此法加样回收,平均回收率分别为 100.89%, 105.23%, 100.38%, 100.24%, 98.07%。含量由数据处理机计算,结果表明,各组分分离度好。5 种蒽醌成分的混合标样连续进行 8 次,保留时间的 *RSD* 在 0.77%~1.85% 之间,峰高的 *RSD* 在 3.25%~4.21% 之间。

由于高效液相法准确、稳定,能同时分离多种成分,因此更多的用于制剂的含量测定。

4 高效毛细管电泳色谱法

高效毛细管电泳色谱法是近年来兴起的一种分离分析方法,它广泛应用于 DNA、蛋白质、对映体、毒物及阴、阳离子的分离分析。宗玉英等^[11]建立了用胶囊电动毛细管电泳法分离和测定几种大黄中大黄素、芦荟大黄素、大黄酸含

量的测定方法。缓冲液为含 0.025mol/L 十二烷基磺酸钠的 0.025mol/L 3-环己氨基-1-丙烷磺酸, pH0.96, 内标 1,8-二羟基蒽醌配制成 1mg/ml 乙酸乙酯溶液。进样时间 15min, 电压 12kv。样品用氯仿提取, 挥干提取液, 再用乙酸乙酯溶解, 加内标进样检测。测得结果, 线性范围: 芦荟大黄素为 0.0025~0.0175mg/ml ($r = 0.9999$), 大黄素为 0.005~0.05mg/ml ($r = 0.9999$), 大黄酸为 0.005~0.035mg/ml ($r = 0.9996$)。回收率: 芦荟大黄素 98.2%~101.8%, 大黄素 99.9%~101.9%, 大黄酸 99.2%~101.2%。本文只是测定了中药大黄, 没有作制剂的分析。

笔者曾用胶囊电动毛细管色谱法分离测定了大黄及中成药制剂牛黄解毒片中芦荟大黄素、大黄素、大黄酸的含量, 缓冲液为 0.05mol/L 的 H_3BO_3 -NaOH (pH=11), 内含 0.025mol/L 的脱氧胆酸钠, 内标为扑热息痛。运行时间 12min, 电压 18kv, 检测波长 254nm。样品大黄在酸性条件用甲醇提取, 挥干, 再用氯仿提取, 挥干提取液, 加内标和缓冲液进样检测。牛黄解毒片中蒽醌成分的提取同中药大黄。从色谱图上看出, 5 种蒽醌类成分分离较好。测得结果, 线性范围: 芦荟大黄素 2.64~21.20 μ g/ml, 大黄素 5.64~56.40 μ g/ml ($r = 0.9999$), 大黄酸 4.80~33.60 μ g/ml ($r = 0.9994$), 提取回收率: 芦荟大黄素 91.26%, 大黄素 92.49%, 大黄酸 91.76%, 变异系数在 0.41%~1.10% 之间。日内精密密度: 芦荟大黄素 0.44%~1.67%, 大黄素 0.68~0.96, 大黄酸 0.24%~1.60% ($n = 3$); 日间精密密度: 芦荟大黄素 0.44%~1.40%, 大黄素 0.79%~1.26%, 大黄酸 0.54%~1.85% ($n = 3$)。本文在 12min 内较好的分离了五种蒽醌类成分, 无杂质干扰, 充分体现了毛细管电泳的高效、快速。

用毛细管电泳分析检测物质, 能同时分析多种成分, 省时、高效、耗费低, 这些优点是以往

分析方法所无法比拟的。随着毛细管电泳分析方法的完善, 将会越来越多的用于各个领域。

除了以上几种常用的分析方法, 显微定量法、重量法、纸色谱法、荧光法等也常用于大黄及制剂的研究, 但报道较少。本文总结的几种方法常见报道, 有各自的优缺点。比色法方便, 但稳定性不能很好解决, 且不能分离几种蒽醌成分; 薄层法分离能力强, 干扰少, 但前处理复杂, 重现性差; 高效液相法分离效率高、灵敏度高、重现性好, 但仪器昂贵, 所用流动相耗费大; 毛细管电泳法高效快速, 灵敏度高, 能分离多种成分, 能同时进样多个样品, 且流动相为缓冲液, 耗费低, 但仪器昂贵, 不能普遍使用。随着科技的发展, 将会有更完善的方法用于大黄及制剂的分析。

参考文献

- 1 郑俊华, 西泽 信, 山岸 乔等. 正品大黄中 34 种化学成分的高效液相色谱法定量分析. 北京医科大学学报, 1989, 21: 54
- 2 方秋晴. 比色法测定泻心丸中大黄蒽醌的含量. 中国医院药学杂志, 1989, 9(11): 556
- 3 张志荣, 侯世祥, 黄园等. 大黄及其复方中药制剂中蒽醌衍生物的含量测定. 华西药学杂志, 1994, 9(4): 225
- 4 沙世英, 徐礼荣. 中成药有效成分分析法, 1982: 25
- 5 王玉钰等. 比色法测定牛黄解毒片中大黄的含量. 中国中药杂志, 1990, 15(16): 31
- 6 王玉, 于如瑕. TLC 法测定三黄片中有效成分的含量. 中国药科大学学报, 1987, 18(1): 26
- 7 原子吸收光谱分析编写组. 原子吸收光谱分析. 北京: 地质出版社, 1979: 193
- 8 蓝琪田, 罗国安, 吕方军等. 薄层扫描法测定防风通圣丸中大黄素和黄芩甙的含量. 中国药科大学学报, 1989, 20(2): 106
- 9 汪宝琪, 庞志功, 李生有. β -环糊精单分子胶囊荧光法测定大黄素、大黄酚与大黄酸的含量. 中国药科大学学报, 1991, 22(6): 375
- 10 罗文毓, 江萍. 大黄中五种蒽醌衍生物的 HPLC 测定. 药物分析杂志, 1989, 9(5): 259
- 11 宗玉英, 余满堂, 朱志强等. 胶囊电动毛细管色谱法分离和测定几种大黄含量. 药学报, 1995, 30(8): 594

(收稿: 1998-06-01)