

软件经二项式回归统计处理,得出回归方程 $Y = 1.82 X_1^2 + 2.731 X_4^2 - 5.124 X_1 X_3 + 5.534 X_1 X_4 - 8.529 X_2 X_4 + 0.722 X_3 X_4 + 53.549 X_2 + 20.802 X_3 - 325.987$, $r = 0.9997$ 。优化条件为: $X_1 = 2.01$, $X_2 = 7.49$, $X_3 = 8.96$, $X_4 = 3.53$; 即第 1、2、3 煎水的 pH 值分别为 2.01、7.49、8.96, 3 次煎煮总时间为 3.53 h。预测值 Y 为 48.95。

2.9 优化条件的验证:按照优化所得工艺条件,制备 3 批样品,分别测定各指标成分。淫羊藿苷为 9.824%, RSD 为 1.21%; 小檗碱为 2.154%, RSD 为 1.57%; 总生物碱为 3.463%, RSD 为 0.83%; 干浸膏为 13.79%, RSD 为 0.65%; $Y = 46.28$, 接近预测值。

结合实际生产,进一步确定其工艺条件为:第 1 煎用水以 HCl 调至 pH 2.0,第 2、3 煎用水以 NaOH 分别调至 pH 7.5、9.0,煎煮时间依次为 1.51、1.01、1.01 h。优选所得的条件为 NFPL 再进一步的半仿生提取研究提供了基础。

3 讨论

HPLC 测定小檗碱在本实验中曾选用 3 种流动相,分别是甲醇-乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (20 : 30 : 55, 检测波长 346 nm)^[7]、乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾 (68 : 32, 检测波长 265 nm)^[8] 和乙腈-0.1% 磷酸 (40 : 60, 检测波长 346 nm)。这 3 种流动相都能使对照品溶液出峰,但第 1 种流动相无法把样品中目的成分峰与其他杂质峰分开,第 2 种流动相则无小檗碱成分峰出现,只有第 3 种流动相能较好的把样品中的成分峰与杂质峰分开,而且分离完全,前后无干扰,出峰时间与对照品一致。比较了乙腈-0.1% 磷酸 3 个不同配比的影响,结果乙腈-

0.1% 磷酸 (30 : 70) 时样品不出峰,乙腈-0.1% 磷酸 (36 : 64) 可以把成分峰分离完全,但出峰时间较长 (14 min),乙腈-0.1% 磷酸 (40 : 60) 时出峰时间提前 (10 min),同时并不影响成分峰的分离效果。小檗碱在盐酸和热水中溶解度较大,曾直接用甲醇超声提取药液中的小檗碱,在相同的色谱条件下 HPLC 图谱中无成分峰出现。改用盐酸-甲醇 (1 : 100) 25 °C 超声处理 30 min,即出现了小檗碱的成分峰。

References:

- [1] Hu Y L, Xu K W, Xu F Y, et al. Therapeutic evaluation of new fertility-promoting intrauterine infusion liquid for endometritis and inactive ovaries and persistent corpus luteum in dairy cattle [J]. *Anim Husb Vet Med* (畜牧与兽医), 1999, 31(3):6-8.
- [2] Hu Y L, Zhang B K, Liu J G, et al. Therapeutic and fertility-promoting effect of new fertility-promoting intrauterine infusion liquid for endometritis in sows [J]. *J Tradit Chin Vet Med* (中兽医学杂志), 1999, 2(95):3-5.
- [3] Zhang B K, Hu Y L, Liu J G, et al. A study on quality control method of NFPL [J]. *Chin J Vet Drug* (中国兽药杂志), 2000, 34(1):17-19.
- [4] Zhang Z W, Sun X M. SBE—a new approach to the study on extraction of active components of Chinese herbal compound [J]. *World Sci Tech: Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术: 中药现代化), 2000, 2(4):53-56.
- [5] Zhang X L, Zhang Z W, Liu C Q, et al. Technical condition of semi-biotic extraction in optimizing formula of Jiaotai Pill through homogenous design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(8):575-578.
- [6] Zhang X L, Zhang Z W, Xu X, et al. Comparison of SBE and WE in extraction of chemical constituents from processed *Cortex phellodendri* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(10):600-602.
- [7] Li B M, He L Y. Determination of berberine hydrochloride in Zhimei Miedi Capsules by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(6):128-129.
- [8] Wei N, Tan J. Determination of hydrochloric berberine in Zhichuangling Tincture by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(9):A9-A10.

毛细管气相色谱法测定莪术油微纳囊中莪术醇

袁慧慧¹, 何正有², 戚冯展², 沈平嫖⁴, 刘志远⁴, 蓝闽波^{1,2,3}

(1. 华东理工大学材料科学与工程学院 超细材料制备与应用教育部重点实验室, 上海 200237; 2. 华东理工大学分析与测试中心, 上海 200237; 3. 华东理工大学 结构可控先进功能材料及其制备教育部重点实验室, 上海 200237; 4. 国家中药制药工程技术研究中心, 上海 201203)

莪术油是姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Valetton、温郁金 *C. wenyujin* Y. H.

收稿日期: 2006-09-16

基金项目: 国家科技攻关项目 (2003BA310A14); 上海市纳米专项 (0352nm121)

作者简介: 袁慧慧 (1973—), 女, 上海市人, 讲师, 华东理工大学材料学院在职博士, 从事药物新剂型、中草药分离及活性成分的研究。
Tel: (021) 64252055 E-mail: yuanhuihui@ecust.edu.cn

Chen et C. Ling 或广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 的根茎中提取的挥发油, 含有 β -榄香烯(β -elemene)、莪术醇(curcumol)和莪术二酮(curdione)等消炎、抗菌、抗肿瘤的活性成分。复方莪术油微囊、复方莪术油软胶囊和莪术油微球中莪术醇的测定已有相关报道^[1~4]。本实验以联苯为内标, 采用毛细管气相色谱法测定莪术油微纳囊中莪术醇, 从而更有效地控制该产品的质量。

1 仪器、原料与试剂

GC112A 型气相色谱仪、FJ-2000 色谱工作站(上海精密科学仪器有限公司), MAP200 型电子天平(上海天平仪器制造厂)。

莪术醇对照品(中国药品生物制品检定所); 莪术油微纳囊(华东理工大学); 聚乳酸(化学纯, 山东医疗器械研究所); 联苯、无水乙醇、二氯甲烷等其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: SE30 石英毛细管柱(26 m \times 0.53 mm \times 1.0 μ m); 柱温: 程序升温, 初始温度 135 $^{\circ}$ C (6 min), 15 $^{\circ}$ C/min, 200 $^{\circ}$ C (6 min); 检测器: FID; 进样器温度: 260 $^{\circ}$ C; 检测器温度: 260 $^{\circ}$ C; 纯氮气为载气; 体积流量为 25 mL/min, 分流比 2.5; 氢气体积流量为 25 mL/min; 空气体积流量为 230 mL/min。

2.2 溶液的配制

2.2.1 内标液的配制: 精密称取联苯对照品 5.0 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯适量, 超声处理 5 min 使之溶解, 摇匀, 用醋酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 即得。

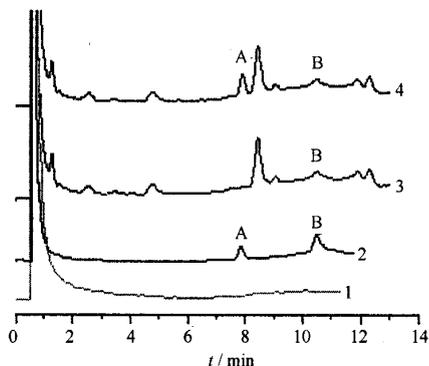
2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取莪术醇对照品 8.5 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯适量, 超声处理 5 min 使之溶解, 摇匀, 用醋酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密吸取莪术醇对照品贮备液 0.50 mL 置 2 mL 量瓶中, 再精密加入 0.50 mL 内标液, 加入适量醋酸乙酯, 超声处理 5 min, 混匀, 用醋酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备: 取莪术油微纳囊胶囊 10 粒, 取其内容物, 混匀。精密称取 0.1107 g 置于 50 mL 烧瓶中, 加入适量二氯甲烷, 超声处理 5 min, 使之完全溶解, 30 $^{\circ}$ C 减压回收二氯甲烷, 加入 2.5 mL 无水乙醇萃取 1 次, 同法再处理一次, 萃取液移入 10 mL 量瓶中, 加入 1 mL 联苯内标液, 超声处理 5 min, 混匀, 加醋酸乙酯至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 空白对照溶液的制备: 按处方方法制得缺莪

术油的空白微纳囊。按照供试品溶液的制备方法制备不加内标液的空白对照溶液。

2.3 方法专属性考察: 分别取缺莪术油的空白对照溶液、莪术油微纳囊供试品溶液、莪术醇对照品溶液 0.1 μ L 注入气相色谱仪, 结果见图 1, 可见在莪术醇和联苯内标物出峰位置阴性空白无干扰, 表明空白微纳囊对莪术醇的测定没有干扰。



1-莪术油空白对照 2-莪术醇与联苯对照品 3-莪术油
4-莪术油微纳囊 A-联苯 B-莪术醇
1-blank control of *Oleum Curcumae* 2-reference substance
of curcumol and biphenyl 3-*Oleum Curcumae* 4-*Oleum*
Curcumae Micro/nano Capsules A-biphenyl B-curcumol

图 1 毛细管气相色谱图

Fig. 1 Capillary GC chromatograms

2.4 线性关系考察: 精密移取莪术醇贮备液 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 各精密加入 0.5 mL 联苯对照品溶液, 加醋酸乙酯至刻度, 摇匀。精密吸取各溶液 0.01 μ L, 注入气相色谱仪, 记录莪术醇与内标的峰面积。以莪术醇与联苯的峰面积比值为纵坐标, 莪术醇的质量为横坐标, 计算得到回归方程 $Y = 2.7622X - 0.3889$, $r = 0.9991$ 。

2.5 精密度的试验: 取供试品溶液, 重复进样 5 次, 记录莪术醇与内标的峰面积, 以二者峰面积的比值计算 RSD 值为 1.06%。

2.6 重现性试验: 取同一批(批号 20041021) 莪术油微纳囊样品, 平行制备 5 份供试品溶液, 分别进样测定, 记录莪术醇与内标的峰面积, 计算样品中莪术醇的质量分数, 得到平均质量分数为 0.752 mg/g, RSD 为 2.4%。

2.7 稳定性试验: 取批号 20041021 的莪术油微纳囊供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 注入气相色谱仪, 记录莪术醇与内标的峰面积, 以二者峰面积的比值计算 RSD 值为 1.77%。结果说明供试品溶液在 24 h 内相对比较稳定。

2.8 回收率试验:取含莪术醇 0.752 mg/g 的莪术油微纳囊样品(批号 20041021) 0.1 g,平行 6 份,分别加入莪术醇对照品贮备液 0.8、1.0、1.2 mL,依法制备供试品溶液,分别测定莪术醇的质量分数,计算回收率,结果平均回收率为 99.52%,RSD 为 1.51%($n=6$)。

2.9 样品的测定:取莪术油微纳囊样品 5 批,分别制备供试品溶液,注入气相色谱仪,测定各样品中莪术醇和内标物的色谱峰峰面积,内标法计算样品中莪术醇的质量分数,结果见表 1。

表 1 莪术油微纳囊中莪术醇的测定结果($n=4$)

Table 1 Determination of curcumol in *Oleum Curcumae* Micro/nano Capsules ($n=4$)

批号	莪术醇/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
050101	0.750	0.81
050102	0.761	1.23
050103	0.721	1.07
050104	0.752	0.91
050105	0.749	1.10

3 讨论

莪术油微纳囊是通过选用可生物降解的聚乳酸包覆莪术油而制得的粒径分布在 100~200 nm 的纳米微胶囊,微纳囊化改变莪术油的水溶性,提高了其稳定性与溶解速率。因此,其测定与单纯莪术油不

同,需要经过二氯甲烷溶解聚乳酸,除去二氯甲烷,再用无水乙醇萃取莪术油,醋酸乙酯定容。如果微纳囊直接用醋酸乙酯萃取定容,则由于聚乳酸微溶于醋酸乙酯,造成微纳囊破壁不彻底,莪术油萃取不完全,引起损失,造成误差。另外,由于聚乳酸是高分子物质,在用气相色谱分析时,被滞留在柱内堵塞毛细管柱,降低柱效。

文献报道^[1]以氧杂蒽为内标测定莪术醇,但是在本实验中以氧杂蒽为内标未达到基线分离。以联苯为内标,通过对样品的适当处理,在程序升温条件下,莪术油微纳囊溶液中莪术醇的出峰时间为 10.45 min,内标物联苯出峰时间为 7.8 min,二者都达到基线分离,对称性也很好。

References:

- [1] Wang J Z, Jiang Y F, Lu J F, et al. Gas chromatographic determination of curcumol on the microcapsules of combination *Curcuma* oil[J]. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药理学杂志), 2001,10(2):107-109.
- [2] Gong K M, Ren J, Tang S H, et al. Determination of curcumol in Compound Ezhu Oil Soft Capsules by CGC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005,36(9):1330-1332.
- [3] Wu Y C, Liu T Y, Jiang L G, et al. Determination of curcumol and germacrone in *Curcuma* oil by RP-HPLC [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2004,21(4):64-65.
- [4] You J, Yu Y W, Li Q P, et al. Determination of *Curcuma* oil microcapsules [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005,27(1):25-28.

HPLC 法测定灌胃虎杖提取物大鼠粪便及尿液中大黄素和大黄素甲醚

蒋 晔, 郝晓花, 刘红菊

(河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017)

蒽醌类化合物具有消炎、抗菌、致泻、利尿以及抗肿瘤、抗病毒等作用,是大黄、虎杖、何首乌、决明子等中药的主要活性成分。蒽醌类化合物有游离型和结合型两种存在形式。结合型蒽醌不吸收,在肠道内被细菌代谢后产生泻下作用^[1],因此结合型蒽醌在肠道内的吸收、代谢与其药动学有关。已有的药动学研究均为测定血清或血浆中的蒽醌类成分^[2,3],由于代谢物中成分复杂,干扰较多,因此本实验建立了测定大鼠灌胃虎杖提取物后的粪便和尿液中的游离型和结合型大黄素总量的非水反相液相色谱法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:SP-8810 高压泵、SP-8450 紫外检测器(美国光谱物理公司),千谱色谱工作站(南京千谱软件有限公司)。

甲醇为色谱纯,冰醋酸、氯仿、盐酸、硫酸等均为分析纯;大黄素(批号 0756-200110)、大黄素甲醚对照品(批号 758-200006)均由中国药品生物制品检定所提供;虎杖提取物为自制,HPLC 测得大黄素的质量分数为 51.25 mg/g、大黄素甲醚的质量分数为 40.57 mg/g,其中结合大黄素与游离大黄素的比值基本一致(1:1.08);SD 大鼠由河北医科大学实验动物中心提供。

收稿日期:2006-04-18

作者简介:蒋 晔(1961—),上海人,教授,博士生导师,主要从事药物的质量研究与质量控制。

Tel:(0311)86266069 E-mail:jiangye@hebm.edu.cn