

图 1 次野鸢尾黄素对照品(A)和射干利咽口服液(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of irisflorentin reference substance (A) and Shegan Liyan Solution (B)

试品溶液,按上述方法测定,计算次野鸢尾黄素的质量浓度,平均值为 0.044 2 mg/支,RSD 为 1.16%。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。取 0.044 2 mg/支的样品 5 mL,精密加入 0.005 28 mg/mL 对照品溶液 5 mL,按供试品溶液制备方法操作,按上述方法测定,计算回收率。结果平均回收率为 97.9%,RSD 为 1.44% ($n=6$)。

2.9 样品测定

2.9.1 薄层扫描法:参照 WS₃-372 (Z-057)-2002 (Z)标准方法。精密量取本品 15.0 mL,置分液漏斗中,滴加硫酸调 pH 3,振摇,放置 10 min,加乙醚提取 3 次,每次 20 mL,分取乙醚层于另一分液漏斗中,用 0.1%氢氧化钠液提取 3 次,每次 20 mL,分取乙醚层,50℃水浴浓缩至干,残渣加乙醇溶解,定

量转移至 2 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀。另取次野鸢尾黄素对照品,加乙醇制成 0.2 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液 5 μ L,对照品溶液 1.5 和 2.0 μ L,分别交叉点于同一硅胶 G 高效薄层板上,以苯-甲醇(10:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,进行扫描, $\lambda_s=270$ nm, $\lambda_R=340$ nm,以供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值计算即得。结果见表 1。

2.9.2 高效液相色谱测定方法:分别吸取对照品溶液及供试品溶液各 20 μ L,注入色谱仪,按上述色谱条件测得峰面积,以外标法计算次野鸢尾黄质量。结果见表 1。

表 1 射干利咽口服液中次野鸢尾黄素的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Irisflorentin in Shegan Liyan Solution ($n=3$)

批号	薄层扫描法		高效液相色谱法	
	次野鸢尾黄素/(mg·支 ⁻¹)	RSD/%	次野鸢尾黄素/(mg·支 ⁻¹)	RSD/%
030801	0.057 3	3.56	0.053 6	0.96
031201	0.051 2	4.03	0.049 8	0.75
040101	0.052 5	3.82	0.050 4	0.82

3 讨论

两种测定方法的比较,测定的结果相差不大,说明两种方法均可作为射干利咽口服液测定的方法,但高效液相色谱法较薄层扫描法操作简单,重现性好,能更好的控制产品质量。

HPLC 法测定鸦胆子油中脂肪酸

项 琪¹,周莉玲¹,姚崇舜²,李校堃²,周志丹^{*}

(1. 广州中医药大学中药学院,广东 广州 510405; 2. 暨南大学 医药生物技术研究所,广东 广州 510405)

鸦胆子,别名为老鸦胆、苦参子,《中国药典》记载为苦木科植物鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr 的成熟果实,始载于《本草纲目拾遗》。鸦胆子种仁含油 56.23%,油中不皂化物占 1.36%;皂化物 92.47%^[1]。人们一直用鸦胆子治疗阿米巴痢疾、疟疾等疾病,为较常用中药。20 世纪 80 年代初起,国内学者对鸦胆子油抗肿瘤活性及效果做了大量研究,并开发出鸦胆子油乳抗癌药,临床应用治疗消化系统肿瘤,如胃癌、食管癌、原发性肝癌、大肠癌、胰腺癌等。特别是随着介入放射学的发展对治疗原发性肝癌方面有很大用处^[2]。目前鸦胆子油中脂肪酸

的测定有滴定法^[3]、气相色谱法^[4]、薄层扫描法^[5]和高效液相色谱法^[6]。但滴定法测得的是总酸,气相色谱法采用了较高的柱温,薄层扫描法不易控制。文献报道的 HPLC 法试剂昂贵,流量高柱压大,对仪器和色谱柱不利。本实验建立的柱前衍生化 HPLC 法,采用国产试剂,流量为 1.0 mL/min,在 45 min 内可完成一次色谱分离过程,为鸦胆子油的质量控制提供思路。

1 仪器与试剂

Shimadzu LC-2010C 高效液相色谱仪;SPD-M10Avp 检测器(日本岛津公司);TGL-16G 台式

收稿日期:2005-06-24

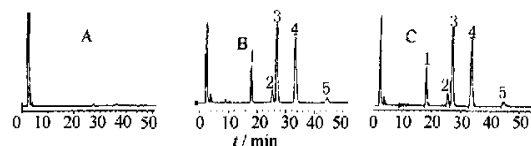
基金项目:广东省中医药局科研课题(1040073)

* 沈阳药科大学 2005 届实习生

离心机(上海安亭科学仪器厂);HH-2 数显恒温水浴锅(金坛市富华仪器有限公司)。精制鸡胆子油(浙江九旭药业有限公司)。油酸、亚油酸、十七烷酸对照品(Sigma 公司)。甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),乙腈(色谱纯),丙酮(AR),冰醋酸(AR)和三乙醇胺(分析纯)购至天津市科密欧化学试剂开发有限公司。 ω -溴代苯乙酮(ω -bromoacetophenone,国药集团化学试剂有限公司,批号:T20041103,化学纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Shim-pack VP-ODS (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),保护柱:Shim-pack GVP-ODS (10 mm $\times$ 4.6 mm) (Shimadzu);流动相:甲醇-乙腈- H_2O (65:27:8);柱温:25 $^{\circ}C$;检测波长:242 nm;体积流量:1.0 mL/min。在上述色谱条件下,各脂肪酸衍生物均达到基线分离(图 1)。理论板数按油酸计为 10 000,油酸衍生物与软脂酸衍生物峰的分度为 2.6。



1-亚油酸衍生物 2-软脂酸衍生物 3-油酸衍生物
4-十七烷酸衍生物 5-硬脂酸衍生物
1-linoleic acid derivative 2-palmitic acid derivative
3-oleic acid derivative 4-heptadecanoic acid derivative
5-stearic acid derivative

图 1 空白样品(A)、对照品衍生物(B)和鸡胆子油衍生物(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of negative sample (A), reference substance derivative (B), and *B. javanica* oil derivative (C)

2.2 衍生化反应:取脂肪油丙酮溶液适量,加氢氧化钾-甲醇溶液(0.5 mol/L 0.4 mL,漩涡振摇 1 min,于 60 $^{\circ}C$ 水浴加热 30 min,冷却至室温后加异丙醇-正庚烷-冰醋酸(40:10:1)溶液 2.5 mL,涡旋 1 min,间断超声 2 min (间隔 30 s,强度 500 W),室温下放置 10 min。再精密加入正庚烷 1 mL,双蒸水 1.5 mL,涡旋 1 min,间断超声 2 min (间隔 30 s,强度 500 W),离心(2 500 r/min) 10 min 后精密吸取上清液 1 mL, N_2 吹干。精密加入 20 mg/mL ω -溴代苯乙酮和 25 mg/mL 三乙醇胺丙酮各 50 μ L,乙腈 300 μ L,试管加塞密封,混合摇匀,于 100 $^{\circ}C$ 加热 15 min,冷却至室温后,精密加入 10 mg/mL 醋酸溶液 75 μ L,于 100 $^{\circ}C$ 加热 5 min, N_2 吹干,备用。

2.3 溶液的制备:取油酸对照品约 20 mg,精密称

定,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(此液在 -20 $^{\circ}C$ 保存,可使用 1 个月)。分别取亚油酸、软脂酸和硬脂酸对照品各约 10 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(此液在 4 $^{\circ}C$ 保存,可使用 1 个月)。

取十七烷酸 10 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为内标溶液(此液在 4 $^{\circ}C$ 保存,可使用 1 个月)。

2.4 标准曲线的制备:精密量取 4 种对照品溶液各 5、50、100、150、300 μ L 于 5 mL 具塞离心试管中,分别精密加入内标溶液 50 μ L, N_2 吹干,精密加入 ω -溴代苯乙酮(20 mg/mL)和三乙醇胺(25 mg/mL)各 50 μ L,乙腈 300 μ L,混合摇匀,于 100 $^{\circ}C$ 加热 15 min,冷却至室温后,精密加入 10 mg/mL 醋酸溶液 75 μ L,于 100 $^{\circ}C$ 继续加热 5 min, N_2 吹干,精密加甲醇 500 μ L,振摇 1 min,离心(10 000 r/min) 10 min,取上清液 10 μ L 注入高效液相色谱仪,记录色谱图。以质量浓度 C 和对应的峰面积比 Y 计算回归方程,数据由 SPSS 软件处理,见表 1。

表 1 各脂肪酸标准曲线回归方程和线性范围

Table 1 Regression equation of standard curve and linear range for various fatty acids

成 分	标准曲线	R^2	线性范围/ μ g
油酸	$Y=0.023\ 52\ C+0.319\ 3$	0.973 9	10.62~530
亚油酸	$Y=0.024\ 16\ C-0.061\ 8$	0.993 1	14.2~284
软脂酸	$Y=0.007\ 84\ C+0.035\ 8$	0.994 1	3.4~68
硬脂酸	$Y=0.018\ 51\ C+0.127\ 0$	0.986 1	10.4~130

2.5 精密度试验:精密吸取 4 种对照品溶液各 100 μ L 按照标准曲线的制备项下重复操作 5 次,记录峰面积,由回归曲线计算油酸、亚油酸、软脂酸和硬脂酸的质量浓度,计算 RSD 值分别为 2.16%、2.83%、3.29%和 3.02%。

2.6 稳定性试验:精密吸取供试品溶液各 100 μ L 按照标准曲线的制备项下方法操作,分别在制备后 0、12、24、48、72、120 h 进样测定各脂肪酸衍生物色谱峰峰面积,计算对应的脂肪酸质量浓度,RSD 值分别为 1.79%、3.03%、2.56%、3.12%,表明供试品溶液在 5 d 内稳定。

2.7 加样回收率试验:取精制鸡胆子 40 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,用丙酮溶解并稀释至刻度。用微量移液器吸取 50 μ L 置 10 mL 具塞试管中,按 1:1 分别精密加入油酸、软脂酸、亚油酸和硬脂酸对照品各 25、12.5、1.3、2 mg,混匀后操作,平行测定 5 份样品,由回归曲线计算各脂肪酸的质量浓度,并计算出加样回收率,结果油酸、亚油酸、软脂酸、硬

脂酸的平均回收率分别为100.8%、101.1%、99.32%、101.6%，RSD分别为1.76%、2.13%、2.36%、0.65% ($n=5$)。

2.8 样品的测定：供试品溶液的制备：取精制鸡胆子油80 mg，精密称定，置25 mL量瓶中，用丙酮溶解并稀释至刻度。用微量取样器精密量取50 μ L，置10 mL具塞离心试管中，按以上方法测定， N_2 吹干后精密加甲醇500 μ L，振摇1 min，离心(10 000 r/min) 10 min，上清液即为供试品溶液。精密吸取供试品溶液10 μ L注入高效液相色谱仪，记录色谱图，由回归方程计算，结果见表2。

表2 鸡胆子油中脂肪酸的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination of fatty acids
in *B. javanica* oil ($n=3$)

批号	油酸/%	亚油酸/%	软脂酸/%	硬脂酸/%
20041105	69.04	33.49	3.35	5.18
20041112	63.94	31.52	3.62	5.44
20041123	59.63	29.29	2.54	4.33

3 讨论

3.1 Mehta等^[2]详细讨论了2,4-二溴苯乙酮在18-冠-6醚催化下和 α -溴苯乙酮在三乙醇胺催化下，脂肪酸的衍生化反应及相关的色谱行为。本实验对上述方法均进行了考察，结果发现 ω -溴苯乙酮在三乙醇胺催化下的酯化反应操作简便快捷，而且在

相同色谱条件下，所得脂肪酸酯的保留时间只相当于2,4-二溴苯乙酮衍生物的一半。在本实验色谱条件下，45 min内可分析完1个样品，而2,4-二溴苯乙酮衍生物需要75 min。

3.2 对鸡胆子油的HPLC测定已有相关报道^[3]，但采用进口试剂，流动相为乙腈-水(80:20)，价格昂贵；色谱柱为 C_{18} 柱，应用范围不如 C_{18} 柱广泛；流速较高，柱压也相应较高。本实验所建立的方法结合国情，既达到分析的目的又降低了分析成本。

References:

- [1] Chen D C. *Modern Practical Herbal* (现代实用本草) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [2] Wang Q H, Li J C. The formula and clinical applications of *Brucea javanica* oil [J]. *Heilongjiang Med J* (黑龙江医学), 2002, 26 (10): 762.
- [3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [4] Sun L L, Wang S L. Quantitative determination of oleic acid in emulsion of *Brucea javanica* oil by GC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16 (2): 98.
- [5] Ni S, Zheng Y, Huang W H. Determination of oleic acid in *Brucea javanica* oil by TLCS [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2000, 15 (5): 381.
- [6] Ding Y, Tang X. Determination of fatty acids in *Fructus Bruceae* oil by precolumn derivatization HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (9): 988-991.
- [7] Mehta A, Annette M. Oeser, et al. Rapid quantitation of free fatty acids in human plasma by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 1998, 719: 9-23.

分心木的质量标准研究

付文焕, 孙黎敏, 朱 婷, 谈娜嘉, 钟明康

(复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

分心木来源于胡桃科植物胡桃 *Juglans regia* L. 果核的干燥木质隔膜, 又称胡桃衣、胡桃夹、胡桃隔等, 味苦、涩, 性平, 入脾、肾经, 固肾涩精, 临床主治遗精、淋病、血尿、带下、泻痢等。胡桃始载于《开宝本草》, 在我国主产于河北、山西、山东等地。本实验对分心木中鞣质进行了定性分析, 并建立了测定该药材中活性鞣质的方法, 建立了该药材质量标准。

1 仪器与材料

分心木药材购自上海虹桥药业饮片厂, 经笔者鉴定为胡桃科植物胡桃 *J. regia* L. 果核的干燥木质隔膜; 没食子酸对照品(中国药品生物制品检定

所); 鞣酸(AR, 国药集团化学试剂有限公司); 干酪素(AR, 上海光铎科技有限公司); 其余试剂均为分析纯。

岛津 UV2201 型紫外分光光度计; Deata320 型 pH 计。

2 方法与结果

2.1 分心木鞣质类型的分析: 分心木药材粉碎成粗粉, 称取 5.0 g, 加 70% 丙酮浸泡 30 min, 超声处理 15 min, 滤过, 取滤液作为鞣质类型分析试液, 进行定性分析, 结果见表 1。结果表明分心木中鞣质既有可水解鞣质, 也存在缩合鞣质, 为两类鞣质共存。

收稿日期: 2005-05-21

作者简介: 付文焕(1974—), 女, 山东省苍山县人, 中药学硕士, 主管药师, 主要从事中药新药开发工作。

Tel: (021) 62511127-381 Fax: (021) 32120059 E-mail: wenhuanf@sohu.com