

μL ,按上述色谱条件测定丁基苯酞的峰面积,以外标法计算丁基苯酞结果见表 1。

表 1 川芎中丁基苯酞的量 ($n=3$)

Table 1 Content of butylphthalide in *Rhizoma chuanxiong* ($n=3$)

批号	丁基苯酞/%	批号	丁基苯酞/%
040903	0.786	041013	0.798
040913	0.801	041026	0.790
040921	0.793		

4 讨论

4.1 实验建立了川芎药材中丁基苯酞的测定方法,应用反相高效液相色谱法,以适当比例的乙腈-醋酸水为流动相,可使丁基苯酞与其他成分获得基线分离,丁基苯酞的分离度 >2 ,理论塔板数 >5000 ,并具有微量、快速、准确、重现性好等特点,可用于川芎中丁基苯酞的量测定。

4.2 本实验比较了乙醚回流提取和超声提取两种方法,发现超声提取效率大大高于回流提取。可能是丁基苯酞具有一定的挥发性,受热后损失了一部分。

4.3 样品提取方法的优选:丁基苯酞为川芎挥发油中的成分,脂溶性较强,因此选用乙醚作为提取溶

剂,对提取时间和提取次数进行了考察,本实验采用 $L_9(3^4)$ 正交表,以提取后的丁基苯酞的峰面积和称重的比值(S/W)作为考察指标,进行了 9 次试验,取药材粉末(40 目)2 g,精密称定,按表 2 操作,考察提取条件。

表 2 因素水平表

Table 2 Factors and levels

试验号	A	B
	V/mL	t/min
1	50	20
2	75	30
3	100	40

References:

- [1] Hu B H. Translate. *The Analysis Technics of Chinese Preparation* (汉方制剂分析技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [2] Shi L F, Deng Y S, Wu B S. Studies on chemical constituents and the stability of the essential oil from dry rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1995, 15(3): 26.
- [3] Xu H L, Feng Y P. Effects of 3-butylphthalide on thrombosis formation and platelet function in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2001, 36(5): 329-333.
- [4] Zhao C X, Cui S M, Liu X H, et al. Determination of the content and the related substances of 3-butylphthalide in liposomes by RP-HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2004, 24(1): 24-27.

RP-HPLC 法测定麻黄中麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻黄碱

林 凯¹, 范 琦^{1*}, 杨成钢², 邓开英²

(1. 重庆医科大学 药理学系, 重庆 400016; 2. 重庆市药品检验所, 重庆 400015)

麻黄是常用中药,性温、味辛、微苦,具发汗解表、宣肺平喘、利尿消肿的功效。麻黄碱(ephedrine, E)、伪麻黄碱(pseudoephedrine, PE)和甲基麻黄碱(methylephedrine, ME)为麻黄药材中 3 种有效成分。麻黄碱具有中枢神经和交感神经兴奋作用,其发汗平喘、利胆、升血压、收缩血管等作用都比较强;伪麻黄碱具有很强的抗炎和利尿作用,对鼻黏膜肿胀引起的鼻塞症方面疗效确定;甲基麻黄碱对气管平滑肌的扩张作用及镇咳作用与麻黄碱相当,而且具有良好的抗变态反应作用^[1]。《中国药典》2005 年版一部收录的麻黄测定项中仅控制了麻黄碱^[2]。笔者经试验研究,建立了分离效果好、重现性好的 HPLC 法同时测定麻黄药材中麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻

黄碱,方法简便快速,可用于药材质量的控制。

1 仪器、试剂与试剂

1.1 仪器:Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),二极管阵列检测器(DAD,美国 Agilent 公司),KQ3200 超声波清洗器(昆山仪器有限公司)。

1.2 试剂与试剂:盐酸麻黄碱(ephedrine hydrochloride)对照品、盐酸伪麻黄碱(pseudoephedrine hydrochloride)对照品、盐酸甲基麻黄碱(methylephedrine hydrochloride)对照品均购自中国药品生物制品检定所;麻黄药材经青海省药品检验所刘海青副主任中药师鉴定,均为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,乙腈为色

收稿日期:2005-04-08

作者简介:林 凯(1978—),男,海南省海口市人,重庆医科大学药理学系药物分析专业硕士研究生,主要从事中药分析。

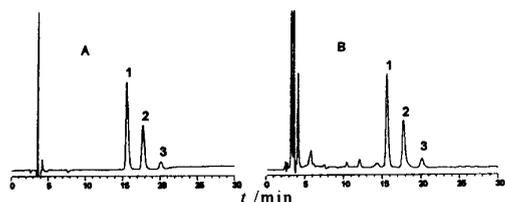
E-mail:linlion30355735@163.com

* 通讯作者 范 琦 Tel:(023)68485048 E-mail:fanqi787@hotmail.com

谱纯,水为纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Phenomenex synergi 色谱柱(250 mm×4.6 mm,4 μm),流动相为乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.2%三乙胺,磷酸调 pH 值 2.7)(2:98),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 210 nm,柱温为 30℃,进样量 20 μL。在此色谱条件下,样品 3 种生物碱的色谱峰均达到了基线分离(图 1)。



1-盐酸麻黄碱 2-盐酸伪麻黄碱 3-盐酸甲基麻黄碱
1-ephedrine hydrochloride 2-pseudoephedrine hydrochloride
3-methylephedrine hydrochloride

图 1 麻黄生物碱对照品(A)和麻黄(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC Chromatograms of three alkaloid reference substances (A) and *Herba Ephedrae* (B)

2.2 对照品溶液的制备:分别精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱对照品 10、10、15 mg,分别用 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)制成 0.1、0.1、0.03 mg/mL 的溶液,摇匀。分别精密量取 3、2、1 mL,置同一 10 mL 量瓶中,用 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取本品细粉约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)20 mL,浸泡 12 h,超声处理(功率 120 W,频率 40 kHz)1 h,放冷,滤过,滤液置 50 mL 量瓶中,残渣加 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)20 mL,超声处理 1 h,放冷,滤过,滤液置同一量瓶中,残渣 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)洗涤数次,滤过,滤液并入同一量瓶中,用 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)稀释至刻度,即得。

2.4 线性关系:取盐酸麻黄碱对照品溶液(60 μg/mL)、盐酸伪麻黄碱对照品溶液(30 μg/mL)和盐酸甲基麻黄碱对照品溶液(6 μg),分别进样 1、5、10、15、20 μL,测定峰面积,以峰面积对进样量进行回归,得回归方程(表 1)。

2.5 精密度试验:精密吸取 3 种对照品溶液各 10 μL,分别连续进样 5 次,测定盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱的峰面积,计算得 RSD 分别为 0.8%、0.9%、0.8%。

表 1 麻黄 3 种生物碱测定的标准曲线

Table 1 Calibration of three alkaloids in *Herba Ephedrae*

对照品	回归方程	r	线性范围/μg
盐酸麻黄碱	$Y=1\ 873.520 X-2.494$	0.999 9	0.006~0.120
盐酸伪麻黄碱	$Y=2\ 143.238 X-26.411$	0.999 7	0.030~0.600
盐酸甲基麻黄碱	$Y=1\ 644.916 X+0.151$	0.999 9	0.060~1.200

2.6 重现性试验:取同一批样品(样品号 1)制备 5 份供试品溶液,进样 20 μL,分别测定样品中的盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱的质量分数,结果 RSD 分别为 1.1%、1.3%和 1.5%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液分别于 0、2、4、8、12 h 进样 20 μL,测定盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱的峰面积,结果 RSD 分别为 0.9%、0.7%和 0.7%,表明供试品溶液至少在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验:精密称取样品号 1 的样品粉末 0.1 g,共 6 份,分别精密加入 0.763 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液、0.372 mg/mL 盐酸伪麻黄碱对照品溶液和 0.136 mg/mL 盐酸甲基麻黄碱对照品溶液各 1 mL,制备供试品溶液,测得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱的平均加样回收率($n=6$)分别为 97.5%(RSD 1.3%)、97.2%(RSD 1.1%)、96.8%(RSD 1.5%)。

2.9 样品测定:精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL,测定 3 种生物碱分别以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和盐酸甲基麻黄碱计算,结果见表 2。

表 2 麻黄中 3 种生物碱测定结果($n=3$)

Table 2 Contents of three alkaloids in *Herba Ephedrae* ($n=3$)

样品号	产地	E/%	PE/%	ME/%
1	山西	0.763	0.372	0.136
2	山西	0.842	0.403	0.098
3	山西	1.124	0.465	0.194
4	青海	0.722	0.301	0.095
5	青海	0.932	0.509	0.091
6	青海	0.829	0.413	0.089
7	内蒙	1.023	0.362	0.099
8	内蒙	0.754	0.256	0.085
9	内蒙	0.848	0.359	0.091

3 讨论

3.1 流动相的选择:比较流动相(1)乙腈-0.1%磷酸溶液(2:98)^[2]、(2)乙腈-含 0.1%磷酸和 0.1%三乙胺水溶液(2:98)^[3]和(3)乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.2%三乙胺,磷酸调 pH 值 2.7)(2:98),结果显示流动相(1)所得待检色谱峰拖尾,影响色谱峰的分离;流动相(2)和(3)由于扫尾剂三乙胺的加入,所得色谱峰峰形对称,分离度良好,但

流动相(2)色谱峰保留时间不稳定;流动相(3)由于加入了磷酸二氢钾,能够维持流动相 pH 值稳定,实验重现性良好,故选为本实验流动相。

3.2 检测波长的选择:样品中 3 种生物碱的色谱峰经 DAD 检测,其 UV 光谱与各自对照品的 UV 光谱一致,均在 210 nm 处接近最大吸收,因此测定波长选定为 210 nm。

3.3 提取条件的考察:在提取溶剂的考察试验中,选择了以甲醇、乙醇、丙酮、50%甲醇、20%乙醇、1 mol/L 盐酸-20%乙醇溶液(1:10)为提取溶剂,结果表明 20%乙醇和 1 mol/L 盐酸-20%乙醇溶液(1:10)为提取溶剂效果较好,但由于酸浸泡后生物碱成盐,可提高其测定的准确度,因此提取溶剂确定

为 1 mol/L 盐酸-20%乙醇溶液(1:10);在提取时间与次数的考察试验中,结果表明样品浸泡 12 h 后超声处理 2 次,每次 1 h,可将 3 种生物碱基本提取完全。故最终选择以 1 mol/L 盐酸-20%乙醇溶液(1:10)为提取溶剂,样品浸泡 12 h 后超声处理 2 次,每次 1 h 为最佳提取条件。

References:

[1] Lou Z C. *Species Systematization and Quality Evaluation of Commonly Used Chinese Traditional Drugs* (常用中药材品种整理与质量研究) [M]. Vol 1. Beijing: Peking University Medical Press, 1998.
[2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[3] Wang B Q. *Studies on Quality Standard of Chinese Herbal Medicine and Reference Substance* (中成药质量标准与标准物质研究) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.

HPLC 法测定茯苓皮中茯苓酸

段 启¹,李霞兰²,王少军²,钟 铁²,龚千锋³,杨世林²

(1. 广东康美药业股份有限公司 技术研究中心,广东 普宁 515300; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,江西 南昌 330006; 3. 江西中医学院,江西 南昌 330006)

茯苓皮为多孔菌科真菌茯苓 Poria cocos (Schw.) Wolf 的干燥菌核的皮,性平,味甘、淡,归心、肺、脾、肾经^[1],功能利水渗湿、健脾和胃、宁心安神;主要含有三萜酸类如茯苓酸和多糖等有效成分^[2]。《中国药典》2000 年版测定项尚无其化学成分测定。本研究采用 RP-HPLC 法测定安徽、湖北、云南产茯苓皮中茯苓酸,为评价茯苓皮药材质量提供一种准确可靠的分析方法。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,UV 检测器,含在线真空脱气机、四元梯度泵、柱温箱、Agilent 化学工作站、超声波清洗机、METTLER AE240 电子天平;甲醇、磷酸和乙腈为色谱纯,水为双蒸馏水;茯苓药材由本课题组采集,经本院鉴定教研室刘贤旺教授鉴定均为《中国药典》规定的多孔菌科真菌茯苓 Poria cocos (Schw.) Wolf,共 10 批,见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性:Hypersil ODS-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-0.5%磷酸水(70:30);体积流量:0.8mL/min;检测波长为 242

表 1 茯苓皮药材产地及名称

Table 1 Names and habitats of Cortex Sclerotii Poriae

Table with 4 columns: 编号 (No.), 样品产地 (Sample Origin), 采收时间 (Harvest Time). It lists 10 different origins of Poria cortex, including locations like 湖北罗田县九资河镇 and 云南武定县, with corresponding harvest dates from 2003-10-31 to 2003-11-07.

nm;柱温为 30 ℃。

2.2 对照品溶液的制备:精密称定茯苓酸对照品 1.81 mg,置于 10 mL 的容量瓶中加甲醇至刻度,摇匀即得 0.181 mg/mL 的对照液。

2.3 供试样品的制备:精密称定茯苓皮粗粉约 0.27 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加 20 mL 甲醇加塞称定。于超声仪中提取 15 min,称定,补足质量,0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液密封备用。

2.4 标准曲线的绘制:精密吸取对照品溶液 0.2、

收稿日期:2005-05-16

作者简介:段 启(1969—),男,硕士,主要从事中药及中药饮片质量标准研究。