

RP-HPLC法测定白毛夏枯草中杯苋甾酮的含量

刘 斌¹, 马桂萍², 石任兵^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 宁夏康雅药业有限公司, 宁夏 银川 750002)

白毛夏枯草为唇形科筋骨草属植物白毛夏枯草

Ajuga decumbens Thunb. 的干燥全草, 在我国南方诸省有广泛分布。该药始载于《本草拾遗》, 具有清热解毒、祛痰止咳、凉血止血的功效, 可用于治疗肺热咳嗽、咽喉肿痛、痈肿疮疖等症。筋骨草属植物主要含有二萜类、环烯醚萜类、植物甾皮甾酮类和黄酮类成分^[1], 其中从白毛夏枯草中分离得到的杯苋甾酮对由肿瘤细胞生长促进剂 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 诱导产生的 Epstein-Barr 病毒早期抗原 (EBV-EA) 具有强烈的抑制作用, 表现出潜在的抗肿瘤活性^[2]。为充分利用白毛夏枯草这一资源, 更好地控制白毛夏枯草质量, 本研究建立了 RP-HPLC 测定白毛夏枯草中杯苋甾酮含量的方法。

1 仪器与试药

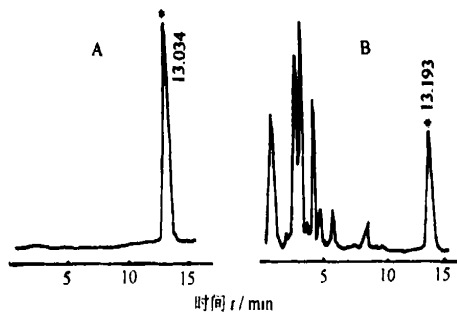
1.1 仪器: Waters 515 高效液相色谱仪, 2487 紫外检测器, Millennium 32 化学工作站 (美国 Waters 公司); AE-240 型 1/10⁴ 电子分析天平 (日本岛津公司); Hitachi U-2000 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); 超声波清洗器 (100 W, 无锡超声电子设备厂)。

1.2 试药: 白毛夏枯草药材购自浙江省长兴县, 经北京中医药大学中药资源研究室沈连生教授鉴定; 杯苋甾酮对照品: 从白毛夏枯草中分离得到, TLC 及 HPLC 检测均为单峰, 经 UV、IR、¹H NMR、¹³C NMR 鉴定为杯苋甾酮, HPLC 归一化测定纯度为 99.17%, 符合定量要求。乙腈为色谱纯 (美国 Fisher 公司), 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 十八烷基硅烷键合相 YWG-C₁₈ 柱 (北京分析仪器厂, 4.6 mm × 250 mm, 10 μm), 流动相: 乙腈-水 (22: 78), 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 室温, 检测波长: 245 nm, 灵敏度: 0.08 AUFS。在此条件下杯苋甾酮与样品中其他组分能达到基线分离。对照品与样品 HPLC 色谱图见图 1。

2.2 检测波长的选择: 取杯苋甾酮对照品溶液, 照



A 杯苋甾酮对照品 B 样品 * 杯苋甾酮

图 1 HPLC 图

分光光度法, 在 200~700 nm 波长内进行扫描, 记录紫外可见吸收光谱。杯苋甾酮对照品在 245 nm 波长处有最大吸收, 故确定 245 nm 为检测波长。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取杯苋甾酮对照品 14 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.4 样品提取条件的筛选

2.4.1 提取溶剂的选择: 取同一样品 4 份, 每份约 1 g, 精密称定, 分别加入甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、水 20 mL, 超声处理 40 min, 称重, 用相应溶剂补足减失质量, 过滤, 取续滤液测定含量, 见表 1。结果表明, 用甲醇提取样品, 杯苋甾酮含量最高, 故选用甲醇为提取溶剂。

表 1 提取溶剂的选择 (n=3)

提取溶剂	甲 醇	70% 甲醇	50% 甲醇	水
含量 (%)	1.25	1.03	0.72	0.61

2.4.2 提取方法的选择: 取同一样品 3 份, 每份约 1 g, 精密称定, 加甲醇 20 mL, 称重, 分别冷浸 24 h, 回流提取 1 h 和超声处理 40 min, 称重, 加甲醇补足减失质量, 过滤, 取续滤液测定含量, 见表 2。结果表明, 采用加热回流法与超声处理法提取, 杯苋甾酮含量相近。为方便操作, 选择超声提取方法。

2.4.3 提取时间的选择: 取同一样品 5 份, 每份约 1 g, 精密称定, 加甲醇 20 mL, 称重, 分别超声处理

* 收稿日期: 2001-12-25

作者简介: 刘 斌 (1967-), 男, 硕士, 副教授, 1989 年毕业于北京中医药大学, 研究方向为中药活性成分及中药质量控制方法研究。

Tel (010) 64286983 E-mail liubinyi@ 263.net

20, 30, 40, 50和 60 min,称重,加甲醇补足减失质量,过滤,取续滤液测定含量,结果见表 3 测定结果表明超声提取 40 min即可提取完全。

表 2 提取方法的选择 ($n=3$)

提取方法	冷浸过夜	加热回流	超声处理
含量 (%)	0.97	1.20	1.22

表 3 提取时间的选择 ($n=2$)

提取时间 (min)	20	30	40	50	60
含量 (%)	1.09	1.15	1.24	1.24	1.22

2.5 线性关系考察:精密吸取杯苋甾酮对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μ L注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标,杯苋甾酮量为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程为 $Y=17\ 182.356X+241.514$, $r=0.9995$ 结果表明,杯苋甾酮在 0.085 6~ 0.428 μ g内线性关系良好。

2.6 精密度试验:精密吸取上述对照品溶液 10 μ L,重复进样 6次,测定,计算得峰面积 $RSD=1.16\%$ 。

2.7 稳定性试验:分别取对照品溶液和样品溶液,于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h,依法测定。结果表明在 24 h内均保持稳定。

2.8 重现性试验:取一批样品,按样品含量测定项下方法测定 5份,杯苋甾酮含量的 $RSD=2.19\%$ 。

2.9 回收率试验:取 1号样品 5份,每份约 0.5 g,精密称定,分别精密加入上述杯苋甾酮对照品溶液 8 mL,再加甲醇 12 mL,称重,以下按样品含量测定

项下方法测定含量,计算杯苋甾酮平均回收率为 101.59%, $RSD=1.13\%$ 。

2.10 样品含量测定:取白毛夏枯草样品约 1 g,精密称定,加甲醇 20 mL,称重,超声处理 40 min,称重,加甲醇补足减失质量,过滤,取续滤液,微孔滤膜过滤后作为样品溶液。分别精密吸取样品溶液和对照品溶液各 10 μ L,进样,测定峰面积,计算含量。结果见表 4

表 4 白毛夏枯草中杯苋甾酮的含量测定 ($n=3, \%$)

样品	杯苋甾酮含量	RSD
1	0.036	1.46
2	0.053	1.81
3	0.042	2.25

3 讨论

3.1 经试用乙腈-水或甲醇-水的不同比例作为流动相,结果以乙腈-水 (22:78)分离最好。

3.2 白毛夏枯草中含有较多叶绿素,易污染色谱柱,为有效延长色谱柱寿命,提高分离效能,宜在色谱柱前加装保护柱。

3.3 本实验建立的含量测定方法精密度良好,回收率合格,且操作简便,可用于白毛夏枯草中杯苋甾酮的含量测定。

参考文献:

- [1] 刘斌,石任兵,葛小侠,等.筋骨草属植物化学成分与药理活性[J].国外医药植物药分册,2001,16(3):96-101.
- [2] Takasaki M, Tokuda H, Nishino H, *et al.* Cancer chemopreventive agents (antitumor-promoters) from *Ajuga decumbens* [J]. J Nat Prod, 1999, 62(7): 972-975.

七种中药注射液与输液配伍后的不溶性微粒考察

张靖贤*

(广西医科大学第一附院 药剂科,广西 南宁 530021)

静脉输液中微粒过多会造成局部血管堵塞,供血不足,产生静脉炎和水肿、肉牙肿、过敏反应、热源样反应等^[1]。静脉输液中不溶性微粒对人体的危害已引起国内外的高度重视。中药注射剂静脉给药起效快、作用持久、副作用小,临床上常与输液配伍静滴,而其与输液配伍后,配伍液的澄明度合格但不溶性微粒超标,潜在危害较大。本研究对几种中药注射剂与输液配伍后的配伍液进行了不溶性微粒检测,证实了输液配伍后澄明度合格而不溶性微粒超标的可能

性,并观察到不同粒径的不溶性微粒倍增程度不同。

1 材料与仪器

1.1 实验材料:葡萄糖注射液 (GS, 250 mL: 12.5 g,批号: 20020205-A51,广西浦北制药厂),氯化钠注射液 (NS, 250 mL: 2.25 g,批号: 20020126-C24,广西浦北制药厂),甘力欣注射液 (A, 10 mL,批号: 200109193,连云港正大天晴药业有限公司),复方丹参注射液 (B, 2 mL,批号: 010947,上海第一制药厂),清开灵注射液 (C, 10 mL,批号: 01051403,北京