

的影响可能与 pH 值无关。原因有待进一步研究。

3.3 本实验条件下, 检测出桂枝中的另 3 个成分, 均达到较好的分离, 经 MS 鉴定分别是 *r*-苯基丙烯酸 ($t_R = 5.21$ min)、香豆素 ($t_R = 7.50$ min)、*p*-甲氧基肉桂醛 ($t_R = 7.92$ min)。以丰度值对 3 种化合物定量, 进行统计学分析, 结果表明麻黄、杏仁、甘草及两两交互作用对三者含量的影响差异均不具有显著性。

3.4 本实验对麻黄汤进行拆方组合后, 从臣药桂枝

主要效应成分桂皮醛含量的变化层面上阐述麻黄汤配伍的意义。麻黄降低桂皮醛的含量, 相应桂枝亦降低麻黄碱、伪麻黄碱的含量^[1], 提示桂枝可能通过自身效应成分与麻黄中成分反应降低麻黄的毒副作用。

Reference:

- [1] Li J L, Chen F L, Liu C M, et al. Determination of ephedrine and pseudoephedrine in MAHUANG TANG by GC-MS and effect of compatible medicinal herbs on concentration of components in decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 307-309.

RP-HPLC 法测定鹤草芽栓中鹤草酚的含量

陈晓辉¹, 毕开顺¹, 郭金华^{2*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 辽宁省疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110005)

摘要: 目的 建立鹤草芽栓中鹤草酚的含量测定方法。方法 采用 RP-HPLC 法, 使用 Nova-Pak C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 分析柱, 甲醇-水-三乙胺 (80:20:0.2) 为流动相, 检测波长 292 nm, 流速为 0.8 mL/min, 进样量为 20 μL。结果 鹤草酚在 12.5~125 mg/L 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.2%, RSD 为 1.5% (n=9)。结论 该方法简便、快速、重现性好, 适用于鹤草芽栓中鹤草酚的定量分析。

关键词: 鹤草芽栓; 鹤草酚; 反相高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)06-0638-02

Quantitative determination of agrimophol in Hecaoya Suppository by RP-HPLC

CHEN Xiao-hui¹, BI Kai-shun¹, GUO Jin-hua²

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Liaoning Centre for Disease Control and Prevention, Shenyang 110005, China)

Key words: Hecaoya Suppository; agrimophol; RP-HPLC

鹤草芽栓是由鹤草芽提取物制成的栓剂, 具有消炎止痒、杀滴虫等作用, 为妇科外用。其有效成分为鹤草酚^[1,2]。目前采用薄层色谱法、比色法和重量法对鹤草芽所含酚类物质总量进行测定, 以控制产品质量^[3~5]。因操作烦琐、费时、专属性差等缺点, 使产品质量不能得到有效的控制。为完善和提高鹤草芽栓的质量标准, 使之达到科学化、标准化, 本实验探讨了采用 RP-HPLC 法测定鹤草芽栓中鹤草酚的含量, 并且收到了满意的效果。该方法快速、准确、简便、灵敏度高、重现性好。

1 仪器与试剂

TSP 高效液相色谱仪, Waters 515 输液泵, Waters 486 型紫外检测器, PC800 色谱数据工作站。甲醇 (色谱纯), 三乙胺 (优级纯), 氯仿 (分析纯); 鹤草酚对照品由沈阳药科大学提供, 经归一化法测

定纯度为 99.2%; 鹤草芽栓由抚顺制药厂生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Nova-Pak C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺 (80:20:0.2); 检测波长: 292 nm; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL。

2.2 系统适用性试验: 取供试品溶液, 在上述色谱条件下进样, 以鹤草酚色谱峰计算, 理论塔板数为 3500, 拖尾因子 0.96, 分离度大于 1.5, 且鹤草酚的峰与其他成分可获得基线分离。本法测得最低检测浓度 ($S/N > 3$) 按鹤草酚计为 6 μg/mL, 最低定量浓度 ($S/N > 10$) 按鹤草酚计为 15 μg/mL。

2.3 标准曲线的绘制: 称取鹤草酚对照品约 25 mg, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 用少量氯仿溶解后, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀作为对照品储备液。

* 收稿日期: 2003-08-05

作者简介: 陈晓辉, 女, 2001 年毕业于日本爱媛大学生物资源科学专业, 获理学博士学位, 主要从事天然植物药及药物分析研究。

取该储备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别用甲醇定容至 10 mL, 摇匀后用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液各 20 μL 进样。以浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 20\,917 X + 1\,253$, $r = 0.999\,6$ 。结果表明鹤草酚在 12.5~125 mg/L 峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.4 溶液的制备

2.4.1 对照品溶液的制备: 称取鹤草酚对照品 30 mg, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 用少量氯仿溶解后, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。吸取该溶液 2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液即可作为对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备: 取鹤草芽栓 10 枚, 捣碎, 取约 3 g, 精密称定, 置 40 mL 烧杯内, 水浴融化, 加硅胶 7 g, 趁热研细, 使之均匀分散, 加氯仿 100 mL 超声 20 min 溶出, 滤过, 再分别用氯仿 50 mL 反复洗两次, 合并滤液浓缩至干, 加甲醇溶解后, 置于 100 mL 量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度。吸取该溶液 2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一份样品溶液(批号: 020108) 20 μL 重复进样 6 次, 测定鹤草酚峰面积, 结果其 RSD 为 1.8%。

2.6 稳定性试验: 精密称取同一批样品(批号: 020108) 适量, 按供试品溶液的制备方法制成一定浓度的溶液, 分别于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 依法测定峰面积, 求得鹤草酚峰面积 RSD = 1.6%。结果表明本品溶液在一个工作日内基本稳定。

2.7 重现性试验: 对同一批样品(批号: 020109) 分别称取 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果样品中鹤草酚含量为 50.14 mg/粒 , RSD = 1.5%。

2.8 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取已知含量的同一批号的样品(批号为: 020401, 鹤草酚含量为 50.03 mg/粒) 约 1.5 g, 精密称定, 分别精密加入鹤草酚对照品溶液(2.36 mg/mL) 8, 10, 12 mL, 每个浓度取 3 份, 按供试品溶液制备方法操作并按上述色谱条件测定, 结果平均回收率为 98.2%, RSD = 1.5% ($n = 9$)。

2.9 样品的测定: 分别吸取对照品溶液和供试品溶液适量, 经 0.45 μm 滤膜滤过后, 分别进样 20 μL 测定, 按外标一点法计算鹤草芽栓中鹤草酚的含量, 结果见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 鹤草芽栓中鹤草酚的含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Content of agrimophol in Hecaoya Suppository ($n = 3$)

批号	鹤草酚含量/ $(\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1})$	RSD/%
020106	50.18	0.87
020107	50.03	0.97
020108	51.20	0.79

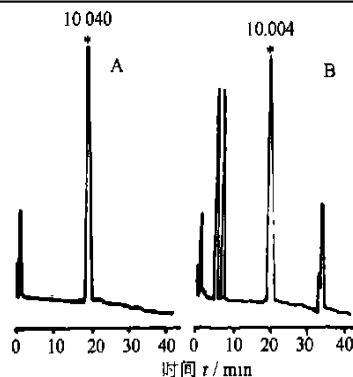


图 1 鹤草酚对照品(A)和鹤草芽栓(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of agrimophol reference substance (A) and Hecaoya Suppository (B)

3 讨论

3.1 检测波长的选择: 取鹤草酚对照品适量, 加氯仿溶解后, 加甲醇稀释成适当浓度, 于 200~400 nm 波长扫描, 结果表明本品在 292 nm 波长处有最大吸收。故以 292 nm 为本品测定波长。

3.2 提取溶剂的选择: 鹤草酚易溶于氯仿、苯, 溶于丙酮, 微溶于甲醇。为了防止氯仿对色谱柱的损害, 样品用氯仿提取后浓缩, 最终用甲醇溶解, 既可实现色谱分离时所产生的溶剂峰不干扰鹤草酚的准确定量, 又做到其溶解度满足实际样品分析的要求。

3.3 提取方法的选择: 曾对索氏提取、溶剂萃取及超声波振荡提取法进行比较, 结果鹤草芽栓在热氯仿中溶解, 而栓剂的辅料放冷后析出, 与硅胶研磨后滤出, 此法提取率高, 速度快, 操作简单, 避免了栓剂辅料对鹤草酚定量的影响。因此选择了氯仿加热提取法。

References

- [1] Pei Y H, Li X, Zhu T R. Studies on the chemical constituents from the root-sprouts of *Agrimonia pilosa* Ldb [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1989, 24(6): 431-437.
- [2] Zhao F Z, Jin B Y. Determination of agrimophol by colorimetry [J]. *Chin Pharm Anal* (药物分析杂志), 1982, 2 (6): 352-354.
- [3] Du Y M, Zhang Z T, Fu C Y. Quantitative determination of agrimophol in *Agrimonia* by HPLC [J]. *J Hebei Med Univ* (河北医科大学学报), 2001, 22(1): 22-24.
- [4] Gu X Q, Li H Q, Qi B L. TLC densitometric determination of agrimophol in the buds of *Agrimonia pilosa* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1980, 11(8): 346-348.
- [5] Sha S Y. Studies on the injection of agrimophol arginate [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1980, 15(7): 294-296.