

最高的4个产地依次为桦甸市、吉林市、齐齐哈尔市和黑龙江省依兰县,且均高于3 mg/g,这4个产地的龙胆样品属于道地药材,且均来源于主产地。

3.3 38批龙胆样品中当药苷质量分数差异很大。25批样品中检出当药苷,13批样品中未测出当药苷

或其量极低。黑龙江省依兰县所产的龙胆中当药苷质量分数最高(5.41 mg/g),其余产地的样品中当药苷均低于0.8 mg/g。

Reference:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.

HPLC 法测定九节菖蒲中 5-羟基 4-氧代戊酸

谭文界,游 菲,黄 敏

(湖北中医学院,湖北 武汉 430061)

九节菖蒲为毛茛科植物阿尔泰银莲花 *Anemone altaica* Fisch. ex C. A. Mey. 的根茎,具有开窍、豁痰、祛风、宣湿、醒脾、解毒等功效。本课题组从九节菖蒲中分离得多个化合物,其中质量分数较高、具生物活性(镇静)且在其他中药中尚未发现的成分是5-羟基4-氧代戊酸。本实验采用HPLC法对该有机酸进行了分析,分离效果、线性、重现性等良好,回收率符合要求,可作为该药材质量控制的有效手段之一。

1 仪器与试剂

Dionex 高效液相色谱仪,UV D-170u 检测器,Chromleon 色谱工作站,PHS-25 型 pH 计。九节菖蒲 *A. altaica* Fisch. ex C. A. Mey. (经本院陈科力教授鉴定),5-羟基4-氧代戊酸对照品(自制,经熔点、IR、 ^{13}C -NMR、 ^1H -NMR 谱确认其结构)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别:取九节菖蒲药材粉末(过20目筛)1 g,加水10 mL 提取30 min,滤过,滤液用醋酸乙酯萃取,醋酸乙酯液浓缩作为对照药材溶液。另取少量5-羟基4-氧代戊酸用醋酸乙酯溶解作为对照品溶液。

吸取上述两种溶液各约5 μL 分别点于同一羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(4:5:1.5)为展开剂、展开、取出、晾干,待甲酸挥尽时,喷以溴甲酚兰显色剂,对照品、对照药材在相同 R_f 值处显黄色斑点。

2.2 色谱条件:色谱柱为 Alltima C_{18} 反相色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相:5 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 缓冲液;体积流量:1 mL/min;柱温:

25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:214 nm。色谱图见图1。

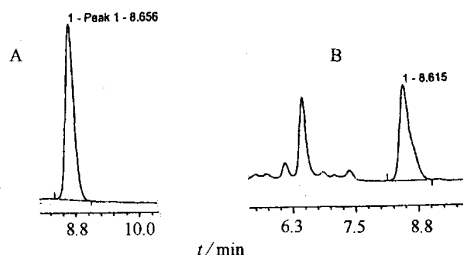


图1 对照品(A)和样品(B)的HPLC色谱图

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

2.3 对照品溶液的制备:分别精密称取5-羟基4-氧代戊酸对照品2.1、4.2、6.3、8.4、10.5 mg,分别置于10 mL 量瓶内,加流动相溶解,至刻度,得相应质量浓度的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备:精密称取九节菖蒲药材粉末(过20目筛)1.003 g,加蒸馏水10 mL 水浴温浸40 min,滤过,滤液用醋酸乙酯萃取3次(每次各10 mL)回收醋酸乙酯液,残余物用流动相溶解,移至10 mL 量瓶内并加至刻度。

2.5 标准曲线的制备:按上述色谱条件,分别对5种不同质量浓度的对照品溶液进样20 μL ,测定。以峰面积积分值(Y)对质量浓度(X)进行回归分析,得回归方程: $Y = 5.8960X + 0.0003$, $r = 0.9999$,结果表明:5-羟基4-氧代戊酸在0.21~1.05 mg/mL 与峰面积线性良好。

2.6 精密度试验:取同一供试品溶液,在选定的色谱条件下,依法测定,重复进样5次。计算5-羟基4-氧代戊酸峰面积的RSD为1.19%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在放置

0、1、2、4、6、8 h 依法操作,进样量 20 μ L,测定峰面积。结果 5-羟基 4-氧代戊酸峰面积的 RSD 为 2.67%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性较好。

2.8 重现性试验:精密称取同一批的药材的样品 5 份,制备供试品溶液,结果 5-羟基 4-氧代戊酸质量分数的 RSD 为 2.29%。

2.9 加样回收率试验:精密称取已测知 5-羟基 4-氧代戊酸质量分数的样品约 0.5 g,再分别精密加入约 0.24 mg 5-羟基 4-氧代戊酸对照品,按样品测定项下操作依法测定,计算得平均回收率为 100.46%,RSD 为 2.51% ($n=5$)。

2.10 样品测定:按上述测定方法测定不同批次的九节菖蒲药材中 5-羟基 4-氧代戊酸的质量分数。结

果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination results of samples ($n=3$)

批次	5-羟基 4-氧代戊酸/%
1	0.512
2	0.496
3	0.475

3 讨论

3.1 5-羟基 4-氧代戊酸紫外最大吸峰波长位于 210 nm 处,由于处于末端吸收,易受药材中其他成分干扰,故将检测波长移至 214 nm。

3.2 供试品溶液制备曾采用直接用水超声提取,但出峰多干扰大,分离度差,故采用水提后,醋酸乙酯萃取制备供试品溶液,以除去极性大的杂质。

HPLC 法测定沪地龙中次黄嘌呤

胡 馨,王 倩

(上海市中药研究所,上海 200127)

沪地龙是钜蚓科通俗环毛蚓 *Pheretima vulgaris* Chen、威廉环毛蚓 *P. guillelmi* Michaelsen 或栉盲环毛蚓 *P. pectinifera* Michaelsen 的干燥体。夏季捕捉,及时剖开腹部,除去内脏及泥砂,洗净,晒干或低温干燥。地龙具有清热定惊、通络、平喘、利尿的功能,用于高热神昏、惊痫抽搐、关节痹痛、肢体麻木、半身不遂、肺热喘咳、尿少水肿及高血压^[1]。地龙分为广地龙与沪地龙,过去主要使用广地龙,而近年来上海也养殖地龙,但对沪地龙的研究较少,据报道次黄嘌呤是地龙扩张支气管成分,从地龙中分离出的次黄嘌呤有抗组胺、降血压等作用^[1]。笔者曾经用紫外分光光度法测定沪地龙中次黄嘌呤^[2],本实验在此基础上采用 RP-HPLC 法测定了上海地区沪地龙中的次黄嘌呤,方法简便可靠。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪。甲醇、四氢呋喃为色谱纯,水为超纯水。次黄嘌呤对照品由 Sigma 公司提供,沪地龙为上海德华药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱用十八烷基键合相硅胶为填充剂;水-甲醇-四氢呋喃 (100:0.12:0.04) 为流

动相;检测波长为 254 nm。理论塔板数按次黄嘌呤峰计应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取次黄嘌呤对照品适量,加水制成 30 μ g/mL 的溶液,即得储备液。

2.3 供试品溶液的制备:取沪地龙粉末 (过 60 目筛) 0.2 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入 80 mL 水,超声提取 30 min,放冷,加水至刻度,摇匀,静置,上清液用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过,即得。

2.4 标准曲线的制备:分别精密吸取次黄嘌呤储备液 0.25、0.5、1、2、3、4 和 5 mL 置于 50 mL 量瓶中,加水至刻度,精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,以质量浓度 (C) 为横坐标,峰面积 (A) 为纵坐标,绘制标准曲线,得方程: $A = 35.956 C - 0.1702$, $r = 0.9999$ 。结果表明次黄嘌呤在 0.15~3.0 μ g/mL 与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:同一次黄嘌呤对照品溶液,以相同进样量重复进样 5 次,测定,结果峰面积 RSD 为 0.83% ($n=5$)。

2.6 重现性试验:取同一批号的样品 6 份,制备供试品溶液,进样,测定,计算得次黄嘌呤的质量分数,结果 RSD 为 0.16% ($n=6$)。

收稿日期:2004-07-19

作者简介:胡 馨(1963—),女,满族人,高工,上海市中药研究所分析测试中心主任,研究方向为中药及天然药物分析研究,新药质量标准研究。Tel: (021) 58810853-310 E-mail: huxin736@126.com