



# (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104849368 B

(45)授权公告日 2016.12.07

(21)申请号 201510239930.7

(22)申请日 2015.05.12

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104849368 A

(43)申请公布日 2015.08.19

(73)专利权人 广西壮族自治区梧州食品药品检验所

地址 543000 广西壮族自治区梧州市西环路中段198号

(72)发明人 陈学松 欧妮

(74)专利代理机构 广州市越秀区海心联合专利代理事务所(普通合伙) 44295

代理人 黄为 蔡国

(51)Int.Cl.

G01N 30/02(2006.01)

(56)对比文件

CN 104483402 A, 2015.04.01, 全文.

JP 5770818 A, 1982.05.01, 全文.

郑运亮等. HPLC法同时测定乌药中3种倍半萜内酯的含量.《中国中药杂志》. 2009, 第34卷

(第21期), 第2777-2780页.

张剑等. 赣南乌药中乌药醚内酯不同提取方法的比较研究.《赣南医学院学报》. 2013, 第33卷(第6期), 第819-820+866页.

Haifeng Wu等. Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography-mass spectrometry.《Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis》. 2013, 第72卷第267-291页.

刘冰晶等. HPLC法测定赣南乌药根、茎、叶中乌药醚内酯的含量.《湖北农业科学》. 2012, 第51卷(第21期), 第4870-4872页.

陈瑞芳等. 6种不同产地乌药中乌药醚内酯的HPLC法含量测定.《中华中医药学刊》. 2011, 第29卷(第5期), 第1123-1124页.

余翠琴等. 高效液相色谱法测定乌药中乌药醚内酯.《中草药》. 2009, 第40卷(第6期), 第983-984页.

审查员 潘迪

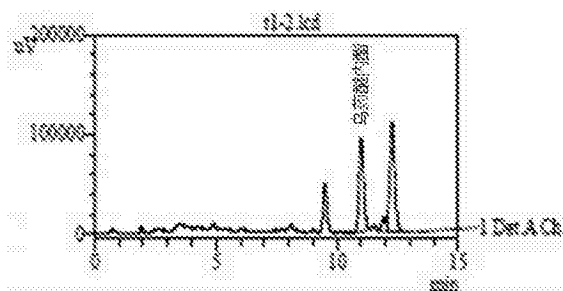
权利要求书1页 说明书3页 附图3页

(54)发明名称

乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法

(57)摘要

本发明公开了一种乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,包括以下步骤:步骤1:将乌药粉碎后与硅藻土混合;步骤2:采用ASE萃取法萃取乌药醚内酯,收集萃取液,其中,ASE萃取法所采用的萃取溶剂为体积比为1:1的乙酸乙酯与正己烷混合溶液;步骤3:将萃取液蒸干后用甲醇溶解并稀释定容,离心后取上清液;步骤4:将上清液以高效液相色谱法进行检测。本发明的目的是提供一种萃取效率高、测量准确的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法。



1. 一种乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1:将乌药粉碎后与硅藻土混合;

步骤2:采用ASE萃取法萃取乌药醚内酯,收集萃取液,其中,ASE萃取法所采用的萃取溶剂为体积比为1:1的乙酸乙酯与正己烷混合溶液;

步骤3:将萃取液蒸干后用甲醇溶解并稀释定容,离心后取上清液;

步骤4:将上清液以高效液相色谱法进行检测乌药醚内酯的含量,高效液相色谱法的参数如下:色谱柱:ODS-SP 5 $\mu$ m 4.6 $\times$ 250mm、柱温:40 $^{\circ}$ C、流速:1mL/min、流动相:乙腈-水、检测波长:235nm、上清液进样量10 $\mu$ l;乙腈和水的体积比为44:56。

2. 根据权利要求1所述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,

所述的步骤1中,乌药和硅藻土的重量比为1:1,乌药粉碎后的粒径为经三号筛过筛后的乌药粉。

3. 根据权利要求2所述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,所述的步骤2包括以下子步骤:

S1:在萃取池的底部垫3-6张滤纸,再加入硅藻土作为底层;

S2:向萃取池中加入步骤1所得到的乌药和硅藻土的混合物;

S3:向萃取池中加入适量的硅藻土作为表层;

S4:采用乙酸乙酯与正己烷混合溶液进行萃取;其中,萃取参数为:萃取温度80 $^{\circ}$ C;循环次数1次;静态萃取时间5min;吹扫时间60s。

4. 根据权利要求3所述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,所述的乌药和硅藻土的混合物的重量为2g,所述的萃取池的体积为10ml。

5. 根据权利要求1至4任一所述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,所述的步骤3具体为:将萃取液倒入蒸发皿中并用少量体积比为1:1的乙酸乙酯与正己烷混合溶液润洗接收瓶合并萃取液,蒸干,用甲醇溶解并稀释至50mL,取2mL在15000r/min下离心3min,取上清液。

6. 根据权利要求1所述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,其特征在于,所述的ASE萃取法通过ASE-350加速溶剂萃取仪进行,高效液相色谱检测的仪器为岛津20AD液相色谱仪。

## 乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及化学检测技术领域,特别是一种乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法。

### 背景技术

[0002] 乌药为樟科植物乌药 *Lindera aggregata*(Sims)Kosterm\_的干燥块根。全年均可采挖,除去细根,洗净,趁鲜切片,晒干,或直接晒干。乌药多呈纺锤状,略弯曲,有的中部收缩成连珠状,长6~15cm,直径1~3cm。表面黄棕色或黄褐色,有纵皱纹及稀疏的细根痕。质坚硬。切片厚0.2~2mm,切面黄白色或淡黄棕色,射线放射状,可见年轮环纹,中心颜色较深。气香,味微苦、辛,有清凉感。质老、不呈纺锤状的直根,不可供药用。

[0003] 药典所记录的浸出物的含量测试方法为:取本品粗粉约1g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚50ml,提取4小时,提取液挥干,残渣用甲醇分次溶解,转移至50ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得,并结合药典所记录的测试方法进行测量。上述乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法溶剂用量大,测试时间长,对测试人员技能要求高。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种萃取效率高、测量准确的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法。

[0005] 本发明提供的技术方案为:一种乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法,包括以下步骤:

[0006] 步骤1:将乌药粉碎后与硅藻土混合;

[0007] 步骤2:采用ASE萃取法萃取乌药醚内酯,收集萃取液,其中,ASE萃取法所采用的萃取溶剂为体积比为1:1的乙酸乙酯与正己烷混合溶液;

[0008] 步骤3:将萃取液蒸干后用甲醇溶解并稀释定容,离心后取上清液;

[0009] 步骤4:将上清液以高效液相色谱法进行检测乌药醚内酯的含量,高效液相色谱法的参数如下:色谱柱:ODS-SP 5 $\mu$ m 4.6 $\times$ 250mm、柱温:40 $^{\circ}$ C、流速:1mL/min、流动相:乙腈-水、检测波长:235nm、上清液进样量10 $\mu$ l;乙腈和水的体积比为44:56。

[0010] 在上述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法中,所述的步骤1中,乌药和硅藻土的重量比为1:1,乌药粉碎后的粒径为经三号筛过筛后的乌药粉。

[0011] 在上述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法中,所述的步骤2包括以下子步骤:

[0012] S1:在萃取池的底部垫3-6张滤纸,再加入硅藻土作为底层;

[0013] S2:向萃取池中加入步骤1所得到的乌药和硅藻土的混合物;

[0014] S3:向萃取池中加入适量的硅藻土作为表层;

[0015] S4:采用乙酸乙酯与正己烷混合溶液进行萃取;其中,萃取参数为:萃取温度80 $^{\circ}$ C;循环次数1次;静态萃取时间5min;吹扫时间60s。

[0016] 在上述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法中,所述的乌药和硅藻土的混合物

的重量为2g,所述的萃取池的体积为10ml。

[0017] 在上述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法中,所述的步骤3具体为:将萃取液倒入蒸发皿中并用少量体积比为1:1的乙酸乙酯与正己烷混合溶液润洗接收瓶合并萃取液,蒸干,用甲醇溶解并稀释至50mL,取2mL在15000r/min下离心3min,取上清液。

[0018] 在上述的乌药中乌药醚内酯的含量的测定方法中,所述的ASE萃取法通过ASE-350加速溶剂萃取仪进行,高效液相色谱检测的仪器为岛津20AD液相色谱仪。

[0019] 本发明在采用上述技术方案后,其具有的有益效果为:

[0020] 本发明采用ASE萃取法用乙酸乙酯与正己烷作为萃取液能够有效的提高萃取效果,提高萃取率,降低溶剂用量和萃取用时,相比于传统的萃取方法,本发明解决了传统萃取效率低,用时长的问题,降低了萃取物的损失。同时采用高效液相色谱法,可以有效的分离特征峰,实现乌药醚内酯的准确检测。

### 附图说明

[0021] 图1为本发明的实施例1的测试谱图;

[0022] 图2为本发明的标准样的测试谱图;

[0023] 图3为本发明按照药典方法分离得到的样品的测试谱图。

### 具体实施方式

[0024] 下面结合具体实施方式,对本发明的技术方案作进一步的详细说明,但不构成对本发明的任何限制。

[0025] 实施例1:

[0026] 萃取

[0027] 本实施例所用到的仪器与耗材为:粉碎机、电子分析天平(XA205DU):感量0.001g、加速溶剂萃取仪型号:ASE-350(10ml萃取池,50ml收集瓶)、容量瓶:25ml、离心管:2ml。

[0028] 步骤1:取乌药粉末(过三号筛)约1g,精密称定,与1g硅藻土混合均匀,待用;

[0029] 步骤2:萃取池底部垫3~6张(商品化滤纸1张)自制圆形滤纸(直径27mm),加入约1g硅藻土后加入步骤1所得到的混合均匀的样品、再加入适量硅藻土,轻轻振摇使之与池口在同一水平线上,拧紧萃取池上盖。

[0030] 步骤3:用ASE萃取放萃取,得到萃取液,具体参数见下表1。

[0031] 表1 ASE萃取参数

[0032]

萃取池 (ml)	10	吹扫 (s)	60
温度 (°C)	80	循环次数	1
冲洗体积 (%) (溶剂节省模式)	0	溶剂	乙酸乙酯: 正己烷 (体积比 1:1)
静态萃取时间 (min)	5		

[0033] 步骤4:萃取结束后,将萃取液倒入蒸发皿中并用少量乙酸乙酯:正己烷(体积比1:

1)润洗接收瓶合并萃取液,蒸干。用甲醇溶解并稀释至50mL,取2mL在15000r/min下离心3min,取上清液,待上机测定。

[0034] 检测

[0035] 采用岛津20AD高效液相色谱仪进行检测,检测参数为:

[0036] 色谱柱:ODS-SP 5 $\mu$ m 4.6 $\times$ 250mm、柱温:40 $^{\circ}$ C、流速:1mL/min、流动相:乙腈-水(44:56)、检测波长:235nm、上清液进样量10 $\mu$ l。

[0037] 标准样的准备

[0038] 取乌药醚内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1ml含40 $\mu$ g的溶液,即得,检测方法按照实施例1的检测步骤进行。

[0039] 实施例1和标准样的检测结果如下图1和图2。图3为药典所记录分离方法检测得到的谱图,具体为取乌药粉末粗粉约1g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚50ml,提取4小时,提取液挥干,残渣用甲醇分次溶解,转移至50ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得,检测方法按照实施例1的检测步骤进行。通过三项谱图对照可以发现,本方法分离所得到的样品能够得到清晰的完整的图谱,与药典记录的分离方法得到的样品测试谱图具有高度重合性。

[0040] 本方法分离精度高,用时短,测量结果准确,有利于简化分析人员的操作。

[0041] 以上所述的仅为本发明的较佳实施例,凡在本发明的精神和原则范围内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

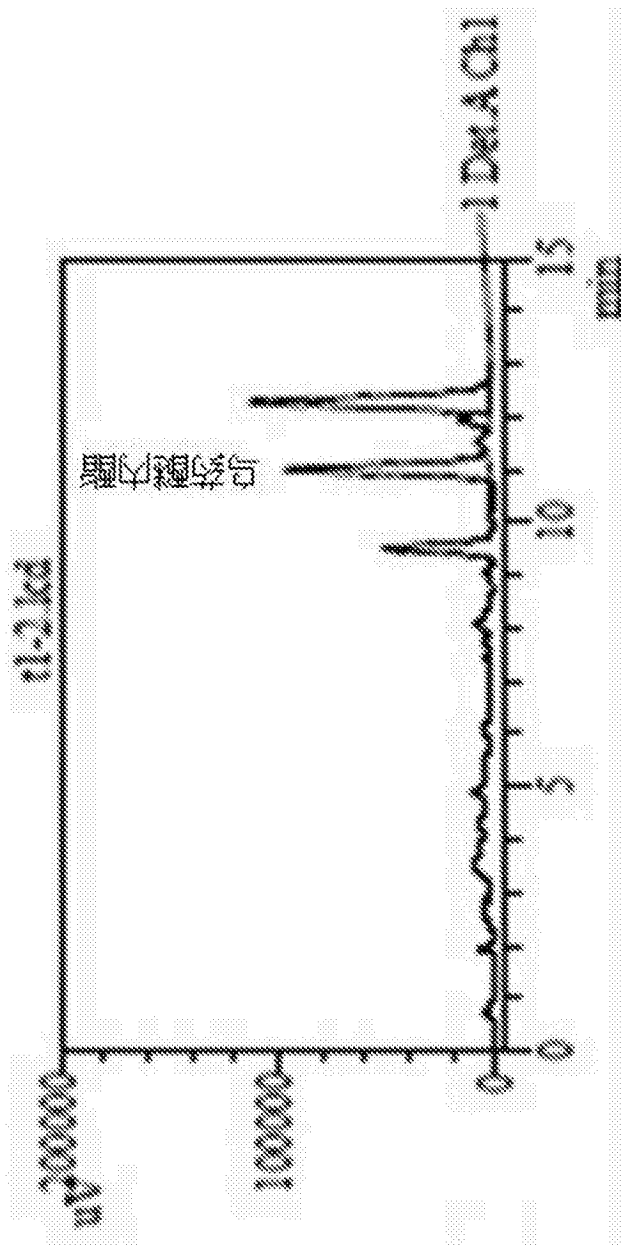


图1

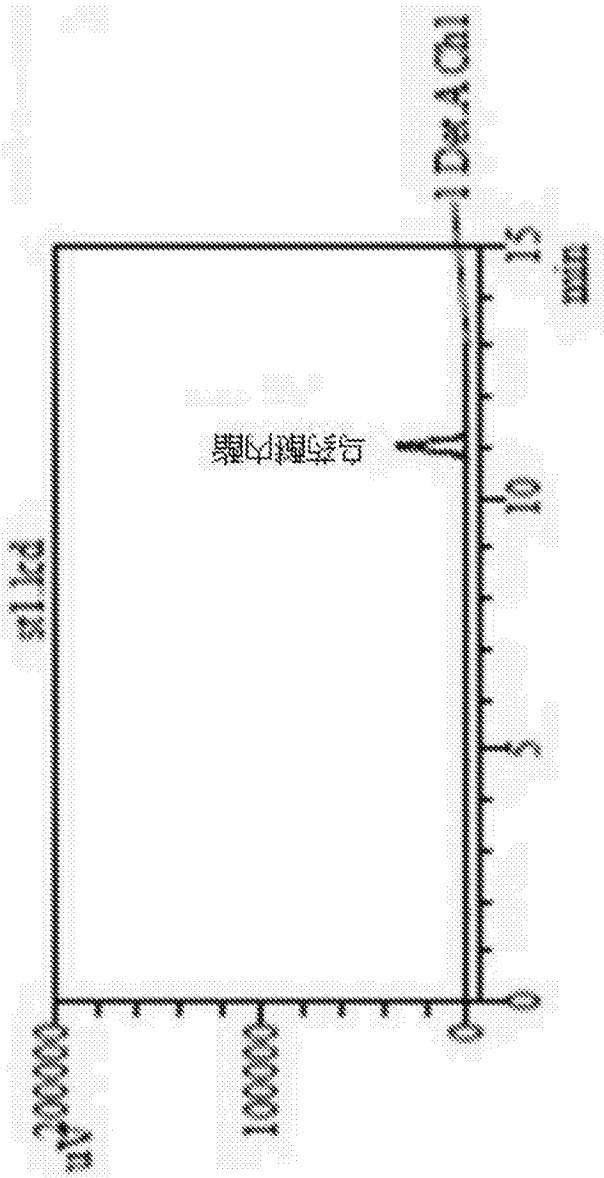


图2

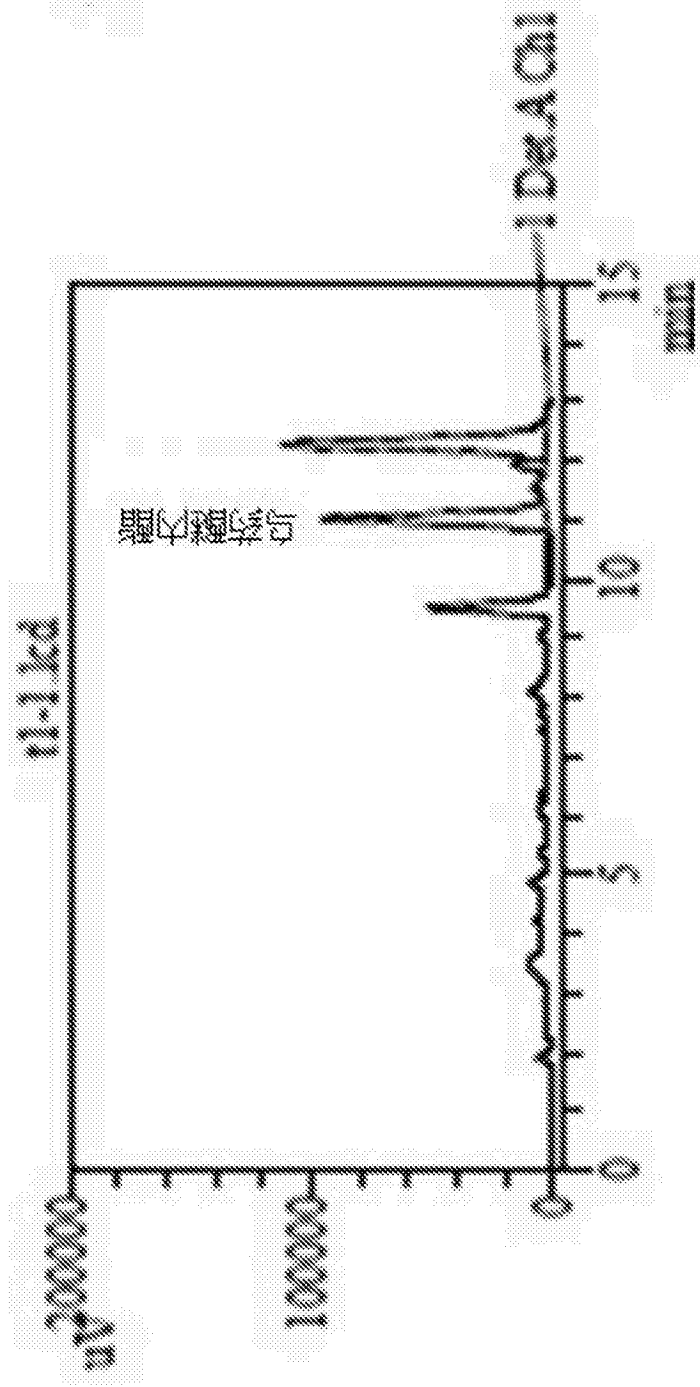


图3