克白酊中补骨脂素和异补骨脂素的 HPLC 测定

海军 401 医院(青岛 266071)　方子季*　纪松岗　林　静　袁锦华　代育存

摘　要　样品水浴蒸发后以二氯乙烷萃取，采用 C_{18} 键合柱反相色谱方法，以氯霉素作内标物，测定克白酊中的补骨脂素和异补骨脂素。$RSD<2\%$，线性范围均为 10～200 μg/mL，补骨脂酊 $r=0.9999$，异补骨脂酊 $r=0.9999$。回收率分别为 96.7%和 100.3%。

关键词　克白酊　补骨脂素　异补骨脂素　二氯乙烷萃取　HPLC 法

克白酊系海军 401 医院自制的治疗白癜风系列制剂之一，主要含补骨脂、红花等数种中药，临床应用疗效较好。国内已有补骨脂酊含量测定方法的报道[1]，但克白酊除含补骨脂外，尚含多种其它中药。本文建立了 HPLC 法测定克白酊中的补骨脂素和异补骨脂素含量的方法。

1　仪器与试剂

日本岛津公司 LC-6A 高效液相色谱仪。克白酊：海军 401 医院制剂室提供。补骨脂素和异补骨脂素对照品：中国药品生物制品检定所提供。氯霉素：青岛医药公司提供。甲醇：紫外光学纯。无水乙醇：分析纯。

对照品贮备液：精密称取 105℃干燥至恒重的补骨脂素和异补骨脂素对照品适量，用无水乙醇配成浓度分别为 2.4 和 2.0 mg/mL 的溶液，置 4℃冰箱备用。

内标贮备液：精密称取氯霉素配制成 1.0 mg/mL 的无水乙醇溶液，置 4℃冰箱备用。

2　方法和结果

2.1　色谱条件：大连依利特公司 YWG 色谱柱(4.6 mm×250 mm)，大连依利特公司 C_{18} 保护柱，柱温 35 ℃，流动相甲醇-水(4∶6)，流速 1.3 mL/min，检测波长 295 nm，量程 0.04 AUFS，纸速 1 mm/min。

补骨脂素和异补骨脂素的保留时间分别是 15 min 和 17 min，分离度 1.67，理论板数分别为 2 130 和 3 825，内标峰保留时间是 5.4 min。

2.2　回归方程的测定：准确配制 6 种不同浓度对照品无水乙醇溶液(10，20，40，80，160，200 μg/mL)，加适量内标使成 80 μg/mL，每次进样 6 μL，进样 3 次。记录色谱图，求得对照品峰面积为内标物峰面积的关于进样浓度的回归方程。补骨脂素回归方程：$Y=2.376\times10^{-2}+3.741\times10^{-2}X$，$r=0.9999$。异补骨脂素回归方程：$Y=3.935\times10^{-2}+3.686\times10^{-2}X$，$r=0.9999$。

2.3　加样回收率试验：取克白酊 25 mL 3 份，分别加入对照品贮备液适量，按样品测定方法处理并加入内标物后，按样品测定项下方法 3 份样品各重复测定 3 次。计算得补骨脂素平均回收率为 96.7%，$RSD=1.6\%$，异补骨脂素平均回收率为 100.3%，$RSD=0.75\%$。

2.4　样品测定：精密量取克白酊 25 mL，水浴蒸干，加水 10 mL 使剩余物混悬，置 50 mL 分液漏斗中，加二氯乙烷萃取，每次 15 mL，共萃取 3 次，合并萃取液，水浴蒸干，剩余物分次加入无水乙醇溶解，并移至 25 mL 量瓶中，加入内标液适量使成 80 mg/mL，加无水乙醇至刻度，摇匀，以干燥滤纸过滤，弃初滤液 5 mL 取续滤液 6 μL 进样，求得样品

* Address: Fang ZiJi, The Navy No. 401 Hospital, Qingdao
方子季　男，64 岁，主任药师。1955 年毕业于中国人民解放军第七军医大学(现第三军医大学)药学系。从事医院药学工作 40 余年，曾因主持新药研究工作于 1987 年、1997 年分别获得军队科技进步二等奖及三等奖各 1 项。发表论文 10 余篇，主持和参加编写出版论著各 1 部，均担任副主编，现在主要从事中药制剂的质量控制研究工作。

峰面积与内标峰面积的比值，代入回归方程计算样品含量。结果见表1。

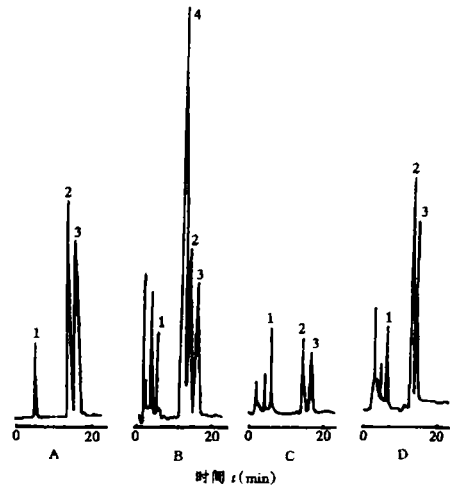
表1 克白酊含量测定结果($n=3$)

品名	批号	补骨脂素 (μg/mL)	RSD (%)	异补骨脂素 (μg/mL)	RSD (%)
补骨脂酊	941004	100.3	1.6	98.7	0.50
补骨脂酊	941004	100.2	1.8	100.1	0.81
补骨脂酊	941004	97.5	1.1	99.6	1.20

3 讨论

3.1 作者曾实验水浴蒸干，加水混悬，加氯仿提取法；以及水浴蒸干，加2.5%碳酸钠碱化，加石油醚脱脂后以盐酸中和，再以氯仿提取法[2]；水浴蒸干，以乙醇溶解经中性氧化铝柱层析等方法进行样品的前处理，但均不够理想，柱层析处理虽除去一些杂质峰，但与未经处理酊剂一样在补骨素前有一个含量大的峰，不能完全分离，影响测定结果，而上述二种氯仿提取法，因氯仿提取时易乳化，影响测定结果，测得含量仅为理论量的50%左右，而用本法处理样品含量与理论量相符，且干扰峰少，不影响测定，故选用本法。

3.2 溶剂的比例若水的比例下降或柱温升高均会使补骨脂素与异补骨脂素的分离度降至1.5以下，影响分离效果。



A-对照品 B-经柱层析 C-经氯仿萃取 D-经二氯乙烷萃取 1-内标 2-补骨脂素 3-异补骨脂素 4-杂质峰

图1 样品HPLC图

参考文献

1 谭生建，等．中国中药杂志，1995；2(20)：99

2 阴 建，等．中药现代研究与临床应用．北京：学苑出版社，1993：382

(1999-02-05 收稿)

新疆甘草深度开发工艺的研究

新疆师范大学生物系(乌鲁木齐 830054) 惠寿年* 董阿玲 徐晓晶 祝长青

摘 要 针对甘草主要有效成分的提取及生产甘草甜素中存在的问题，研究出一条甘草深加工、生产高纯度甘草甜素，同时得到黄酮类化合物的新工艺，为甘草的综合利用开发提供中试依据。

关键词 甘草 深度开发工艺 甘草甜素 黄酮类化合物

甘草系多年生草本植物，药用历史悠久，是最常用的中草药品种。甘草的研究引起了国内外学者的广泛重视。目前，对甘草中三萜类化合物(甘草甜素类)研究得较清楚，而对甘草黄酮类化合物的研究成为新焦点[1]。二者作为甘草的主要有效成分，具有很多生理活性，如抗炎、抗溃疡和抗病毒等[2,3]。传统的甘草甜素生产工艺经改良就可同时提取黄酮类化合物[4]。笔者还探讨了溶媒、水量、温度、粒度、终止pH等对产品得率及提取完全程度的影响，确定了深加工甘草产品的最佳工艺流程条件。

1 仪器和材料

1.1 仪器与色谱条件：岛津HPLC-6A高效

* Address: Hui Shounian, Department of Biology, Xinjiang Normal University, Wulumuqi