

=2, 乙醚萃取4次, 合并醚层, 用20 mL水洗至中性, 回收乙醚, 加甲醇溶解并稀释至25 mL, 取1 mL加甲醇稀释至10 mL, 供分析用。

②精密称取关木通粗粉适量, 加10%含甲酸的丙酮50 mL, 置沙氏提取器中提取至提取液近无色, 回收溶媒, 残渣用0.5%氢氧化钠15 mL溶解并转移至分液漏斗中(pH=10), 用乙醚萃取2次, 每次15 mL, 萃取后的碱液用3.6%硫酸溶液调pH=2, 乙醚萃取4次, 合并醚层, 回收乙醚, 加甲醇溶解并稀释至25 mL, 取1 mL加甲醇稀释至10 mL, 供分析用。

③精密称取关木通粗粉适量, 加甲醇50 mL, 超声提取30 min, 提取液供分析用。

④精密称取关木通粗粉适量, 加甲醇50 mL, 置索氏提取器中提取至近无色, 提取液供分析用。

根据以上4种供试液的紫外光谱和对照品马兜铃酸I比较, 结果表明以①法提取效果最好。

表2 不同提取方法的比较

提取方法	①	②	③	④
总酸含量(%)	2.86	1.90	2.75	2.96

2.4 回收率试验: 精密称取同一样品8份, 其中6份加入一定量的马兜铃酸I对照品, 按①法制备供试品溶液, 测定吸光度计算回收率。结果加样回收率为98.5%, $RSD=2.04\%$ ($n=6$)。

2.5 样品测定: 精密称取关木通粗粉适量, 按①法制备供试品溶液, 测定吸光度并计算含量, 结果见表1。

3 讨论

3.1 关木通中含有木兰碱, 干扰马兜铃酸类成分的测定, 我们采用经酸、碱处理、有机溶媒萃取纯化, 以消除木兰碱的干扰, 结果表明以氨水提取, 酸化后用乙醚萃取效果最好。

3.2 不同来源的关木通中总马兜铃酸的含量差异较大, 其中样品2未去栓皮, 总酸含量较高。故我们认为栓皮中马兜铃酸类成分的含量较高; 样品16中含量最低, 结合药材的外观质量, 发现该样品可能因为在采收加工或贮运过程中生霉, 药材变黑, 致使总酸含量降低。

3.3 文献报道, 大鼠口服马兜铃酸的 LD_{50} 平均为193.7 mg/kg; 药典规定关木通的用量为3~6 g, 按6 g计算, 治疗指数大于10为安全可靠, 马兜铃酸的含量不得高于4.85%。故只要合理控制关木通的用量, 均不至于引起马兜铃酸中毒。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典. 一部. 1995:12;
- 2 丁林生, 楼凤昌. 中草药, 1983, 14:424
- 3 Mengs U, Stotzem C D. Med Sci Res, 1992, 20:203
- 4 Patt P. Arzneimittel Forsch, 1965, 15:90
- 5 谭生建, 杨国芬, 梁玉琴, 等. 中国中药杂志, 1993, 18(3):169

(2000-01-07 收稿)

复方制剂“稚泻停口服液”中柠檬酸的 RP-HPLC 测定研究

陕西师范大学化学系(西安 710062) 陈战国* 吕九如

摘要 建立了用 RP-HPLC 法直接测定复方制剂“稚泻停口服液”中柠檬酸含量的方法。线性回归方程为 $Y=43.594X-33$, $r=0.9998$ 。线性范围为 $0.47\sim 15.64\ \mu\text{g}$, RSD 为 0.61% , 平均回收率为 100% ($n=7$)。一次测定只需 20 min, 测定时样品无需特殊处理。

关键词 RP-HPLC 柠檬酸 乌梅 稚泻停口服液

Determination of Citric Acid in Compound Chinese Herbal Preparation -“Zhixieting” Oral Liquid by RP-HPLC

Department of Chemistry, Shanxi Normal University (Xi'an 710062) Chen Zhanguo and Lu Jiuru

Abstract To establish a method for the determination of citric acid in “Zhixieting” oral liquid, which is a compound Chinese herbal preparation containing *Fructus Mume* as the main active ingredient, supplemented with several other herbal drugs, for the treatment of infantile diarrhea. Contents of citric

* Address: Chen Zhanguo, Department of Chemistry, Shanxi Normal University, Xi'an

陈战国 男, 1960年生, 高级工程师, 理学硕士。长期从事药物分析研究工作。1981年毕业于陕西师范大学化学系, 现任化学系化学实验教学中心副主任。1991年至1999年获省、部级科学技术进步奖三项, 发表论文40余篇。共同承担并完成国家自然科学基金项目一项, 陕西省自然科学基金项目二项。研制出三类中药“稚泻停冲剂”一种, 四类中药“稚泻停口服液”一种, 五类西药“盐酸二甲双胍”(治糖尿病药)粉剂和片剂生产工艺两项。

acid in samples of the preparation were determined by RP-HPLC on SUPELCOSIL LC₁₈ column (15 cm × 4.6 mm; 5 μm) with a mobile phase of 0.5% NH₄H₂PO₄ and detected at a wave length of 214 nm. The linear regression equation was found to be $Y = 43\,594X - 33$ ($r = 0.999\,8$); linear range of determination, 0.47~15.64 μg; average recovery rate, 100% ($n = 7$); $RSD = 0.61\%$; minimum detectable amount 2.6×10^{-7} g; and a single determination needed only 20 min. The method proved to be simple, need no pretreatment of sample, and may be recommended for the quality control of "Zhixieting" oral liquid.

Key words RP-HPLC citric acid *Fructus Mume* "Zhixieting" oral liquid

复方制剂“稚泻停口服液”是我们近年来研制的一种治疗小儿腹泻的有效药物,临床试验结果显示,总有效率达 97.3%。该药是由乌梅、甘草等多味中药材组成,经提取等工艺制成的中药制剂。中医理论研究证明,“稚泻停口服液”的止泻功能与其所含的乌梅有直接关系。现代药理研究证明,乌梅的抗菌和固涩作用与乌梅中的有机酸密切相关^[1,2]。化学成分研究证明,乌梅中除含有多量的柠檬酸和较多量的琥珀酸外,还有少量的酒石酸、苹果酸、草酸、抗坏血酸以及齐墩果酸^[3]。因此,可以认为柠檬酸是乌梅中的有效成分之一,也是“稚泻停口服液”中的有效成分之一。我们建立了 RP-HPLC 法直接测定“稚泻停口服液”中柠檬酸的新方法,该方法也可作为“稚泻停口服液”的质量标准检验方法。实验证明,该方法简单、准确,回收率在 99.5%~101%,快速,一次测定只需 20 min。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂:日本岛津 LC-6A 高效液相色谱系统,SPD-6AV 紫外检测器,C-R3A 色谱数据处理

仪,柠檬酸、(NH₄)₂HPO₄、H₃PO₄ 均为国产 AR 级。

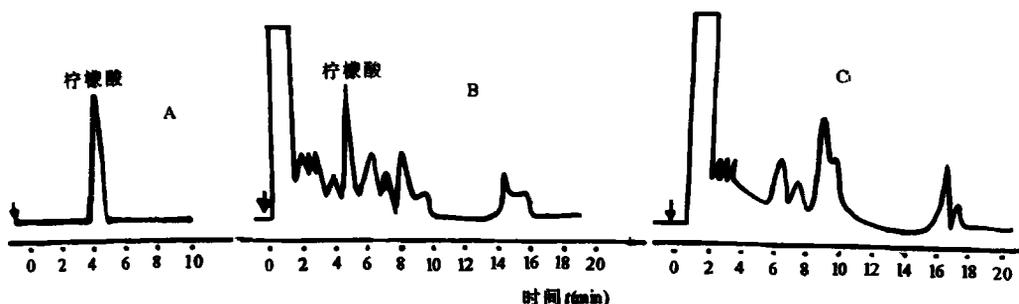
1.2 色谱条件:色谱柱:SUPELCO SIL, LC-18 (15 cm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相:0.5% NH₄H₂PO₄ 水溶液,用 H₃PO₄ 调至 pH 2.8。流速:1 mL/min,纸速:5 mm/min。AUFS:0.16,检测波长 214 nm。

1.3 储备液的配制:取柠檬酸,在 80 °C 下烘至恒重,精密称取 0.064 6 g,溶于 50 mL 量瓶中,加流动相至刻度。精密移取上述溶液 3.00 mL 于 25 mL 量瓶中,加流动相至刻度,得所需储备液,浓度为 155.04 μg/mL。

2 实验结果

2.1 标准工作曲线的绘制:在上述色谱条件下,分别取储备液 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 μL, 注入色谱柱中,每份平行进样 3 次,以 3 次峰面积的平均值为纵坐标(Y),以进样量(μg)为横坐标(X)进行线性回归,柠檬酸的回归方程为 $Y = 43\,594X - 33$, $r = 0.999\,8$,线性范围为 0.47~15.64 μg。色谱图见图 1-A。

2.2 精密度试验:精密移取储备液一定量于 25 mL



A-柠檬酸 B-稚泻停口服液 C-阴性对照

图 1 样品色谱图

量瓶中,加流动相至刻度,摇均,得供精密度试验用标准溶液,浓度为 51.68 μg/mL,每次进标准溶液 20 μL,每份平行 3 次,峰面积的精密度测定结果 RSD 为 0.61%。

2.3 最低检出量:在 0.16 AUFS 时,按色谱要求,以噪音的 3 倍峰高计算柠檬的最低检出量为 2.6×10^{-7} g。

2.4 干扰性试验:在上述色谱条件下,按样品测定

法进样 10 μL,色谱图见图 1-B。由色谱图可知,柠檬酸可与其它组分完全分离,无干扰。

2.5 阴性对照试验:按制备工艺,制备缺乌梅供试液。按样品测定进行色谱分析,柠檬酸峰消失,说明柠檬酸来自乌梅中。见图 1-C。

2.6 稳定性试验:储备液在 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 时分别进样 10 μL,每份平行进样 3 次,测得日内 RSD 为 0.65%。在 24, 48, 72, 96 h 时分别进样 15 μL,每

份进样3次,测得日间RSD为6.7%。说明在12h内柠檬酸测定的稳定性良好。

2.7 回收率试验:取已知浓度的口服液7份,分别精密加入柠檬酸固体30.63,31.53,32.31,33.52,34.14,34.83,35.66mg于上述7份口服液中,使其完全溶解,微孔滤膜(0.45 μm)过滤,最后分别定容到100 mL量瓶中,按样品测定法测定回收率,7次测定回收率平均结果为100%,RSD=0.48%。

2.8 样品测定:取3批10 mL装口服液各10支,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,分别移取10 mL滤液于100 mL量瓶中,加流动相至刻度,摇匀后每批各平行进样4次,每次进样10 μL,峰面积取平均值,分别代入回归方程,外标法定量。3批稚泻停口服液中柠檬酸的含量测定结果见表1。

3 讨论

3.1 本文优化的色谱条件下用RP-HPLC法测定

表1 稚泻停口服液中柠檬酸的含量测定结果

批号	测定结果(μg/mL)	平均含量(μg/mL)
99411	2 146.8	
99418	2 147.2	2 147.0
99420	2 147.0	

复方制剂“稚泻停口服液”中柠檬酸含量,由色谱图可以看出,柠檬酸能与其它组分完全分离,同时柠檬酸附近的其它组分响应值也较低。

3.2 柠檬酸的最大吸收波长在190 nm,但在实验中发现,在190 nm处,色谱图变得十分复杂,其它组分响应值也较高,其它组分与柠檬酸几乎无法分离。选取波长为214 nm,此时色谱图变得较为简单,分离效果好。

3.3 本方法可作为稚泻停口服液有效成分含量测定的方法,由测定结果来看,柠檬酸含量的平均值为2 147.0 μg/mL。为了便于控制质量,稚泻停口服液中柠檬酸的含量建议控制在2 100~2 200 μg/mL范围内。

3.4 本方法的另一特点是样品不需特殊处理可直接进行色谱测定。

参考文献

- 1 沈红梅,乔传卓,苏中武,等. 中成药,1993,15(7):35
- 2 仓田英明,王正德,成井孝雄,他. 生药学杂志,1990,44(2):101
- 3 李时珍. 本草纲目(校点本下册)第一版. 北京:人民卫生出版社,1982:1736

(2000-01-14 收稿)

超临界流体萃取分析蓬莪术挥发性成分

中国科学院兰州化学物理研究所(730000) 陈淑莲* 游静 王国俊

摘要 用超临界流体萃取、毛细管气相色谱及气相色谱-质谱对蓬莪术挥发油进行分析。最优化的超临界流体萃取条件为20.0 MPa,55 °C,0.5 mL乙醇作改性剂,动态萃取40 min,CO₂用量为12 mL,并与索氏萃取、水蒸气蒸馏比较。

关键词 蓬莪术 挥发油 超临界流体萃取 气相色谱-质谱法

Extraction of Essential Oil from *Curcuma phaeocaulis* by Supercritical Fluid Extraction

Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences (Lanzhou 730000) Chen Shulian, You Jing and Wang Guojun

Abstract To develop a method for the extraction of essential oil from *Curcuma phaeocaulis* Val. by supercritical fluid extraction (SFE), and analysis of its composition by capillary GC and GC/MS spectrometry. Conditions for the super critical fluid CO₂ extraction were studied in comparison with Soxhlet extraction (SX) and steam distillation (SD). The optimum condition for SFE was found to be: 12 mL of CO₂ and 5 mL ethyl alcohol at a pressure of 20.0 MPa, and 55 °C temperature for 40 min. 33 compounds were identified by CGC and GC/MS spectrometry. The SFE method was found to be superior than either SX or SD extraction.

Key words *Curcuma phaeocaulis* Val. essential oil supercritical fluid extraction GC/MS spec-

* Address: Chen Shulian, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou