

1 去氢木香内酯

1-dehydrocostus lactone

图 1 对照品 (A)和样品 (B) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

3.3 《中华人民共和国药典》规定木香内酯的含量不得低于 0.6%, 该实验测定的木香内酯平均含量为 1.7%, 另文献报道^[2]对 19 个产地中木香的去氢木香内酯含量测定的结果平均值为 1.65%, 木香内酯含量和去氢木香内酯含量比较, 后者的含量高于前者, 建立去氢木香内酯含量测定方法更有利于药材及产品的质量的控制。

References

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I . 2000.
 [2] Wang Y B, Xu H, Zhang Y F. Quality evaluation study of *Radix Aucklandiae* determination of two sesquiterpene lactones in *Aucklandia lappa* Decne. by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(6): 366-367.

HPLC-ELSD法测定山楂中熊果酸和齐墩果酸含量的研究

谢颖¹, 吴春红², 谢宝金^{3*}

(1. 四川省第四人民医院 药剂科, 四川 成都 610016; 2. 四川省成都卫生学校附属医院 药剂科, 四川 成都 611830; 3. 四川省成都市制药十二厂 质检科, 四川 成都 610213)

山楂为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* var. *major* N. E. Br. 或山楂 *C. pinnatifida* Bge., 野山楂 *C. cuneata* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实。前者药材称“北山楂”, 后两者称“南山楂”。文献报道, 山楂含有熊果酸和齐墩果酸等多种有机酸^[1]。熊果酸和齐墩果酸是多种药材和制剂的质量控制指标, 因其紫外吸收为末端吸收, 目前多采用薄层扫描法经硫酸乙醇显色后对其进行定量, 但熊果酸和齐墩果酸在薄层板上不易分离, 且操作繁琐, 重现性差。笔者参考有关文献^[1,2], 建立了基于蒸发光散射检测 (ELSD) 的 HPLC 法, 对山楂中熊果酸和齐墩果酸进行含量测定的研究

1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 型色谱仪, 美国 Alltech 2000 型蒸发光散射检测器。

山楂药材购自四川省中药材公司成都分公司, 经四川大学华西药学院植物化学教研室李正邦博士鉴定为北山楂。熊果酸和齐墩果酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。水为重蒸水, 甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Alltima C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (87: 13); 体流量: 1 mL/min; 柱温: 25 °C; 漂移管温度: 70 °C; 气体流量: 2.0 L/min

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取熊果酸和齐墩果酸对照品适量, 用甲醇分别配制成含熊果酸 1.0 mg/mL, 含齐墩果酸 1.0 mg/mL 的对照品溶液, 及含熊果酸 0.5 mg/mL, 齐墩果酸 0.25 mg/mL 的对照品混合溶液

2.3 供试品溶液的制备: 山楂果肉经 70 °C 干燥 1 h, 粉碎。精密称取 10 g, 加乙醚 250 mL, 置索氏提取器中提取至近无色, 将乙醚提取液抽滤后浓缩至干, 残渣用甲醇溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度。

2.4 系统适用性试验: 按前述色谱条件, 分别吸取熊果酸对照品溶液、齐墩果酸对照品溶液、熊果酸和齐墩果酸对照品混合溶液、供试品溶液 10 μL, 进样, 记录色谱图, 结果见图 1。熊果酸保留时间为 24.3 min, 理论板数为 12 916; 齐墩果酸保留时间为 23.1 min, 理论板数为 11 283。两者分离良好, 分离度大于 1.5。

* 收稿日期: 2004-02-12

作者简介: 谢颖, 女, 江苏南京人, 主管药师, 长期从事医院药房工作。

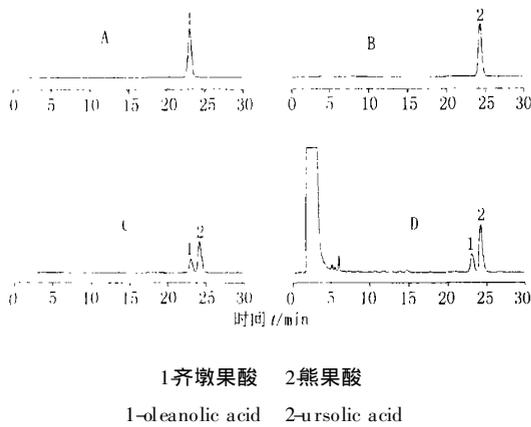


图 1 齐墩果酸 (A)、熊果酸 (B)、熊果酸和齐墩果酸混合溶液 (C)和供试品溶液 (D) HPLC-ELSD图

Fig. 1 HPLC-ELSD chromatograms of oleanolic acid (A), ursolic acid (B), mixture solution of ursolic acid and oleanolic acid (C), and sample solution (D)

2.5 线性关系考察: 取上述对照品的混合溶液分别以 2.0, 6.0, 10.0, 14.0, 16.0, 20.0 μ L 进样分析, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品质量浓度的常用对数为横坐标, 以峰面积的常用对数为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程分别为: 熊果酸: $\lg A = 1.7409 \lg C + 2.5101, r = 0.9993$; 齐墩果酸: $\lg A = 2.0012 \lg C + 1.9634, r = 0.9995$

结果表明熊果酸在 1~10 μ g, 齐墩果酸在 0.5~5 μ g, 其质量浓度的常用对数和峰面积的常用对数线性关系良好, 因标准曲线未过原点, 故含量测定采用外标两点法计算。

2.6 精密度试验: 精密吸取对照品混合溶液 10 μ L, 重复进样 5次, 分别测定峰面积值, 计算出熊果酸的 RSD为 1.2%, 齐墩果酸的 RSD为 0.8%。

2.7 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h进样, 每次进样 10 μ L, 结果表明供试品溶液在 10 h内稳定。熊果酸峰面积 RSD= 1.87% ($n=6$), 齐墩果酸峰面积 RSD= 1.92% ($n=6$)。

2.8 重现性试验: 取经 70 $^{\circ}$ C 干燥 1 h后粉碎的山楂果肉粉末, 分为 6份, 按 2.3项制备、测定, 结果熊

果酸和齐墩果酸的质量分数分别为 0.532%、0.267%, RSD分别为 1.4%、1.2%。

2.9 回收率试验: 精密称取经干燥粉碎的山楂果肉 6份, 每份 5 g, 其中 3份加入已精密称定的熊果酸 0.5 mg, 齐墩果酸 0.25 mg, 按上述方法提取, 测定, 计算回收率。结果熊果酸、齐墩果酸的平均回收率分别为 98.4%、97.2%, RSD分别为 1.2%、1.5%。

2.10 样品测定: 取山楂药材供试品溶液按上述条件测定, 结果熊果酸和齐墩果酸的含量分别为 0.532%、0.267%, RSD分别为 1.4%、1.2% ($n=6$)。

3 讨论

3.1 熊果酸和齐墩果酸结构极为相似, 两者极性差异极小, 采用 TLC很难分离; 两者紫外吸收为末端吸收, 在 HPLC上采用紫外检测器分析较难进行, ELSD为质量型通用检测器, 溶剂和流动相在检测器中全部蒸发, 不干扰检测, 灵敏度、稳定性及重现性均符合含量测定的要求。

3.2 熊果酸和齐墩果酸保留特性相似, 柱温越高分离度越差, 柱温太低, 则压力增高, 经试验确定, 在 25 $^{\circ}$ C时, 两者能良好分离, 且系统压力小于 20 MPa。

3.3 因熊果酸和齐墩果酸为非挥发性物质, 而流动相挥发性较高, ELSD采用不分流模式, 以保证较高的灵敏度和较好的重现性^[3]。

3.4 根据 ELSD的检测原理, 峰面积与样品质量呈间接线性关系, 即峰面积的对数 (常用对数或自然对数) 与样品质量的对数呈线性关系, 故标准曲线和含量测定中均采用其常用对数值计算。

References

[1] Chen F K. Content Determination of Effective Constituents in Common Traditional Chinese Medicine (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.
 [2] Yuan K, Li G L, Li J Z, et al. Determination of ursolic acid and oleanolic acid in asiatic plantain (*Plantago asiatica*) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (12): 904-905.
 [3] Deng H G, Cao Y Z. A universal mass detector for HPLC-scattering detector [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1994, 14(3): 61-62.

2002年度中医中药类期刊总被引频次前 5名排序表

排名	刊名	总被引频次	影响因子
1	中国中西医结合杂志	2003	0.472
2	中草药	1999	0.478
3	中国中药杂志	1610	0.463
4	中医杂志	869	0.301
5	中药材	654	0.192