

用高效液相色谱法同时测定九分散中麻黄碱和士的宁的含量

沈阳药学院 (110015)

陈发奎* 郭允珍

日本北海道药科大学

鹿野美弘

摘要 用高效液相色谱法在同一测定条件下,经一次测定同时对九分散中麻黄碱(ephedrine)和士的宁(strychnine)进行定量;并对样品提取方法进行了考察。为九分散的质量控制提供了一个简便、可靠的方法。

关键词 九分散 麻黄碱 士的宁 高效液相色谱法

九分散为传统中成药,处方由麻黄、马钱子、乳香及没药各等量组成,散剂,具活血散瘀、消肿止痛功能。外用或内服治疗跌打损伤,瘀血肿痛(90版药典367页)。其中麻黄中的麻黄碱和马钱子中的士的宁均为有效成分,且士的宁为毒性成分,故可作为含量测定的指标成分〔陈发奎,等.药学学报,1992,27(11):853〕。关于九分散中麻黄碱和士的宁测定方法虽有研究报道,但用同一种方法同时对两者进行含量测定未见报道。本文用高效液相色谱法在同一测定条件下同时对九分散中麻黄碱和士的宁进行含量测定。

1 对照品及药品

盐酸麻黄碱及士的宁购于中国药品生物制品检定所;各单味中药均为市售品,经鉴定为正品;九分散为营口中药厂生产。

2 实验方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 回流提取法:精密称取九分散4g及麻黄、马钱子、乳香、没药粉末(20目以下)各1g,作为阳性对照;同时精密称取缺一味模拟散剂(即缺麻黄、缺马钱子、缺乳香、缺没药)各3g,作为阴性对照。分别置圆底烧瓶中,准确加流动相项下流动相溶液20ml,水浴回流提取2h,滤过,残渣再加流动相溶液15ml同法提取。合并滤液,挥散溶剂并定容至20ml,以滤膜(孔径0.45 μ m)滤过,即为各自的样品溶液。

2.1.2 振荡提取法:同上法精密称取九分散及各阳、阴性对照样品分别置带盖试药瓶中,准确加流动相溶液20ml,密闭,于50℃水浴中振荡提取1h,滤膜滤过,即为各自的样品溶液。

2.2 HPLC测定条件及考察:LC-5A泵,SPD-2A检测器,Inertsil ODS-2,4.6mm $\times$ 250mm柱。

检测波长:经测定麻黄碱、士的宁的最大吸收波长分别为206.9nm、207.8nm,同时士的宁在253.6nm处也有较强吸收。成分的最大吸收波长极为相近,可把207nm作为其共同测定波长。波长选择图谱见图1。

流动相:选用不同比例的乙腈、水、磷酸、硫酸月桂酸钠进行色谱分析,当乙腈-水-磷酸-硫酸月桂酸钠(38:62:0.1:0.5)时吸收峰可较好分离,且保留时间较短,故选为流动相。考察色谱图见图2A。

*Address: Chen Fakui, Shenyang College of Pharmacy, Shenyang

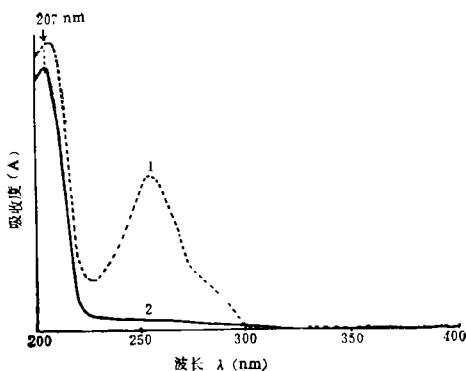


图1 麻黄碱和士的宁紫外吸收谱

1-士的宁 2-麻黄碱

柱温: 调整不同柱温进行色谱分析, 柱温为40℃时吸收峰可较好分离, 且保留时间较短, 故被选用。考察色谱图见图2B。

2.3 标准曲线的绘制: 精密配制麻黄碱0.08~0.8μg/ml, 士的宁0.08~0.56 μg/ml浓度的对照品溶液各7份, 分别按以上色谱条件各进样10μl进行色谱分析, 由峰面积值绘制标准曲线, 两成分的回归方程式为:

$$\text{麻黄碱: } Y = 25.347X - 1.430 \quad (n = 7; r = 0.9999)$$

$$\text{士的宁: } Y = 62.306X + 3.216 \quad (n = 7; r = 0.9997)$$

2.4 样品定量色谱峰的确认: 准确吸取九分散及各阳性对照样品溶液各15μl, 按选定的色谱条件测定, 绘制色谱图, 对照分析, 初步确认九分散图谱中的麻黄碱峰(用E表示)和士的宁峰(用S表示), 见图3A。同样, 各阴性对照溶液也同法进行色谱分析, 由色谱图进一步证实以上确认是正确的, 且麻黄碱、士的宁吸收峰不受处方中其它药味吸收峰的干扰, 见图-B。

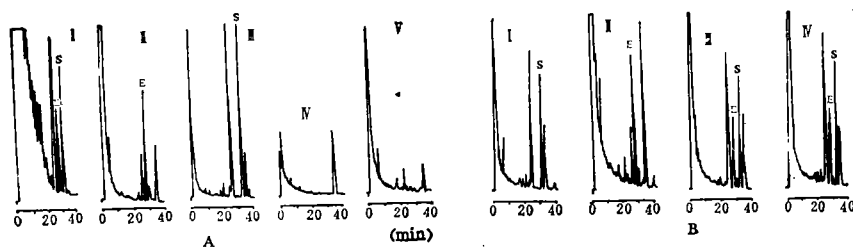


图3 麻黄碱、士的宁吸收峰确认色谱

A-阳性对照: I-九分散 II-麻黄 III-马钱子 IV-乳香 V-没药 B-阴性对照: I-缺麻黄 II-缺马钱子 III-缺乳香 IV-缺没药 色谱峰: E-麻黄碱 S-士的宁

2.5 样品测定: 准确吸取用2种方法制备的九分散及麻黄、马钱子样品溶液各15μl, 按选定的色谱条件进行色谱分析, 由峰面积计算样品中麻黄碱和士的宁含量的结果, 如表1。

2.6 回收率测定: 精密称取麻黄粉末及九分散各0.1g, 分别加盐酸麻黄碱2mg; 同样, 精密称取马钱子粉末及九分散各0.1g, 分别加士的宁2mg。以上各取8份, 分别按样品溶液制备项下2种方法提取, 按样品测定项下方法测定, 计算回收率, 结果见表2。(下转第577页)

均高度显著,浸泡时间在本文所取的范围内对两者的影响均不显著。

2.4 结论:通过正交试验,找到了提取汉防己甲、乙素的最佳条件。在此条件下测得 汉防己甲素的百分含量达到最大值为0.678%,汉防己乙素的百分含量达到最大值为0.61.%,提高了汉防己碱的提取效率,提取液组份简单、稳定,提取条件和色谱条件有良好的兼容关系。

表5 方差分析

汉防己	方差来源	变差平方和	自由度	方差估计值	F值	F _{0.05} (f ₁ ,f ₂)	显著性
甲素	氨水浓度	0.132	3	0.044	88	19.16	显著
	浸泡时间	0.004	1	0.004	8	18.51	不显著
	提取时间	0.026	1	0.026	52	18.51	显著
	试验误差	0.001	2	0.0005			
	总和	0.163	7				
乙素	氨水浓度	0.096	3	0.032	40.14	19.16	显著
	浸泡时间	0.006	1	0.006	7.5	18.51	不显著
	提取时间	0.080	1	0.080	100	18.51	显著
	试验误差	0.0019	2	0.0008			
	总和	0.184	7				

参 考 文 献

1 北京中医学院主编. 中药化学. 上海: 上海人民出版社, 1976. 83

2 江苏新医学院主编. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1977. 981

3 姜建石, 等. 中国药理学报, 1988, 9(5): 412

4 杨义方. 中草药, 1985, 16(6): 41

5 陈浩松, 等. 中国中药杂志, 1993, 18(4): 412

6 Zhang T Y, et al. J Liq Chromatogra, 1988, 11(8): 1661.

7 邓勃编著. 数理统计在分析化学中的应用. 北京: 化学工业出版社, 1984. 306

(1993-12-25收稿)

(上接第572页)

表1 麻黄碱、士的宁含量测定结果 (n=4)

提取方法	样 品	测定成分	含量(%)	RSD(%)
回流	麻 黄	麻黄碱	0.64	2.4
	马钱子	士的宁	0.97	3.6
	九分散	麻黄碱	0.10	2.1
		士的宁	0.02	0.4
振荡	麻 黄	麻黄碱	0.67	0.3
	马钱子	士的宁	0.99	0.8
	九分散	麻黄碱	0.09	2.3
		士的宁	0.02	3.0

表2 回收率测定结果 (n=4)

提取方法	样 品	测定成分	标准品添加量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
回流	麻 黄	麻黄碱	2.00	1.77	88.50	3.1
	马钱子	士的宁	2.00	1.89	94.50	2.1
	九分散	麻黄碱	2.10	1.88	89.52	0.4
		士的宁	1.95	1.91	97.95	1.7
振荡	麻 黄	麻黄碱	2.00	1.81	90.50	3.3
	马钱子	士的宁	2.00	1.91	95.50	1.4
	九分散	麻黄碱	2.00	1.82	91.00	0.9
		士的宁	1.95	1.82	93.33	2.5

3 小结与讨论

实验结果表明,用HPLC法经1次测定即可对九分散中的麻黄碱和士的宁进行满意的定量,从而为九分散的质量控制及检测提供了更为简便可靠的方法。

样品测定及回收率测定结果表明用两种方法提取所测含量相近,但振荡法操作简便,被认为是一个更加实用的方法。

(1993-12-30收稿)

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Constituents of Aertaihuanqi (*Astragalus altaicus*)

Cheng Jiefei, Wu Jianfei, Azi Guli, et al

Three cycloaitesides were isolated for the first time from the n-BuOH extract of *Astragalus altaicus*. They were identified respectively as cyclosieversioside B, C and A, by FAB-MS, IR, ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, ^1H - ^{13}C COSY, ^1H - ^{13}C COSY and hydrolysis.

(Original article on page 563)

Studies on the Chemical Constituents of Montane Spicebush (*Lindera reflexa*)

Zhang Junzeng, Fang Qicheng

Seven Compounds were isolated from dry Radix of *Lindera reflexa*. They were identified as launobine (I), lindcarpine (II), laulolitsine (III), $\pm$ pinostrobin (IV), $\pm$ pinocembrin (V), octacosanoic acid (VI) and β -sitosterol (VII) on the basis of chemical and spectral analyses.

(Original article on page 565)

Chemical Components of Mongolian Spirala (*Spiraea mongolica*)

Xie Haihui, Wei Xiaoyi, Wei Biyu

Six compounds were isolated for the first time from *Spiraea mongolica* Maxim. (*Rosaceae*) by means of chemical and spectral analysis and comparison with data of literature or authentic samples, 5 of them were identified as β -sitosterol (I), betulin (II), betulinic acid (III), betulinic acid 3, 5-dihydroxyl-cinnamate (IV) and daucosterol (VI).

(Original article on page 569)

Simultaneous Quantitative Determination of Ephedrine and Strychnine in Traditional Chinese Medicine "Joufensan" by HPLC

Chen Fakui, Yoshihiro Kano, et al

A rapid, simple and sensitive method was established for the evaluation of Chinese traditional medicine "Joufensan" by HPLC. Sample of "Joufensan" was extracted by solvent, and the extraction analysed by HPLC using an Inertsil ODS column with a solvent system, acetonitrile-water-phosphoric acid-sodium dodecyl sulfate (38:62:0.1:0.5) at 40°C and UV detector. The new method was reliable for the evaluation of ephedrine and strychnine in "Joufensan".

(Original article on page 571)

Quantitative Determination of paeonin in "Shuganzhitong Pian" by Macroporous Resin Preseparation-TLC Densitometry Method

Shou Guoxiang, Lu Guibao

A preliminary separation procedure of paeonin in "shuganzhitong pian" by macro-porous resin GDX-104 and its subsequent quantitative determination by double wavelength TLC scanning was developed. Through sample scanning, stability investigation and recovery tests, it reveals that the suggested method was precise and accurate, the results of determination