

表 3 方差分析表
Table 3 Variance analysis

参数	方差来源	自由度	离均差平方和	F值	P值
T_{50}	组内	6	10.617	170.305	$P < 0.01$
	组间	1	301.351		
	合计	7			
T_d	组内	6	2.028	8.201	$P < 0.01$
	组间	1	2771.401		
	合计	7			

$F_{0.01}(1,6) = 13.75$

T_{50} 、 T_d 分别是供试品I 的 2.54倍和 2.96倍 可见,经加压膨化工艺处理后的甘草,其中甘草酸铵的

溶出速度较未经此工艺处理的甘草快 通过薄层色谱鉴别,发现两者斑点一致 表明在清音袋泡剂中,将甘草进行加压膨化处理是可行的。

3.2 与普通的水煎法相比,采用加压膨化技术处理此类结构致密的根茎类药材具有工艺简单、省时节能等优势,在实际生产中,有较好的应用前景。

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed, Vol II .
- [2] Zhang C H, Zhou Y Z, Liu Y F. *Statistical Methods* (数理统计方法) [M]. Jinan: Shandong University Publishing House, 1995.

反相离子对色谱法测定百艾洗液中苦参碱的含量

顾洪安¹, 贾晶莹¹, 许 威², 魏祥符², 季 申³, 余 琛^{1*}

(1. 上海市徐汇区中心医院, 上海 200031; 2. 湖南守护神制药有限公司, 湖南 长沙 410329; 3. 上海市药品检验所, 上海 200233)

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 具有清热燥湿、杀虫、利尿的功效^[1]。其主要化学成分为苦参碱 (matrine)、槐定碱 (sophoridine)^[2]等。以苦参、百部、黄柏、艾叶等为主要成分的百艾洗液, 具有良好清热解毒、燥湿杀虫、祛风止痒的疗效。为了更好地对该制剂进行质量控制, 本实验建立了反相离子对色谱法测定百艾洗液中苦参碱的含量, 样品预处理采用微量提取法。

1 仪器与试药

Shimadzu LC-10AT 泵, SPD-10Avp 紫外检测器; Rheodyne 7125 六通进样阀 (Loop=20 μ L); 杭州英谱 HS 色谱工作站 V 4.0 for Windows 95

苦参碱对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 含量为 99.23%)。百艾洗液由湖南守护神制药有限公司研制。乙腈、三氟醋酸均为分析纯。水为二次重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 DiamonsilTM C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-0.1% 三氟醋酸溶液 (7.5: 92.5), 检测波长为 204 nm, 流速为 1 mL/min。苦参碱在此色谱条件下的保留时间为 11 min。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的配制: 取苦参碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 1.0 mg/mL 的溶液, 作为对照

品贮备液 A。精密吸取对照品贮备液 A 10.0 mL 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成 100 μ g/mL 的溶液, 作为对照品贮备液 B。精密吸取对照品贮备液 B 7 mL 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成 70 μ g/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密量取本品 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密量取稀释液 1 mL 置 10 mL 玻璃试管中, 加入 100 μ L 浓氨水混匀碱化, 加 5 mL 三氯甲烷, 经旋涡振荡、超声处理-离心分层 (旋涡振荡 1 min, 超声处理 1 min, 4 000 r/min 离心分层 2 min); 取下层三氯甲烷置 10 mL 玻璃试管中, 同法再提取一次, 合并二次有机相, 氮气吹干, 用 1.0 mL 流动相重组, 高速离心 (12 000 r/min) 1 min, 即得。

2.4 空白试验: 取不含苦参的模拟洗液, 按 2.3 项下方法操作, 即得。精密吸取 20 μ L 注入液相色谱仪, 测定分析, 结果显示无干扰。色谱图见图 1。

2.5 线性关系考察: 精密量取对照品贮备液 B (100 μ g/mL) 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取 20 μ L 注入色谱仪。以峰面积 (A) 为纵坐标, 加入量 (C) 为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $A = 1755.14 - 690.8C$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 苦参碱在

* 收稿日期: 2003-02-28

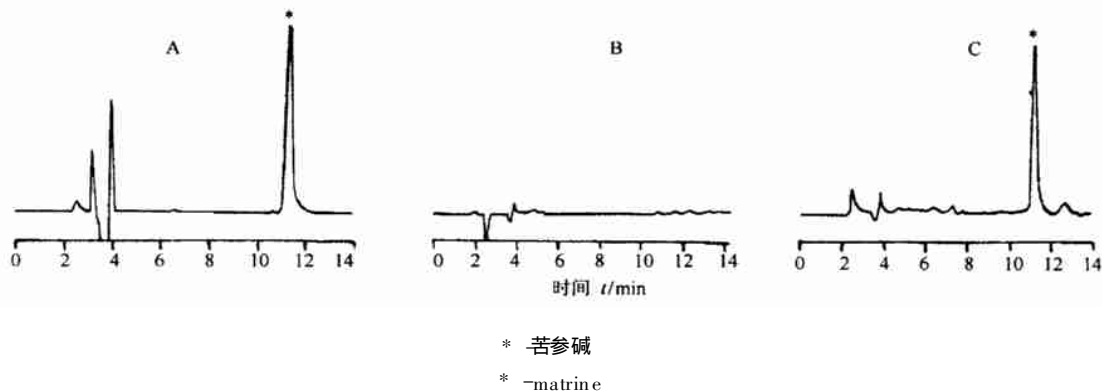


图 1 苦参碱对照品 (A)、空白 (B)和百艾洗液 (C)的 HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of matrine (A), blank (B) and Baiai Lotion (C)

40. 0~ 100. 0 μ g /mL线性关系良好。

2. 6 精密度试验: 精密量取对照品贮备液 B (100 μ g /mL) 5. 0, 7. 0, 9. 0 mL置 10 mL量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取 20 μ L注入色谱仪, 重复进样 5次。计算苦参碱峰面积 RSD分别为 0. 92% , 0. 35% , 0. 44%。

2. 7 稳定性试验: 将供试品溶液室温放置, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h精密量取 20 μ L注入色谱仪, 测定峰面积。计算得苦参碱峰面积的 RSD为 0. 85%。

2. 8 回收率试验

2. 8. 1 空白回收率试验: 取不含苦参的模拟洗液, 精密量取 1 mL置 10 mL量瓶, 分别精密加入一定量的苦参碱对照品, 加水至刻度, 混匀, 按 2. 3项下方法操作。精密吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定分析, 计算回收率。结果见表 1

2. 8. 2 加样回收率试验: 取已知含量的百艾洗液 (批号为 20000703, 含量为 1. 193 mg /mL), 精密量取 1 mL置于 10 mL量瓶, 分别精密加入一定量的苦参碱对照品, 加水至刻度, 混匀。按 2. 3项下方法操作, 加入流动相 2. 0 mL, 经漩涡振荡及高速离心。精密吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定分析, 计算回收率。结果见表 1

表 1 回收率试验结果 (n= 3)

Table 1 Results of recovery test (n= 3)

加入 量 /mg	空白回收率		加样回收率	
	平均回收率 %	RSD %	平均回收率 %	RSD %
1. 00	98. 2	0. 73	101. 6	1. 61
1. 20	101. 3	1. 21	101. 0	1. 38
1. 40	100. 7	0. 70	101. 5	1. 77

2. 9 样品的测定: 取不同批号的百艾洗液按 2. 3项下方法进行制备。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各 20 μ L, 注入色谱仪, 测定峰面积。按外标法

计算各批的样品含量, 结果见表 2

表 2 百艾洗液中苦参碱含量 (n= 3)

Table 2 Content of matrine in Baiai Lotion (n= 3)

批 号	苦参碱 /(mg $\cdot$ mL $^{-1}$)	RSD %
010412	1. 033	2. 05
010414	1. 059	0. 78
010506	1. 055	2. 43

3 讨论

3. 1 色谱条件的优化: 苦参碱属喹啉里西定类生物碱, 在中性和偏酸性的条件下易解离为阳离子。在目前广泛使用十八烷基硅烷键合相 (C₁₈) 为固定相的反相色谱系统中, 其分离效果不佳, 故在早期的文献中报道用氨基键合相^[3]或硅胶^[4]为固定相进行分离, 但其效果亦不太理想 (塔板数仅约为 1 000~ 1 200), 其原因可能是由于苦参碱的极性较大的缘故。国外文献报道^[5]可采用以 SDS作离子对的离子对色谱法分离中药中的苦参碱。鉴于 SDS在低波长处干扰较大, 故考虑试以三氟醋酸为离子对试剂, 对本品的色谱分离条件进行实验。结果显示, 以十八烷基硅烷键合相为固定相, 以乙腈 -0. 1% 三氟醋酸溶液 (7. 5: 92. 5) 为流动相, 苦参碱的保留时间为 11 min左右, 其理论塔板数大于 5 000, 拖尾因子小于 0. 7, 分离度等情况远优于常规的反相色谱法, 完全符合《中华人民共和国药典》要求。

3. 2 样品预处理: 文献^[3]报道采用氨碱性情况下, 氯仿超声提取, 柱分离, 挥干定容法, 氯仿用量大且预处理时间较长; 本实验以百艾洗液为样品, 用浓氨试液碱化后, 比较了氯仿静置过夜与超声提取法, 结果测得苦参碱含量一致, 均无内源性杂质的干扰。采用微量法样品用量少, 且所需的有机试剂量比文献^[3] (30 mL) 明显减少, 污染少, 便于操作。

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol II .
- [2] Wang M Z, Chen Y H, Xiang H Y, et al. The HPLC Analy-

sis for Common Chinese Herbal Medicine (常用中草药高效液相色谱分析) [M]. Beijing: Science Press, 1999.

- [3] Jin L X, Cui Y Y, Zhang G D, et al. Determination of alkaloid in *Radix Sophorae Flavescentis* by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1993, 28(2): 136-139.

- [4] Xu L, Sha S Y, Zeng J Y, et al. *The Analytical Methods of Effective Components in Chinese Herbal Medicine* [M]. Part B. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.

- [5] Ping S. Determination of alkaloids in *Sophora* root by HPLC [J]. *Nat Med*, 1995, 49: 317.

强力枇杷露的质量标准研究

朱长福, 同利琪, 由会玲, 丁宁*

(河北医科大学, 河北 石家庄 050091)

强力枇杷露属《中华人民共和国卫生部标准》中药成方制剂二册收载品种, 标准中仅有两项试管反应鉴别, 无法控制成药质量。该处方由百部、枇杷叶、罂粟壳、薄荷脑等 7 味中药组成。本实验对罂粟壳、薄荷脑、百部采用 TLC 法鉴别, 并对罂粟壳中吗啡采用 HPLC 法进行了含量测定。

吗啡的含量测定方法报道较多, 有气相色谱法^[1,2]、高效液相色谱法^[3~5]等。高效液相色谱法选择性强、结果准确。因此, 本实验采用高效液相色谱法测定吗啡的含量。

1 仪器与试药

美国 Waters 高效液相色谱仪, 包括 515 泵, 2478 双通道 UV 检测器, 717 自动进样系统, Mil-lennium³² 色谱工作站。UV 2100 分光光度计 (日本岛津)。KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器 (上海昆山); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 吗啡对照品 (供含量测定用, 批号 1201-200016)、薄荷脑对照品 (供含量测定用, 批号 0728-200005) 和百部对照药材, 均由中国药品生物制品检定所提供; 强力枇杷露 (自制)。

2 薄层鉴别

2.1 薄荷脑: 取本品 40 mL 置分液漏斗中, 加石油醚 (30℃~60℃) 40 mL, 振摇提取, 分取石油醚液, 自然挥干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。缺薄荷脑阴性对照供试液同法制备。另取薄荷脑对照品, 加乙醇制成 1 mg/mL 的对照品溶液。分别吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 对照品溶液 5 μ L, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30℃~60℃)-醋酸乙酯 (5:1) 为展开剂, 展开, 取出,

晾干, 喷以 4% 香草醛乙醇-浓硫酸 (100:6) 溶液, 加热至斑点显色清晰, 见图 1-A。

2.2 罂粟壳: 取本品 40 mL, 置分液漏斗中, 加水 20 mL, 加氨试液调至 pH 11~13, 用氯仿 40 mL 振摇提取, 分取氯仿液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。缺罂粟壳对照供试液同法制备。另取吗啡对照品, 加乙醇-0.1 mol/L 盐酸 (1:1) 溶解, 制成 0.02 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。分别吸取供试液、阴性对照液、对照品溶液各 10 μ L, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮-乙醇-浓氨水 (20:20:3:1) 为展开剂, 展开, 取出晾干, 喷以碘化铋钾试液。见图 1-B。

2.3 百部: 取本品 30 mL, 加正丁醇 30 mL 萃取, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。缺百部阴性对照供试液同法制备。另取百部对照药材粉 2 g, 加正丁醇 30 mL 浸泡过夜, 滤过, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 作为对照药材溶液。分别吸取上述溶液各 5 μ L, 点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮-乙醇-氨水 (20:20:3:1) 为展开剂, 展开, 取出晾干, 喷以改良碘化铋钾试液。见图 1-C。

3 吗啡的含量测定

3.1 色谱条件与系统适应性试验: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相 A: 醋酸-醋酸钠缓冲溶液 (0.1 mol/L 醋酸钠溶液用冰醋酸调 pH 4.3), 流动相 B: 甲醇, 0~25 min, A-B (15:1), 25~40 min, A-B (80:20), 40~55 min, A-B (15:40)。检测波长为 286 nm。理论板数按吗啡峰计算, 应不低于 2500。

* 收稿日期: 2003-02-12

基金项目: 石家庄市科技攻关基金 (0330611)

作者简介: 朱长福 (1955-), 男, 天津人, 高级工程师, 1981 年毕业于北京中医学院中药系, 分配到石家庄乐仁堂药厂任技术厂长, 1992 年调入卫生部机关事务服务中心, 任华卫实业总公司总经理助理, 1995 年应聘任河北医科大学中医学院药植鉴定教研室主任, 从事中药资源利用方面研究及中药新药开发研究工作。