

谱图见图 1。

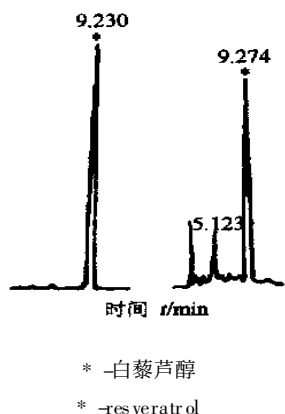


图 1 白藜芦醇对照品(A)和好利康(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of resveratrol reference substance (A) and Haolikang (B)

表 1 好利康中白藜芦醇的含量测定结果($n=5$)

Table 1 Content of resveratrol in Haolikang ($n=5$)

批号	白藜芦醇含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/%
210612	7.504 4	1.7
210620	7.486 2	1.9
210623	7.519 8	1.6

3 讨论

白藜芦醇丰富的自然资源和优良的活性越来越被人们所认识,因此控制其含量非常重要。本方法简便、快捷、准确。适用于测定药品、食品、饮料中的白藜芦醇的含量。

References:

- [1] Zhao X, Lu Y, Chen Z N. Progress on chemical study and pharmacological effects of resveratrol [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(12): 837-839.
- [2] Han J, Cai G M. Determination of resveratrol in Compound Huzhang Pill by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1996, 31(12): 754.

HPLC 法测定紫草及其制剂紫金油中左旋紫草素的含量

孟宪生, 沙 明, 曹爱民, 张东方*

(辽宁中医学院 中药系, 辽宁 沈阳 110032)

紫草为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst.、紫草 *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. 的根。该药具有凉血活血、解毒透疹之功,用于血热毒盛、斑疹紫黑、麻疹不透、疮疡、湿疹、水火烫伤^[1]。紫草类中药的主要化学成分为萘醌类色素^[2]。《中华人民共和国药典》2000 年版一部采用分光光度法测定紫草总色素的含量,由于缺乏专属性,有待于进一步改进。本实验采用 HPLC 法对紫草及其成药紫金油中左旋紫草素进行含量检测,经多种流动相系统筛选,最终确定本实验规定的色谱条件,左旋紫草素与其他萘醌类成分色谱峰得以完全分离,方法简单、快速、准确,为控制紫草的内在质量提供了可靠的方法。

1 仪器与试药

LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-6AV 可见紫外检测器,C-R3A 色谱数据处理机,SOL-6A 自动进样品。

左旋紫草素对照品由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯。紫草药材于 1998 年购于沈阳市药材市场,经辽宁中医学院中药系鉴定教研室徐

连城教授鉴定为新疆紫草的根。紫金油由大连蛇毒开发企业集团提供。

2 方法结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS 柱(6.0 mm×150 mm);流动相: 甲醇-0.025 mol/L 磷酸(85:15);柱温: 25℃;流速: 1.0 mL/min,测定 15 min 后改为 1.5 mL/min;测定波长: 515 nm;纸速: 0.3 cm/min^[2]。色谱图见图 1。

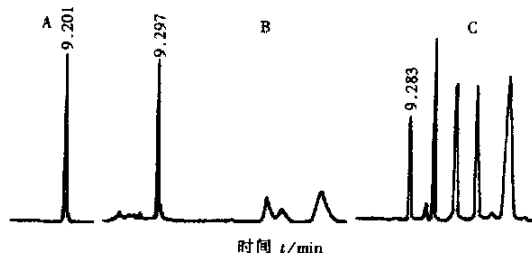


图 1 左旋紫草素对照品(A)、紫金油(B)和紫草药材(C)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of shikonin (A), Zijin Oil (B) and *A. euchroma* crude drug (C)

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制: 取左旋紫草素对照品 11.20 mg, 精密称定, 置 250 mL 量瓶中, 加甲醇适量溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.040 mg/mL 对照品溶液。

2.2.2 紫草药材供试品溶液的制备: 将紫草药材干燥并粉碎过 100 目筛, 取粉末 3 g, 精密称定。置 100 mL 具塞三角瓶中, 加乙醇 50 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 残渣加乙醇 40 mL, 超声提取 20 min, 放冷滤过, 合并滤液, 残渣经乙醇洗涤并入蒸发皿中, 水浴蒸干, 加乙醇溶解至 100 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀, 进样前经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

2.2.3 紫金油供试品溶液的制备: 精密吸取紫金油 10 mL, 置分液漏斗中, 加 1% 氢氧化钠溶液提取 3 次, 每次 20 mL, 合并碱液, 加 10% 盐酸调 pH 值至酸性, 加氯仿提取 4 次 (30, 30, 30, 20 mL), 合并氯仿液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定量转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度。

2.3 线性关系考察: 精密吸取 0.044 8 mg/mL 的左旋紫草素对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 分别置于 10 mL 的量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别精密吸取 10 μL, 注入液相色谱中, 测定色谱峰面积。以进样量为横坐标, 3 次测定峰面积的均值为纵坐标作图, 得回归方程 $Y = 1\,155\,793.5 X - 14\,590$, $r = 0.999\,9$ 。进样量在 0.08~0.4 μg 线性关系良好。

2.4 精密度考察: 精密吸取药材供试品溶液 10 μL, 连续测定 6 次, 结果左旋紫草素峰面积的 $RSD = 0.47\%$ ($n = 6$)。

2.5 稳定性考察: 精密吸取药材供试品溶液 10 μL, 在 0, 2, 4, 6, 8 h 测定, 结果左旋紫草素峰面积的 $RSD = 2.1\%$ ($n = 6$)。结果表明, 供试品在制备后 8 h 内测定稳定。

2.6 回收率的测定: 取紫草粉末 3 g 精密称定, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 精密吸取左旋紫草素对照品溶液 (0.044 8 mg/mL) 25 mL, 按 2.2.2 项下方法测定。左旋紫草平均回收率为 97.7%, $RSD = 1.9\%$ ($n = 5$)。

2.7 紫草中左旋紫草素的含量测定: 精密吸取紫草药材样品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪中, 测定其中左旋紫草色谱峰面积, 采用外标法计算其中左旋紫草素的含量。结果见表 1。

2.8 紫金油中左旋紫草素的含量测定: 精密吸取紫

金油供试品 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算结果见表 2。结果表明, 紫金油每 100 mL 含左旋紫草素在 2.0 mg 以上。

表 1 紫草药材中左旋紫草素含量测定 ($n = 6$)

批次	左旋紫草素含量/ %
1	0.042
2	0.036
3	0.033
4	0.041
5	0.039
6	0.033

表 2 紫金油中左旋紫草素的含量测定 ($n = 3$)

批次	左旋紫草素含量/ %
1	2.54
2	3.60
3	3.01

3 讨论

在分析条件优选中, 根据所测左旋紫草素在 600~200 nm 波长内有两个吸收波长可作为测定波长的特点, 从 780 nm 和 516 nm 中选定 516 nm 作为测定波长, 一方面与药典规定的波长相一致, 另一方面, 试验表明, 516 nm 波长下, 色谱基线平稳。

考虑到左旋紫草素与其他萘醌化合物之间的分离度和峰形等因素, 将流动相甲醇与 0.025 mol/L 磷酸配比调整到左旋紫草素在 10 min 左右出峰, 由于成分之间极性差距较大, 为缩短分析周期, 在 10 min 以后, 将流速改为 1.5 mL/min 为好。

由于紫金油为油制剂, 考虑到紫草中主要为萘醌类化合物, 且醌类分子中因具有酚羟基, 故有酸性, 能溶于碱性溶液, 加酸化后又可析出, 利用此性质可进行提取。采用 1% 氢氧化钠进行提取, 加碱后, 溶液变蓝, 可根据颜色深浅变化, 判定提取是否完全。加盐酸酸化后, pH 值为 2~3, 溶液变红, 用氯仿提取, 也可通过颜色判断提取是否完全, 经多次实验考察, 用 1% 氢氧化钠提取时, 不宜剧烈振摇, 因出现乳化后, 不利于提取, 而采用氯仿提取时, 应反复振摇, 有利于色素全部进入氯仿层。本方法去除油性杂质干扰, 方法简单, 具有可操作性。

References:

[1] Liu F, Wu W Z, Wang X P. Determination of shikonin in Burn Ointment by TLC scanning [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2001, 15(2): 21-22.

[2] Ma Y, Wang S C, Huang M. Determination of shikonin in *Radix Lithosperm* by HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(2): 98.