相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法计算, 结果见表 1。

表 1 复方五仁醇胶囊中五味子乙素的质量分数测定结果 (n= 5)

Table 1 Determination of schizandrin B in Compound Wurenchun Capsule (n= 5)

批 号	五味子乙素/(mg · g^{-1})	RSD/%
021118	38	0.88
021129	32	0.67
021201	35	1.25

3 讨论

3.1 样品的平均质量分数为 35 mg/g, 考虑到生产中的损耗等问题, 为保证产品质量, 暂定本品含五味子以五味子乙素计, 应不得少于 30 mg/g。

3.2 曾用甲醇、乙醇、正己烷进行提取。除甲醇提取液外, 溶剂挥干后均出现大量黄色油状物, 影响分离效果。甲醇提取液挥干后无明显油状物, 但杂质峰较多。因此选用正己烷提取, 提取液挥干后, 残留物再用甲醇溶解, 可除去油脂, 又可避免甲醇提取时多余的杂质。

HPLC 法测定野马追药材及其制剂中金丝桃苷的含量

肖 晶[1], 王钢力[2], 林瑞超[2*]

(1. 中国疾病控制中心营养与食品安全所, 北京 100021; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

野马追为菊科泽兰属植物林泽兰 *Eupatorium lindleyanum* DC. 的全草, 属多年生草本, 药源丰富, 易于采收。野马追味苦、平, 归肝、脾经, 具有清热解毒、祛痰定喘、降血压的功效[1]。临床常用于治疗慢性气管炎、支气管炎、高血压病。其枝叶入药有发表祛湿、和中化湿之效, 用于劳伤咳嗽、吐血咳血以及淋浊白带、无名肿痛等。野马追片为野马追浸膏片, 具有化痰、止咳、平喘的功效, 用于治疗慢性支气管炎、痰多、咳喘等症状。

金丝桃苷是野马追有效活性成分之一, 在药材中质量分数相对较高。据报道电刺激猫的喉上神经引咳实验中, 100 mg/kg 金丝桃苷 ip 给药有止咳作用; 用小鼠喷雾法, ig 500 mg/kg 的镇咳效果不亚于 ig 可待因 80 mg/kg, ip 本品 100 mg/kg 和可待因 50 mg/kg 的 EDT_{50} 分别比对照组延长 56% 和 78%。此外还具有抗炎、抗菌、同化等作用, 具有明显的外周镇痛作用。有效的检测野马追药材中的金丝桃苷对于保证药物的临床疗效具有积极的意义。因此本实验对其中金丝桃苷进行测定, 结果表明方法操作简单、准确、重现性好。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪: SP—8800 输液泵, SP—200 紫外检测器, SP—4400 积分仪, AT—130 柱温箱。金丝桃苷对照品由中国药品生物制品检定所提供, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。野马追药材样品由广州安格药业有限公司提供, 采自江苏, 经中国药品生物制品检定所中药标本馆张继副主任药师鉴定, 样品标本保存在中国药品生物制品检定所标本馆。野马追片由广州安格药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil, KR100-5 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈–1% 冰醋酸(16∶84); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长: 360 nm; 柱温: 室温(25 ℃); 理论板数按金丝桃苷峰计算应不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取金丝桃苷对照品 2.64 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成 0.052 8 mg/mL 金丝桃苷的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 药材供试品溶液的制备: 取样研细, 精密称取 0.5 g, 置 150 mL 锥形瓶中, 加 70% 甲醇 50 mL, 超声处理 1 h, 滤过, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 野马追片剂供试品溶液的制备: 取样品 25 片, 研细, 精密称取 1.0 g, 置 150 mL 锥形瓶中, 加 70% 甲醇 50 mL, 超声处理 1 h, 滤过, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系的考察: 精密称取对照品适量, 加甲醇制成 0.264 mg/mL 的溶液。精密吸取上述溶液 2、4、6、8、10 mL 于 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各进样 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面

* 收稿日期: 2004-03-11

积。以峰面积值为纵坐标, 金丝桃苷量为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程为 $Y = -14\ 809.10 + 2\ 863\ 201.70X$, $r = 0.999\ 6$。金丝桃苷在0.105 6～0.528 0 μg 与峰面积具有良好线性关系。

2.5 方法学考察

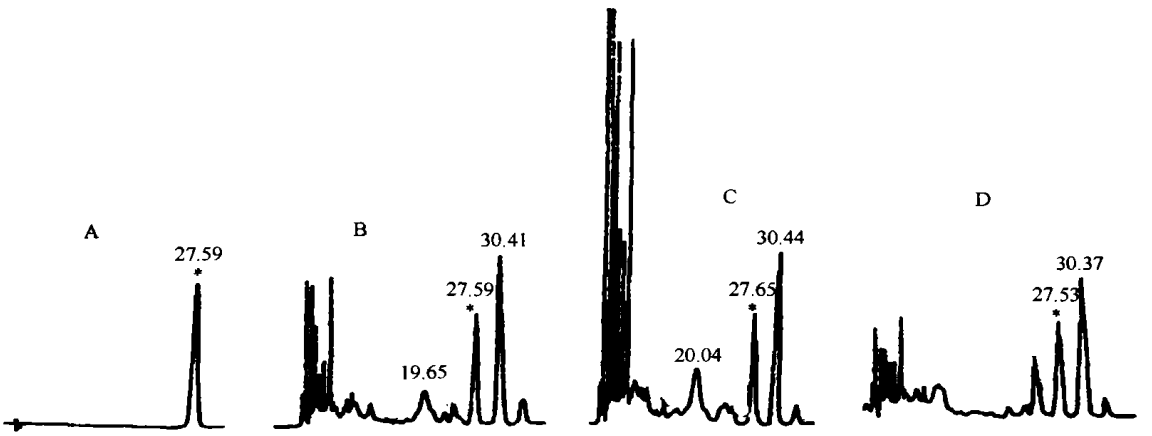
2.5.1 精密度试验: 精密吸取金丝桃苷对照品溶液(0.052 8 mg/mL) 5 μL, 重复进样 5 次, 测定金丝桃苷峰面积, 得其 RSD 为 1.74%。

2.5.2 稳定性试验: 取野马追药材供试品溶液 20 μL, 每隔 2 h 测定 1 次, 结果表明样品在 10 h 内稳定, 样品中金丝桃苷峰面积的 RSD 为 1.86% (n= 6)。

2.5.3 重现性试验: 取野马追药材样品平行取样 5 份制备供试品溶液、测定, 结果金丝桃苷峰面积的 RSD 为 1.97% (n= 5)。

2.5.4 回收率试验: 采取加样回收法。取已知质量分数(含金丝桃苷为 0.12 mg/g) 野马追药材样品 0.25 g, 精密加入金丝桃苷对照品溶液(0.052 8 mg/mL) 0.5 mL, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 95.5%, RSD 为 1.90% (n= 5)。

2.6 样品质量分数测定: 精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件, 每个样品测定 3 次, 取平均值, 按标准曲线法计算各样品中金丝桃苷的质量分数, 9 月药材样品、11 月药材样品、野马追片剂色谱图见图 1, 结果金丝桃苷的质量分数分别为 0.12 mg/g (RSD= 1.27%)、0.011 mg/g (RSD= 1.94%)、1.16 mg/g (RSD= 1.81%)。



* -金丝桃苷

* -hyperside

图 1 金丝桃苷对照品(A)、9 月份药材样品(B)、11 月份药材样品(C)和野马追片(D)的 HPLC 图

Fig.1 HPLC chromatograms of hyperside reference substance (A), crude drug collected in September (B), crude drug collected in November (C), and Yemazhui Tablet (D)

3 结论

3.1 试验中曾以甲醇-水(40∶60)、甲醇-0.1%磷酸溶液(40∶60)、甲醇-0.1% 冰醋酸溶液(40∶60)为流动相进行试验, 结果金丝桃苷的分离较差。经实验摸索, 以乙腈-1% 冰醋酸(16∶84)为流动相, 金丝桃苷与其他组份色谱峰达到较好分离。以金丝桃苷对照品溶液进行紫外(200～400 nm)扫描, 在 360、257 nm 处均有吸收, 经实验结果证明金丝桃苷在 360 nm 处样品干扰较少, 且分离效果良好, 故选择 360 nm 作为检测波长。

3.2 样品用甲醇溶解, 分别考察回流提取、索氏提取及超声提取的效果。结果表明, 样品用甲醇超声提取 1 h 效果较好, 方法简便, 金丝桃苷提取完全。金丝桃苷可溶于甲醇、乙醇等溶剂, 因此采用 30%甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、70%乙醇、甲醇超声提取 1 h 比较。结果表明, 用 70%甲醇超声提取效果最佳, 金丝桃苷提取完全, 杂质较少。

3.3 通过本实验建立了 HPLC 测定野马追药材及其制剂中金丝桃苷质量分数的方法, 该方法准确、可靠。但是由于时间的关系, 采集的药材批数有限, 所以该方法只做方法学研究, 为提高野马追及其制剂质量标准提供有效的分析手段。通过对 9、11 月采收的野马追药材样品的测定结果表明: 9 月采收的野马追药材样品中金丝桃苷的质量分数为 11 月采收的样品的 11 倍。9 月采集的药材样品中有效成分金丝桃苷质量分数明显高于 11 月, 建议该药材的采收应注意季节的变化。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.