

# HPLC 测定紫草提取物中 $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的含量

关晶, 雷萌, 张建民\*

(首都儿科研究所中试基地, 北京 101304)

**[摘要]** 目的: 建立 HPLC 测定紫草提取物中  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的含量。方法: 采用 HPLC, Agilent HC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水-甲酸 (70:30:0.05), 检测波长 275 nm, 柱温 40 °C, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。结果:  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁在 50 ~ 200 μg 具有良好的线性关系 ( $r = 0.9998$ ), 平均加样回收率 103.31%, RSD 1.44% ( $n = 5$ )。结论: 方法准确, 重复性好, 可作为紫草提取物的含量控制。

**[关键词]** 紫草;  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0124-02

紫草具有凉血、活血、解毒透疹活血化癥之功效, 用于血热毒盛、斑疹紫黑、麻疹不透、疮疡、湿疹、水火烫伤等。其有效成分为紫草素等萘醌类成分, 药理研究表明紫草素具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等药理活性。本研究参照有关文献[1-4], 采用 HPLC 法对紫草提取物中的  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁进行了含量测定。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-10A, Agilent HC-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), CPA-225D 型电子天平。

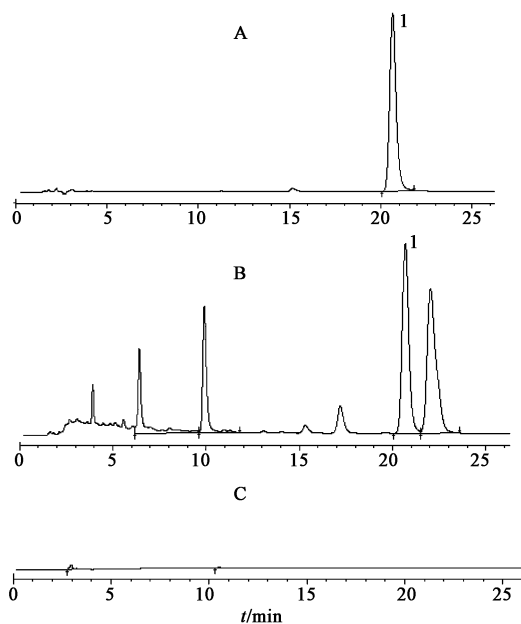
$\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111689-200502), 紫草乙醇提取液 (本实验室提供, 批号 101101, 101102, 101103), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent HC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水-甲酸 (70:30:0.05), 检测波长 275 nm, 柱温 40 °C, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。在上述条件下, 样品中  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁与其他成分分离度 > 1.5, 理论塔板数不低于 2 000, 见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 取  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品适量, 精密称定, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密量取紫草乙醇提取



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1.  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁

图 1 紫草提取物 HPLC

液 20 mL (相当于药材 0.5 g), 置洁净蒸发皿中, 50 °C 蒸干, 用石油醚 (60 ~ 90 °C) 溶解至 25 mL 量瓶中, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 15 min, 放冷, 加石油醚 (60 ~ 90 °C) 至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 蒸干, 残渣加流动相溶解, 移置 10 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 空白考察** 按处方自配不含紫草的提取物, 按其工艺制成空白制剂, 再按含量测定方法操作, 行液相色谱。结果,  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品及样品在 20 min 左右出峰, 阴性对照在  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的峰处没有干扰。

**2.5 线性关系的考察** 称取  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿

**[收稿日期]** 20120131 (139)

**[第一作者]** 关晶, 主管药师, 从事药品研发工作, Tel: 13651366990, E-mail: guanjing1119@126.com

**[通讯作者]** \* 张建民, 副主任药师, 硕士, 从事药品研发工作, Tel: 13910733577, E-mail: zjm0515@yahoo.com.cn

卡宁对照品 11.13 mg,加乙醇适量,溶解至 50 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,制成每 1 mL 含 0.2 mg 的储备溶液,稀释该对照品储备液使其含量分别为 0.222 6,0.133 6,0.111 3,0.089 0,0.044 5 g·L,分别进样 10  $\mu$ L,测定峰面积,以峰面积( $X$ )为横坐标, $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁浓度( $Y$ )为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程  $Y = 10\ 721\ 165.9X + 5\ 975.2$  ( $r = 0.999\ 9$ ),表明  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁在 44.5 ~ 222.6  $\mu$ g 具有良好的线性关系。

**2.6 精密度试验** 精密吸取  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品溶液 10  $\mu$ L,重复进样 6 次,记录峰面积, $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的 RSD 0.173%。

**2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号 101101),分别于配制后 0,2,4,6,8,10 h 进行测定,记录  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的峰面积,结果平均含量为 0.115 3 g·L<sup>-1</sup>,RSD 0.41%。表明供试品溶液在 10 h 内很稳定。

**2.8 重复性试验** 按上述测定方法取同一批号(070908)样品 6 份进行测定,结果平均含量为 0.117 1 g·L<sup>-1</sup>,RSD 2.97%。

**2.9 加样回收试验** 采用加样回收法, $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品适量,精密称定,加乙醇制成每 1 mL 含 0.05 mg 的标准液。精密量取已知含量的紫草乙醇提取液 10 mL,共 6 份,置洁净蒸发皿中,分别精密加入  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品标准液 1.0 mL,按正文供试品溶液的制备方法制备及正文规定色谱条件测定,结果见表 1,表明  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的回收率良好。

### 3 样品测定

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu$ L,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积,按外标法计算含量,3 批样品测定结果见表 2。

### 4 讨论

紫草提取物中含有紫草素、乙酰紫草素、 $\beta,\beta'$ -

表 1 紫草提取物加样回收率试验

No.	取样量 /mg	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	10	0.058 7	0.050 0	0.109 8	101.87		
2	10	0.058 3	0.050 0	0.108 6	100.51		
3	10	0.057 6	0.050 0	0.107 3	99.478	100.89	1.54
4	10	0.057 4	0.050 0	0.108 8	102.44		
5	10	0.056 1	0.050 0	0.105 4	98.75		
6	10	0.056 3	0.050 0	0.107 6	102.31		

表 2 3 批样品中  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁含量测定 ( $n = 2$ )

批号	平均含量/g·L	RSD/%
101101	0.116 5	0.36
101102	0.115 3	0.18
101103	0.117 8	0.24

二甲基丙烯酰阿卡宁等相多种类似的萘醌类成分。对仪器及分离度有较大影响。经过实验摸索,采用石油醚二次精制,且调整流动相等方法,去除杂质峰的干扰,回收率试验表明,本方法准确、可靠。

### [参考文献]

- [1] 赵强. 复方紫草烫伤软膏中  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁含量测定及药效学研究[D]. 长春: 吉林大学, 2010 (10): 9.
- [2] 曾祖平, 王子君, 王宏, 等. HPLC 法测定紫草中  $\beta,\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁含量[J]. 中国药房, 2011, 15 (22): 1407.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010: 320.
- [4] 王小春, 刘敏. 紫草含量测定方法的讨论[J]. 中国药业, 2006, 15 (6): 20.

[责任编辑 顾雪竹]