

素、黄芩苷、盐酸小檗碱、甘草酸 4 个指标的权重系数分别为 40、25、25、10；4 个指标评分的结果规定为权重系数乘以相对提取效率（每个质量分数/组内最大质量分数）；考察指标规定为葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、甘草酸 4 个指标评分之和。

采用沈阳药科大学曾昭均教授的均匀设计统计软件处理实验结果^[4]。将实验结果输入计算机，进行逐步回归得回归方程，并进行检验，对综合指标进行分析，优化结果得 $Y_{\max}=136.2861$ ，第一次提取 pH 值为 10、第二次提取 pH 值为 10、第三次提取 pH 值为 1，每次 30 min，提取 3 次，每次 12 倍量水。 $Y=-151.1326+70.2969X_1+0.7996X_2^2+3.8800X_4^2+15.7693X_1X_4-4.4034X_2X_3-14.6677X_2X_4+4.6966X_2X_5-0.3674X_3X_4$
 $Q=0.1463$ ， $S=0.3825$ ， $R^2=1.000$ ， $F=2811.4147$ 。

对均匀设计回归分析后，获得的最佳条件是：提取 3 次，第一次提取用 pH 10 的水溶液；第二次提取用 pH 10 的水溶液；第三次提取 pH 1 的水溶液，每次提取 30 min，12 倍量的水。

2.3 验证试验：按照该组条件进行验证试验，结果葛根素、黄芩苷、小檗碱、甘草酸的质量分数分别为

0.220%、5.26%、4.97%、8.95%，评分为 98.53%（ $n=3$ ）。

3 讨论

葛根芩连汤药味简单，配伍得当，疗效确切。根据每味药材的成分组成，选取有《中国药典》所定指标成分葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、甘草酸作为指标，以确定半仿生提取的最佳提取条件。在进行指标的权重系数分配时主要参考了复方的配伍规律，根据 4 味药的君臣佐使关系进行确定。

通过对回归方程分析结果提示，影响提取效果的各个因素之间存在复杂的交互作用，均匀设计法比较适合用来研究影响因素多、相互作用较复杂的仿生提取法。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Zhang Z W, Sun X M. Establish SBE technology platform of TCM [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术: 中医药现代化), 2005, 7 (1): 56-59.
- [3] Zhang Z W, Xiu Y F, Sun X M. Evenly-designed and optimized technological paramters for Senfu Decoction by Semi-binic extraction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25 (6): 345-347.
- [4] Zeng Z J. *Application of Uniform Design* (均匀设计及其应用) [M]. Shenyang: Liaoning People's Publishing House, 1994.

马黄酊中马钱子碱和土的宁的 HPLC 测定

傅 军¹，梁基智²，梁从庆¹

(1. 广东药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州市中医医院, 广东 广州 510130)

马黄酊是由马钱子、黄连等中药材经提取精制而成的制剂，有活血化瘀、抗菌抗炎之功效，用于血栓闭塞性脉管炎，经 20 多年临床使用证明疗效确切。马钱子主要成分为生物碱，马钱子碱和土的宁各占其总量约 40%，两者均为典型的具有竞争性的氨基酸突触后膜抑制作用的拮抗剂^[1]，有剧毒，必须严格控制其用量。本制剂的质量标准对马钱子碱和土的宁均无量的控制，为了保证临床用药安全、保证药品质量，本实验建立了同时测定该制剂中马钱子碱和土的宁的反相高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC—10ATvp 高效液相色谱仪和

SPD—10Atvp 紫外器，HW—2000 色谱工作站。

马钱子碱、土的宁对照品（中国药品生物制品检定所）；马黄酊由广州市中医医院药剂科提供；乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及检测方法：色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液（用 10% 磷酸调节 pH 2.8）（20：80）；体流量为 1.0 mL/min；检测波长为 260 nm；柱温 30℃。此色谱条件下，供试品溶液色谱中马钱子碱与土的宁均得到较好分离，其色谱峰保留时间与相

收稿日期：2005-08-12

作者简介：傅 军（1949—），女，四川人，副主任药师，从事药品检验、药物分析、药品质量标准的教学和研究工作。

Tel: (020) 34076426 E-mail: zchfj@tom.com

应对照品一致(图 1)。理论板数以士的宁峰计算应不低于 5 000。

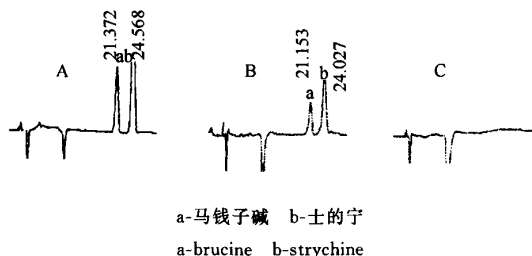


图 1 混合对照品(A)、马黄酊(B)及缺马钱子的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substance (A), Mahuang Tincture (B), and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取马钱子碱对照品 9.01 mg、士的宁对照品 11.01 mg,置 20 mL 量瓶中,加三氯甲烷使溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得含马钱子碱 45.05 $\mu\text{g/mL}$ 、士的宁 55.05 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:精密量取本品 10 mL,置水浴上挥干,加氨水 0.5 mL,再加三氯甲烷 5 mL,滤过,滤液置 10 mL 量瓶中,加三氯甲烷稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备:按处方比例取处方中除马钱子以外的其余药材,按工艺制备缺马钱子的阴性样品,照 2.3 项下的方法制备阴性对照溶液。

2.5 线性关系考察:精密吸取马钱子碱和士的宁对照品溶液 2、6、10、12、16、20 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。得马钱子碱回归方程为: $A = 2.5414 \times 10^3 + 5.5409 \times 10^5 C$, $r = 0.9997$; 士的宁回归方程为: $A = 1.1019 \times 10^4 + 1.0313 \times 10^6 C$, $r = 0.9999$ 。上述结果表明,马钱子碱在 0.0901~0.901 μg 、士的宁在 0.1101~1.1010 μg 与峰面积线性关系良好。

2.6 空白干扰试验:取阴性对照溶液,依法测定,阴性对照溶液在与马钱子碱、士的宁色谱峰相同保留时间位置上,未见干扰峰出来。

2.7 精密度试验:取对照品溶液,连续重复进样 6 次,结果马钱子碱峰面积的 RSD 为 0.97%,士的宁峰面积的 RSD 为 0.95%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液于 0、2、4、6、8 h 分别进样 10 μL ,记录峰面积,计算,结果马钱子碱峰面

积 RSD 为 1.80%,士的宁峰面积 RSD 为 1.43%。

2.9 重复性试验:取本品(批号 050103)6 份,制备供试品溶液,依法测定,记录峰面积,计算。结果马钱子碱平均质量浓度为 0.05354 mg/mL ,RSD 为 1.48%;士的宁平均质量浓度为 0.06315 mg/mL ,RSD 为 1.56%。

2.10 回收率试验:精密量取含马钱子碱 0.02668 mg/mL 、士的宁 0.03152 mg/mL 样品 5 mL,共 9 份,分别加对照品溶液(马钱子碱 45.05 $\mu\text{g/mL}$ 、士的宁 55.05 $\mu\text{g/mL}$)4、5、6 mL 各 3 份,制备供试品溶液,依法测定,计算回收率。结果马钱子碱的平均回收率为 99.0%,RSD 为 1.22% ($n=9$),士的宁的平均回收率为 99.5%,RSD 为 1.44% ($n=9$)。

2.11 样品测定:取本品,制备供试品溶液,依法测定,记录峰面积,按外标法计算样品中马钱子碱和士的宁的量,结果见表 1。

表 1 马黄酊中马钱子碱和士的宁的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Brucine and strychnine in Mahuang Tincture ($n=3$)

批号	马钱子碱		士的宁	
	质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/ %	质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/ %
040105	0.05169	2.59	0.06152	2.36
040705	0.05556	1.98	0.06522	1.54
050103	0.05336	1.87	0.06304	1.59

3 讨论

3.1 提取方法:根据游离生物碱易溶于三氯甲烷的性质,采用碱性条件下使生物碱游离,再用三氯甲烷提取。根据回收率试验,马钱子碱回收率为 99.0%,士的宁回收率为 99.5%,基本提取完全。

3.2 流动相的选择:采用 C_{18} 作为色谱柱分析生物碱,因硅胶上残留的 Si-OH 基而使色谱峰产生拖尾现象;测定的两种生物碱结构相似(马钱子碱即二甲氧基士的宁),同时分析时两种成分的色谱峰很难分离。采用甲醇-乙腈-冰醋酸系统作为流动相^[2],发现出峰太早,两种生物碱峰分不开。根据马钱子药材的分析方法^[3,4],采用庚烷磺酸钠作为离子对试剂,与马钱子碱和士的宁形成离子对,增加其在色谱柱中的保留,使两种生物碱在 ODS 柱上的分离成为可能;在流动相中加入磷酸二氢钾并调节适宜的 pH 值,可提高柱效,减少色谱峰拖尾。

3.3 测定波长的选择:取马钱子碱对照品溶液、士的宁对照品溶液、两种生物碱对照品的混合溶液及供试品溶液,用分光光度计在 200~500 nm 波长扫描,绘制吸收光谱图。结果马钱子碱的 λ_{max} 为 264

nm, 土的宁的 $\lambda_{\max}$ 为 254 nm, 两种生物碱对照品混合溶液的 $\lambda_{\max}$ 为 256 nm, 供试品溶液的 $\lambda_{\max}$ 为 265 nm, 故选择 260 nm 为测定波长。

References:

[1] Lu Y X, Cui J, Liu Y, *et al.* Determination of strychnine and brucine in Qubidan Capsule by RP-HPLC [J]. *Chin Hosp*

Pharm J (中国医院药学杂志), 2001, 21 (8): 474-475.

[2] He L. The method for the quantitative determination of *Semen Strychni* and their preparation [J]. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2004, 8 (4): 299-300.

[3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

[4] Jin H Y, Tian J G, Zhang L, *et al.* Determination of strychnine and brucine in *Semen Strychni* by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2005, 19 (4): 219-221.

HPLC 法测定桑姜感冒片中连翘苷

王慧琛¹, 吴贵华², 吕曙华²

(1. 天津市津南区药品检验所, 天津 300350; 2. 天津市药品检验所, 天津 300070)

桑姜感冒片为常用感冒药, 收载在《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 6 册中, 由桑叶、菊花、紫苏、连翘、苦杏仁、干姜 6 味药材组成, 具有散风清热、祛寒止咳等功效, 用于治疗感冒、咳嗽、头痛、咽喉肿痛症状。连翘具有清热解毒、消肿散结的功能, 与处方功效相佐, 故实验中以连翘苷为定量指标进行 HPLC 法测定。该方法专属性强、灵敏度高、重现性好, 可作为本品质量控制指标。

1 仪器与试药

岛津 LC10AD 高效液相色谱仪, SPD10AV 紫外检测器, SIL10A 自动进样器, CR54 数据处理机。

连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0821-200104), 桑姜感冒片由山西景和华禹制药有限公司提供; GDX-104 大孔吸附树脂(60~80 目, 批号 030221, 天津市化学试剂二厂)。中性氧化铝(100~200 目, 中国医药集团上海化学试剂公司)。乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-乙腈-水(12:18:70); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 277 nm; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备: 取连翘苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 15 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 10 片, 精密称定, 研细, 取 0.7 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 50 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 加水至约 15 mL, 通过已处理好

的大孔吸附树脂柱(1.3 g, 内径 8 mm), 用 45% 甲醇 40 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 70% 甲醇 40 mL 洗脱, 收集洗脱液, 洗脱液通过中性氧化铝柱(0.5 g, 内径 8 mm), 用 70% 甲醇 20 mL 洗脱, 合并样品液及洗脱液, 减压浓缩至干, 残渣加甲醇使溶解, 移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性样品液的制备: 按处方配比, 取除连翘的其他药材, 按本品制法项下的工艺制成颗粒, 再按供试品溶液的制备制得阴性样品液。

2.5 专属性试验: 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪中, 测定。阴性对照样品在连翘苷相应的保留时间无色谱峰干扰。见图 1。

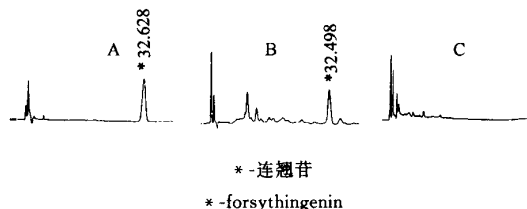


图 1 连翘苷对照品(A)、桑姜感冒片(B)和缺连翘的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of forsythigenin reference substance (A), Sangjiang Ganmao Tablets (B), and negative sample (C)

2.6 标准曲线的制备: 精密称取连翘苷对照品 10.44 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 3 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 5、10、20、25、30、33 μ L 注入液相色谱仪, 测定色谱峰面积。以连翘苷进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线,