

HPLC法测定狗爪豆中的左旋多巴

赵永成*

(昭通地区药品检验所,云南 昭通 657000)

摘要:目的 建立 HPLC法测定狗爪豆中左旋多巴含量的方法。方法 采用 ODS柱,以甲醇-0.01 mol/L K_2HPO_4 (25:75, pH3.0)作为流动相,巯嘌呤为内标,检测波长 280 nm。结果 实现色谱分离,左旋多巴浓度在 100~1000 mg/L范围内线性良好, $r=0.9999$,加样回收率在 100.8%~101.42%之间。结论 本法简便,准确,重现性好。

关键词: HPLC法;狗爪豆;左旋多巴

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)06-0512-02

Quantitative determination of levodopa in Gouzhaodou (*Stizolobium capitatum*) by HPLC

ZHAO Yong-cheng

(Zhaotong Institute for Drug Control in Yunnan Province, Zhaotong Yunnan 657000, China)

Key words HPLC; seed of *Stizolobium capitatum* (Sweet) O. Kuntze (Gouzhaodou); levodopa

狗爪豆俗称毛毛豆、猫豆,是黎豆属植物头花黎豆 *Stizolobium capitatum* (Sweet) O. Kuntze 的种子,在我区有栽培。黎豆属植物的主要有效成分是左旋多巴^[1],也是提取和利用左旋多巴的药用植物资源。左旋多巴在临床上适用于帕金森氏病等^[2]。文献报道测定黎豆属种子中左旋多巴含量方法有紫外分光光度法^[3]、薄层扫描法^[4]、氨基酸分析仪测定法^[1]。本文以巯嘌呤为内标物质建立 HPLC法测定了狗爪豆中的左旋多巴含量,该法简便、准确、重现性好,其它成分无干扰。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10 Avp 液相色谱仪,SPD-10 Avp 紫外检测器,CTO-10 Avp 柱温箱,Class-V P 色谱处理系统。

左旋多巴,巯嘌呤对照品(中国药品生物制品检定所),甲醇为分析纯,盐酸为优级纯,其他试剂为分析纯。

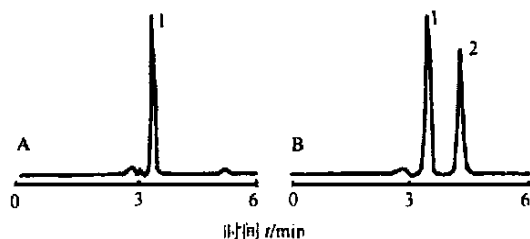
狗爪豆植物于 1999年 9月采自云南省永善县,经中科院昆明植物所鉴定为 *Stizolobium capitatum* Kuntze。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS柱

(6.0 mm×150 mm×5 μ m),流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(25:75, pH3.0),流速 1 mL/min,柱温 30 $^{\circ}$ C,检测波长 280 nm,进样量 20 μ L。

2.2 内标物的选择: 在选定的色谱条件下,对内标物进行筛选,结果采用巯嘌呤为内标物较为合适,虽然巯嘌呤 $\lambda_{max}=325$ nm,但由于 $E_{1cm}^{1\%}$ 较大(1131),在 280 nm 检测波长处仍有良好的峰形和响应灵敏度,在样品色谱图中,内标峰位置处未出现杂质峰的干扰,左旋多巴与内标物保留时间分别为 3.37 和 4.27,理论塔板数大于 8000,分离度大于 5.0,分离色谱图见图 1。



A-样品 B-标准品与内标物 1-左旋多巴 2-巯嘌呤

图 1 色谱图

2.3 内标溶液的制备: 准确称取巯嘌呤 25 mg 置 50 mL 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸约 40 mL 于水浴

* 收稿日期: 2000-06-12

作者简介: 赵永成,1982年毕业于昭通师专化学系,后考入云南大学化学系,本科毕业,理学学士学位,副主任药师。从事化学药品检定,药检新技术的应用研究和天然药物的研究工作,先后在省部级、国家级核心期刊发表论文 10 余篇,其中“HPLC法测定粗茶精中咖啡因含量研究”、“HPLC法测定杜仲叶中的绿原酸”同时被美国化学文摘(CA)、英国分析化学文摘(AA)转摘,分获地区科技进步 3 等奖和 1 等奖。Tel (0870)2220942 E-mail m_rzhaoyc@sina.com.

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 硫嘌呤 0.5 mg/mL)。

2.4 样品的制备:取 40℃ 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℃ 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 100~1000 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 1.0690, $RSD = 0.67\%$ 。

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℃ 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 4000 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硫嘌呤的峰形均有干扰,因此须在 45℃ 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. 临床用药需知[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。