

中微温使溶解,待冷至室温后加 0.1 mol/L 盐酸至刻度,摇匀(含疏嘌呤 0.5 mg/mL)。

2.4 样品的制备:取 40 °C 干燥并粉碎过 100 目的狗爪豆粉 160 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中加入酸性乙醇(9 mL 盐酸加 85% 乙醇至 1000 mL)到刻度,摇匀后浸渍 2 h,于超声提取器中超声提取 40 min,离心,取上清液 5.0 mL 于蒸发皿中 45 °C 水浴上挥干,加入内标溶液 5.0 mL 溶解残渣,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤制得样品溶液供 HPLC 分析用。

2.5 线性关系及校正因子的测定:取左旋多巴对照品 25 mg 精密称定,置 25 mL 量瓶中,用内标溶液溶解并稀释到刻度,摇匀,精密量取 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,用内标溶液稀释到刻度,摇匀,连同本液在上述色谱条件下分别进样 20 μL ,测定峰面积,以峰面积比为纵坐标,对应左旋多巴浓度为横坐标进行线性回归,结果左旋多巴含量在 100~1 000 mg/L 范围内呈良好的线性关系,回归方程为:

$$Y = (6.304 + 1.863X) \times 10^{-3}, r = 0.9999。$$

根据 6 种不同浓度溶液进样后的峰面积计算校正因子为 1.069 0, $RSD = 0.67\%$ 。

2.6 样品及回收率的测定:吸取样品制备液 20 μL 注入色谱仪,根据峰面积计算含量,结果狗爪豆种子中左旋多巴含量为 3.61%, $RSD = 0.63\%$ ($n = 3$)。

取已知含量的样品粉末 0.1 g,共 3 份,精密称定,置 10 mL 量瓶中,分别加入左旋多巴对照品 2.0, 2.5, 3.0 mg,加酸性乙醇至刻度,按 2.4 项提

取制备,并进行加样回收测定,计算回收率,结果在 100.81%~101.42% 之间, RSD 小于 0.68%。

2.7 稳定性试验:取校正因子测定用对照液(0.5 mg/mL)于 50 °C 水浴中加热 1 h 放冷至室温,分别于 0(当时), 12, 24 h 进样分析,结果左旋多巴与内标峰面积比值与 2.5 项测得比值基本一致。

3 小结和讨论

3.1 狗爪豆种子中富含脂肪与蛋白质,用酸性水溶液提取时易形成乳浊液而难分离,为防止污染柱子,经多次分离实验,结果以 0.1 mol/L 盐酸的 85% 乙醇溶液分离效果最好,且经浸渍并超声提取 40 min,再于 4 000 r/min 离心 10 min,左旋多巴可全部提出。

3.2 酸性乙醇提取液直接进样对左旋多巴和疏嘌呤的峰形均有干扰,因此须在 45 °C 水浴中挥去乙醇,残渣用等量的内标溶液溶解,可消作干扰,峰形较好。

3.3 建立的高效液相色谱法,可使杂质、内标物与左旋多巴实现良好的分离,准确测定了狗爪豆种子中左旋多巴含量,用该法还同时测定了狗爪豆茎中左旋多巴含量为 0.59%,豆荚中为 0.094%。

参考文献:

- [1] 蔡军,朱兆仪. 黎豆属植物中左旋多巴资源的研究[J]. 中草药, 1990, 21(3): 7-8.
- [2] 卫生部药典委员会编. 临床用药须知[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995.
- [3] 北京医学院药理学系 74 届学员. 黎豆中左旋多巴的提取和含量测定[J]. 中草药通讯, 1974, (4): 20-22.
- [4] 陈勇,甄汉深,许学健,等. 薄层扫描法测定猫豆和黎豆中左旋多巴的含量[J]. 中草药, 1993, 24(6): 294-295.

HPLC 法对天麻素及其制剂中天麻素的定量分析

谢笑天¹, 郑萍¹, 杨明惠², 徐树光^{3*}

(1. 云南师范大学 化学系, 云南 昆明 650092; 2. 大理师范高等专科学校, 云南 大理 671000; 3. 昆明制药股份有限公司, 云南 昆明 650100)

摘要:目的 测定天麻素及各制剂中的含量。方法 采用 RP-HPLC 法, Shim-pack CLC-CN 柱(150 mm×6.0 mm, 5 μm), 咖啡因为内标物, 乙腈-水(10:90)为流动相, 检测波长 270 nm。结果 从天麻素对照品及原料中分离出一种未知物, 建立了 HPLC 法, 加样回收率为 99.87%, $RSD = 0.46\%$ ($n = 5$), 天麻素在 1~10 μg 内与峰面积呈良好线性关系, $r = 0.9999$ 。结论 方法准确、精密、快速、简便, 可用于天麻素及制剂中天麻素的含量测定。

关键词: 天麻素; 制剂; HPLC; 含量测定

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)06-0513-03

* 收稿日期: 2000-08-14

作者简介: 谢笑天(1962-), 男, 硕士, 云南师范大学化学系副教授。从事天然有机化学、药物分析及精细化工的研究。参加或主持多项国家自然科学基金项目、云南省省院省校合作项目、云南省教委自然科学基金项目及企业委托项目。

Determination of gastrodin and preparations of gastrodin by HPLC

XIE Xiao-tian¹, ZHENG Ping¹, YANG Ming-hui², XU Shu-guang³

(1. Department of Chemistry, Yunnan Normal University, Kunming Yunnan 650092, China; 2. Dali Normal College, Dali Yunnan 671000, China; 3. Kunming Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming Yunnan 650100, China)

Key words: gastrodin; preparation; HPLC; quantitative determination

天麻 *Gastrodia elata* Bl. 是我国著名的中药, 主治诸风湿痹, 风虚眩晕, 头痛等症。天麻素是天麻中的主要有效成分, 结构为 4-羟甲基苯- β -D-葡萄糖吡喃糖苷半水合物, 人工合成的天麻素物理化学性质和结构与天然天麻素一致, 药理作用也完全相同^[1]。其含量测定方法有紫外分光光度法、薄层扫描法及 HPLC 法^[2,3], 经研究不适用于本品。本论文建立和完善了 HPLC 测定天麻素及制剂的方法。同时发现在天麻素对照品及原料中, 存在一个未知杂质, 为此, 我们进行了研究, 使天麻素峰与杂质峰良好分离, 得到了较满意的色谱条件。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: 日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, SPD-6A 紫外可见检测器, C-R3A 色谱数据处理仪。

1.2 试剂: 天麻素对照品, 中国药品生物制品检定所提供, 采用归一化法进行纯度检查, 结果在本文的高效液相色谱条件下, 纯度为 95.2%。同法测定咖啡因内标, 纯度为 99.7%, 由昆明滇池制药厂提供。天麻素原料、片剂、胶囊剂和针剂由昆明制药股份有限公司提供。乙腈 HPLC 级, 二次亚沸水。

2 实验部分

2.1 色谱条件

2.1.1 色谱柱: 日本岛津 Shim-pack CLC-CN (150 mm × 6.0 mm, 5 μ m) 柱, 流动相: 乙腈-水 (10 : 90), AUFS: 0.16, 流速 1.0 mL/min, 检测波长: 270 nm; 进样量: 10 μ L。

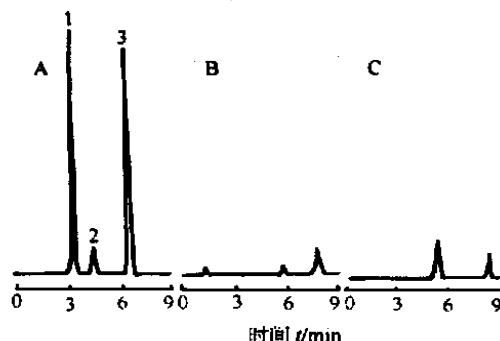
2.1.2 柱子的选择: 采用 Shim-pack ODS 柱, CLC-C₈ 柱, Lick-RP C₁₈, 氨基柱等进行实验, 从峰形、分离度及色谱分析时间考察, Shim-pack CLC-CN 柱较理想。

2.1.3 内标选择: 本文对咖啡因、安替比林、对氨基苯磺酸等进行了测定, 考察与天麻素及未知物的分离情况, 结果表明: 咖啡因的保留时间比较理想, 且与其它峰互不干扰。

2.1.4 样品溶剂的选择: 用甲醇、乙腈、四氢呋喃和水等, 结果表明, 选用乙腈-水 (10 : 90) 流动相作为溶剂与样品相配, 获得的峰形及分离效果最佳。

2.1.5 系统适用性测定: 在本实验色谱条件下, 精密

称取天麻素与咖啡因适量, 用流动相溶解。取 10 μ L 进样, 色谱图见图 1A, 保留时间为: 天麻素: 3.85 min, 杂质: 4.80 min, 内标: 6.46 min。理论塔板数: 天麻素为 3191, 内标为 13850; 拖尾因子为 0.95, 0.75; 分离度: 天麻素与杂质为 2.27, 天麻素与内标为 4.0。



A-对照 B-片剂、胶囊阴性空白 C-针剂阴性空白

1-天麻素 2-杂质 3-咖啡因

图 1 样品色谱图

3 测定结果

3.1 对照品贮备溶液和内标溶液的配制: 精密称取 80 $^{\circ}$ C 干燥 1 h 的天麻素对照品适量, 用流动相配成 2.8 mg/mL 的溶液, 另精密称取咖啡因适量, 用流动相配制成 0.32 mg/mL 的溶液作为内标溶液。

3.2 样品溶液的配制

3.2.1 天麻素原料: 精密称取本品的 2.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 另精密吸取 2 mL 内标溶液加入, 用流动相溶解、定容。进样 10 μ L, 测定。

3.2.2 片剂、胶囊: 天麻素片剥去糖衣后, 取 20 片, 精密称量, 研细, 取细粉适量, 加流动相超声溶解后定容, 过滤。精密量取续滤液适量配成 0.5 mg/mL, 余同原料的含量测定方法。胶囊的测定同片剂。

3.2.3 针剂: 精密吸取注射液适量, 另精密吸取 2 mL 内标溶液加入, 用流动相稀释配成 0.5 mg/mL 的溶液, 余同原料的含量测定。

3.3 校正因子测定: 精密量取对照品贮备溶液 5 mL 与内标溶液 1 mL 置于 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 得校正因子测定用溶液, 进样 10 μ L, 连续进样 5 次, 计算校正因子。

3.4 线性范围和最低检测限: 精密量取对照品贮备溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 分别置于 25 mL 量瓶中, 各

精密加入内标溶液 1 mL, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 依本文方法进行测定, 以进样量 X 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为: $Y = 0.7961 + 9920.87X$, $r = 0.9999$ 。天麻素进样量在 1~10 μg , 内标物在 0.32 μg 时与峰面积呈良好的线性关系。在本文液相色谱分离条件下, 当信噪比为 3:1 时, 天麻素的最低检测限为 0.05 μg 。

3.5 加样回收率测定: 精密称取已知含量的同一批天麻素原料约 20 mg 共 3 份, 分别置于 50 mL 量瓶中, 各精密加入对照品 3.1, 6.5, 7.3 mg, 再各加 2 mL 内标溶液, 用流动相溶解并稀释至刻度, 照 3.2.1 项下方法操作, 测定平均回收率为 99.87%, RSD 为 0.46%, ($n = 5$)。

3.6 制剂回收率测定: 取天麻素适量精密称定, 按照片剂、胶囊剂及针剂处方制备模拟样品各 5 份, 各份均依制剂含量测定项下方法操作; 计算方法回收率, 分别为: 片剂 99.30%, RSD 为 1.20%; 胶囊 99.8%, RSD 为 0.88%; 针剂 100.2%, RSD 为 0.60%, 证明方法精密度良好。

3.7 精密度实验: 取线性范围测定用 3 种浓度的溶液, 分别进样 10 μL , 重复测定 5 次, RSD 为 0.57%, 证明精密度良好。

3.8 稳定性实验: 取原料及各制剂测定用溶液, 在不同时间进样、分析, 测定日内、日间 RSD 皆小于 0.7% 及 0.8%, 证明方法稳定性良好。

3.9 干扰性实验: 各精密称取按处方配比的天麻素片剂辅料、胶囊剂辅料细粉适量, 精密吸取天麻素针剂不添加主药的空白溶剂适量, 用流动相溶解。按各制剂项下含量测定方法操作, 进样分析, 在天麻素、

内标物、杂质的保留时间处均无任何峰出现, 表现各剂型的辅料均不干扰(图 1-B, C)。

3.10 样品的测定结果: 用本文测定方法检验的原料及制剂含量, 结果见表 1。

表 1 样品中天麻素的含量测定结果($n = 4$) (%)

编号	含量	RSD
原料-1	91.56	0.7
原料-2	93.08	0.6
原料-3	92.45	0.5
片剂-1	100.21	1.2
片剂-2	98.36	1.02
片剂-3	98.90	0.85
针剂-1	101.25	0.8
针剂-2	100.37	0.7
针剂-3	101.70	0.7
胶囊-1	98.25	1.1
胶囊-2	99.60	0.9
胶囊-3	100.54	0.8

4 讨论

4.1 在 HPLC 法测定天麻素时, 发现在天麻素对照品与原料中都存在一相同保留时间的杂质峰, 根据研究资料, 推断此杂质可能为天麻素水解苷元——对羟基苯甲醇。用归一化法计算, 天麻素对照品中, 该杂质含量为 4%~5%, 原料中为 9%~11%; 同样, 该未知物也存在于天麻素的各种制剂中。

4.2 本法准确度高, 重现性好, 简便、快速, 可作为天麻素及其系列制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 杨世林, 兰进, 徐锦堂. 天麻的研究进展[J]. 中草药, 1999, 31(1): 66.
- [2] 中国药典[S]. 二部. 1995.
- [3] 云南省药品标准. 天麻素[S]. 滇 Q/WS 616-1980.
- [4] 袁倚盛. HPLC 系统的故障排除[M]. 南京: 南京大学出版社, 1991.

聚酰胺薄层扫描法测定清暗颗粒中黄芩苷的含量

倪艳¹, 刘桂霞², 刘霞¹, 李先荣^{1*}

(1. 山西省中医药研究院, 山西 太原 030012; 2. 天津中医学院, 天津 300193)

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)06-0515-02

清暗颗粒是由黄芩、薄荷、玄参、诃子等多味中药组成的复方制剂, 经提取精制成颗粒制剂, 药理实

验及多年临床实践证明, 本品具有疏风散热、消肿止痛、清肺开音之功效, 多用于风热毒邪壅肺之急喉

* 收稿日期: 2000-06-12

作者简介: 倪艳(1965-), 女, 山西五寨人, 副主任药师, 理学学士学位, 1986年毕业于沈阳药科大学中药系, 一直在山西省中医药研究院从事中药新药的开发研究, 主要负责其中制备工艺的设计与研制, 质量标准的制定等工作。
电话: 0351-4168040 传真: 0351-4168050