

2.5 样品的测定

精密量取样品液 2ml, 按回收率试验项下方法测定, 得 ΔA 、 $A_{总}$, 计算两者的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果(标示量%, $n=3$)

样品编号	盐酸麻黄碱	盐酸海拉明
1	99.4	98.9
2	98.0	102.0
3	100.1	101.4

3 讨论

麻黄碱、苯海拉明都为有机碱化合物, 能与盐酸形成稳定的盐, 该类盐在酸性溶液中易溶且稳定, 因而选择 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸作为其测定溶剂, 该溶剂在低浓度范围紫外吸收小且恒定。

氯化钠经同步稀释, 无紫外吸收, 不干扰含量测定。

本法不经分离同时测定滴鼻液中盐酸麻黄碱、盐酸苯海拉明的含量, 方法简便、快速、准确, 适合于医院制剂分析。

参考文献:

- [1] 雍德卿主编. 实用医院制剂注解[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997, 307.
- [2] 张慧仙. 双波长分光光度新算法测定复方麻黄碱滴鼻液中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国医院药学杂志, 1993, 13(5): 218.
- [3] 章国钧, 邱在峰, 边友珍. 上海医院制剂手册[M]. 第 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1995, 333.
- [4] 吴飞华, 潘九英. 二阶导数光谱法测定苯海拉明、麻黄碱滴鼻液的含量[J]. 中国医院药学杂志, 1996, 16(5): 218.
- [5] 范国荣, 胡晋红, 林海, 等. 盐酸苯海拉明和盐酸麻黄碱的毛细管电泳分离分析[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(9): 522.
- [6] 安登魁主编. 药物分析[M]. 第 1 版. 济南: 济南出版社, 1992, 44.

收稿日期: 2002-04-03

比色法测定逐瘀扶正胶囊中蒽醌类成分的含量

陈 军, 方 芸, 刁雨辉(南京大学医学院附属鼓楼医院临床药药学药检室, 南京 210008)

摘要 目的: 建立测定逐瘀扶正胶囊中蒽醌类成分含量的方法。方法: 利用蒽醌类成分在碱性条件下显红色的特性, 将经典的混合碱比色法加以改进后用于测定其含量。结果: 改进后的比色法操作简便快捷, 结果准确(平均加样回收率为 99.86%, 重复性好($RSD=1.58\%$, $n=5$)。可有效控制逐瘀扶正胶囊的质量。结论: 所建立的混合碱比色法可作为逐瘀扶正胶囊中蒽醌类成分的定量方法, 对于其它含有蒽醌类成分中药制剂的定量分析亦具有一定的方法学意义。

关键词 蒽醌; 比色法; 逐瘀扶正胶囊

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2002-05-0297-04)

Determination of anthraquinones in Zhuyufuzheng capsules by colorimetry

CHEN Jun, FANG Yun, Diao Yu-hui(Department of Pharmacy, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method to determinate the quantity of anthraquinones in Zhuyufuzheng capsule. **METHODS:** Anthraquinones in Zhuyufuzheng capsules was determined by improved colorimetry. **RESULTS:** This method was simple, quick and reproducible($RSD=1.58\%$, $n=5$). The average recovery was 99.86%. By this method, the quality of Zhuyufuzheng capsules can be controlled effectively. **CONCLUSION:** The improved colorimetry can be used to determinate the quantity of anthraquinones in Zhuyufuzheng capsules. This method can be used for the quantitative analysis of other Chinese traditional medicines which contained anthraquinones as well.

KEY WORDS Anthraquinones; Colorimetry; Zhuyufuzheng capsules

逐瘀扶正胶囊是我院自行研制的中药制剂, 方 中含有大黄、蜈蚣等药材, 通过烘干、粉碎、混合、过

筛、装囊而制成,临床上主要用于治疗慢性肾功能衰竭并已取得良好疗效。方中大黄是君药,其治疗慢性肾功能衰竭的功效已得到公认^[1],但具体有效成分尚未完全明了。有报道^[2]指出,大黄中的蒽醌类成分能抑制肾小球系膜细胞的异常增生,减缓残余肾组织肾小球硬化过程,从而改善慢性肾功能不全。因此,本实验以 1,8-二羟基蒽醌为含量测定标示物,进行了测定逐瘀扶正胶囊中蒽醌类成分含量的方法学研究,试图通过测定该类成分含量而有效控制逐瘀扶正胶囊的质量。

1 材料与仪器

逐瘀扶正胶囊(本院制剂室生产,1,8-二羟基蒽醌(南京中医药大学植物化学教研室。UV-2201 型紫外可见分光光度计(日本岛津,AG-204 型电子分析天平(上海梅特勒-托利多公司。

2 方法与结果

2.1 比色原理和测定波长的选择

大黄蒽醌类成分结构中均含有 1,8-二羟基蒽醌母环。羟基蒽醌类化合物遇碱显红色,并以与 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱反应后的红色产物在可见光区的吸收值最大。显色后的对照品溶液和供试品溶液在 400~600nm 范围内的吸收图谱见图 1。可见两者在 510nm 处均具有最大吸收。将按 2.4.1 项下操作制得的氯仿提取液用 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱反复萃取至碱液无色,然后按 2.4.2 项下操作制备空白对照品溶液,在 400~600nm 范围内扫描,发现基本无吸收,这表明逐瘀扶正胶囊中的其它成分对比色法测定蒽醌类成分含量不存在干扰。故选择 510nm 作为测定波长。

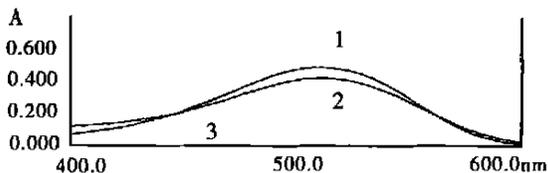


图 1 最大吸收波长的选择

1- 对照品; 2- 样品; 3- 空白

2.2 对照品溶液的制备

取 105℃ 干燥至恒重的 1,8-二羟基蒽醌对照品适量,精密称定其重量为 10.4mg,置 10ml 容量瓶中,用乙醚溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 10ml,置 100ml 容量瓶中,乙醚稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液(10.4μg·ml⁻¹)。

2.3 标准曲线的制备

分别精密吸取对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20ml 置于干燥的烧杯中,水浴上挥干乙醚,放冷至

室温,精密加入 10ml 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱,混匀,放置 1h 后,以混合碱为空白,在 510nm 处测定吸收度。将测得的数据进行一元线性回归,得回归方程为 $A = 0.04272 + 0.03779C$, $r = 0.9991$ 。

2.4 样品测定

2.4.1 蒽醌类成分的提取 提取条件参照文献^[3,4]报道的方法制定。取逐瘀扶正胶囊 10 粒,将内容物混匀,取约 0.1g,精密称定,置圆底烧瓶中,加入 20% H₂SO₄ 5ml,室温振荡 5min,加入 20% H₂SO₄ 10ml(沿烧瓶壁加入,将瓶壁上粘附的粉末冲下、氯仿 50ml 及少许沸石,水浴(80℃ 加热回流 2h,放冷至室温,抽滤,用 10ml 氯仿荡洗烧瓶并滤过,合并滤液,置分液漏斗中分取氯仿层,上层酸溶液再用氯仿萃取 3 次,每次 10ml。合并氯仿提取液,置 100ml 容量瓶中,氯仿稀释至刻度,摇匀,即得蒽醌类成分提取液。

2.4.2 供试品溶液的制备 精密吸取提取液 5ml,置于干燥的烧杯中,水浴上挥干氯仿,精密加入 10ml 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱,混匀,即得。

2.4.3 含量测定 将供试品溶液放置 1h 后,以混合碱为空白,在 510nm 处测定吸收度。根据标准曲线计算蒽醌类成分的含量。

2.5 精密度试验

精密吸取 10.4μg·ml⁻¹ 的对照品溶液 10ml,以下按 2.3 项下操作,共制备 5 份样品并测定吸收度。按 2.4.2 项下制备 5 份供试品溶液并按 2.4.3 项下操作测定吸收度。结果表明,对照品吸收度的 $RSD = 0.40%$ ($n = 5$, 供试品吸收度的 $RSD = 0.74%$ ($n = 5$, 可见精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取 10.4μg/ml 的对照品溶液 50ml,置于干燥烧杯中,水浴上挥干乙醚,放冷至室温,精密加入 50ml 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱,混匀,即得对照品待测液。精密吸取 2.4.1 项下制得的提取液 25ml,置于干燥的烧杯中,水浴上挥干氯仿,精密加入 50ml 5% NaOH-2% NH₄OH(1:1 混合碱,混匀,即得供试品待测液。

将上述两种待测液一分为二,每份各为 25ml,分别于光亮处和暗处放置,在 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6h 测定吸收度,结果见表 1。可见置于光亮处的对照品和供试品待测液的吸收度在 1~2h 内保持稳定,而置于暗处的这两种待测液的吸收度在 3h 后可

保持稳定。为了方便测定,本文选择了置于光亮处 1h 后测定吸收度。

表 1 稳定性实验结果

	吸收度							
	0h	0.5h	1h	1.5h	2h	3h	4h	6h
对照品(暗处)	0.391	0.440	0.473	0.488	0.499	0.510	0.515	0.516
样品(暗处)	0.389	0.424	0.431	0.447	0.457	0.464	0.469	0.472
对照品(光亮处)	0.391	0.434	0.458	0.462	0.460	0.436	0.402	0.346
样品(光亮处)	0.389	0.408	0.419	0.416	0.413	0.385	0.366	0.312

2.7 重复性试验

取同一批逐瘀扶正胶囊内容物粉末 5 份,按 2.4 项下操作测定蒽醌类成分含量。结果表明,5 次测定的蒽醌类成分平均含量为 $19.40\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $RSD = 1.58\%$ 。说明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

表 2 加样回收率实验结果

样品号	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	2080	2059	98.99	99.86	1.63
2	2080	2076	99.81		
3	2080	2122	102.02		
4	2080	2033	97.74		
5	2080	2095	100.72		

3 讨论

混合碱比色法是测定蒽醌类成分含量的经典方法,但有关其稳定性的研究报道却存在很大出入。由于日光对反应生成的红色产物有破坏作用,有人认为应在加入混合碱后置于暗处保存 1h 后测定吸收度^[5]。但也有不避光放置 0.5h^[6]或 1h^[7]后再测定吸收度的报道。本文首次对该方法的稳定性进行了比较深入的研究。结果表明,置于光亮处,无论是对照品还是供试品的吸收度都能在 1~2h 内保持稳定,置于暗处,则在 3h 之后可保持稳定。我们曾增大了对照品和供试品的浓度后再次进行了稳定性试验,结果发现在光亮处放置的对照品和供试品的吸收度仍能在 1~2h 内保持稳定,但置于暗处放置的两种溶液的吸收度在 4h 时也未达到稳定。这提示本方法在光亮处的稳定性可能与标准品及样品的浓度无关,而在暗处的稳定性受浓度影响较大。

经典的混合碱比色法在提取出蒽醌类成分之后,一般均用混合碱反复萃取含有该类成分的有机溶剂,然后合并碱液测定吸收度^[5,6]。我们在实验初期曾试图沿用这一传统方法,结果发现该方法不仅操作繁琐,而且合并后的碱液中有不溶性颗粒存在。此外,由于在萃取操作时蒽醌类成分已经与混合碱反应且日光对反应产物有破坏作用,因此一般

精密吸取 20ml $104\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液,置圆底烧瓶中,水浴上挥干乙醚,放冷至室温,以下按 2.4 项下操作,结果见表 2。5 次测定的平均加样回收率为 99.86%, $RSD = 1.63\%$ 。说明本法测得的结果准确。

认为萃取应避光进行^[8],这在实践中很难实现。为了解决这一难题,我们尝试将蒽醌类成分的氯仿提取液直接挥发除尽氯仿,然后用混合碱溶解比色测定吸收度。结果表明,改进后的方法可有效克服原来的种种弊端,且操作简便、结果准确。

经典的混合碱比色法由于其专属性强、易于开展,曾一度被广泛应用于蒽醌类成分的定量分析。但近年来,随着分析科学的发展,该方法稳定性不佳、操作繁琐、结果准确度差的不足逐渐突出,严重制约了该方法的应用。本研究对该方法进行了改进,改进后的方法操作简便、结果可靠、稳定性良好,不仅可用于有效地控制逐瘀扶正胶囊的质量,而且对于其它含有蒽醌类成分的中药和中药制剂的定量分析亦具有一定的方法学意义。通过这一实验,我们也深刻地体会到:在大力发展新方法、新手段的同时,对一些传统的、经典的分析方法进行挖掘、整理、优化往往能起到事半功倍的效果。

参考文献:

- [1] 张旭红,梅贤良. 大黄治疗慢性肾功能衰竭临床应用近况[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(3): 275.
- [2] 蒋伟,陈香美,黎磊石. 大黄对体外肾小球系膜细胞生长的影响[J]. 中华肾脏病学杂志, 1990, 6(3): 133.
- [3] 魏俊峰,王乃婕,伍孝先,等. 测定大黄蒽醌类成分样品制备方法的研究[J]. 中草药, 2001, 32(11): 993.

- [4] 徐彦贵, 何振海, 高仲阳, 等. 大黄滴眼剂的研制[J]. 中国药师, 2001, 4(2): 92.
- [5] 朱天琪, 张 萱, 陆丽珠. 肝脂消胶囊中总蒽醌衍生物的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(9): 544.
- [6] 王跃生, 陈馥馨, 刘雪峰, 等. 十种煎煮方法对大黄煎液中有有效成分含量的影响[J]. 中成药, 1990, 12(9): 5.
- [7] 包保全, 巴根那, 娜仁花, 等. 蒙药六味安消胶囊中蒽醌类成分含量测定[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(2): 130.
- [8] 向征兵, 谢怀龙. 大黄及制剂中蒽醌类成分含量测定的研究近况[J]. 药学实践杂志, 1999, 17(1): 33.

收稿日期: 2002- 06- 10

比色法测定扶正平消胶囊黄芪总皂苷的含量

龚纯贵, 李捷伟, 赵 亮, 张国庆(上海东方肝胆外科医院药材料, 上海 200438)

摘要 目的: 确定扶正平消胶囊中黄芪总皂苷的含量测定方法, 并应用此方法对提取工艺初步筛选。方法: 水提、60% 醇提和水提醇沉三种方法制得粗提液样品, 用水饱和正 醇萃取后, 以自提黄芪甲苷为对照品, 采用比色法测定其中黄芪总皂苷的含量。结果: 水提、60% 醇提和水提醇沉三种方法所得的样品黄芪总皂苷平均含量分别为 0. 26%、0. 34% 和 0. 16%, 其中以 60% 醇提样品含量最高。结论: 可应用此方法对扶正平消胶囊质量进行控制。

关键词 比色法; 扶正平消胶囊; 黄芪皂苷

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0111(2002 05- 0300- 03)

Determination of total astragalosides in Fuzhengpingxiao capsules by colorimetric analysis

Gong Chun-gui, Li Jie-wei, Zhao Liang, Zhang Guo-qing (Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Shanghai 200438, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method to determine the content of total astragalosides in Fuzhengpingxiao capsules, and primary research about the extraction has been done with this method. **METHODS:** Three different methods were used to prepare the crude extractive liquid, which were extracted by pure water, 60% alcohol and deposited by alcohol after extracted by pure water. The crude extractive liquid was extracted by n-butanol saturated by water. Colorimetric analysis was used to determine the content of total astragalosides.

RESULTS: The mean content of total astragalosides extracted by three different methods were 0. 26%, 0. 34% and 0. 16%, respectively. The amount of the total astragalosides extracted by 60% alcohol was the highest.

CONCLUSION: The method can be used to control the quality of Fuzhengpingxiao capsules.

KEY WORDS colorimetric analysis; Fuzhengpingxiao capsule; astragalosides

扶正平消胶囊是由黄芪、当归、全蝎、蜈蚣等 28 味中药组成的复方制剂, 具有扶正祛邪, 活血散结的功效。黄芪为处方中的主药之一, 主要含皂苷类成分。为了控制该药的质量, 我们以黄芪甲苷为对照品, 采用比色法测定其中黄芪总皂苷的含量。

1 仪器与试剂

岛津 UV-160A 型紫外-可见分光光度计(日本); 电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂); 黄芪、当归、全蝎、蜈蚣等药材由上海杨浦中药饮片厂提供; 甲醇、正丁醇、氨水、香草醛、硫酸、无水乙醇等均

为分析纯; 黄芪甲苷对照品自制; 实验用纯水由本制剂室自己生产。

2 方法与结果

2.1 药材提取方法

2.1.1 按 1/3 处方量药材, 共计 237g, 加 8 倍生药量的纯水, 加热煮沸, 文火维持 2h, 过滤; 残渣加 5 倍量纯水煮沸后文火维持 1h, 过滤; 合并滤液, 浓缩至按生药量比为 1:1。按此方法共提取 3 份, 作为水提粗提液样品。

2.1.2 按 1/3 处方量药材, 共计 237g, 加 8 倍生药量