

PAMD 的收率大于1%。

3 讨论

从药材中提取总生物碱通常有3种方法:有机溶剂提取法、醇提取法和酸水提取法。因有机溶剂价格高、有毒、易燃、易爆,故不适于工业化生产。醇类溶剂适用面宽、提取成分完全,但由于北豆根药材纤维性强,体积膨松,提取时溶剂耗量大,会增加生产成本。北豆根中的蝙蝠葛酚性碱(主要含蝙蝠葛碱、蝙蝠葛苏林碱)由一系列双苄基异喹啉生物碱组成,兼有脂溶性和酸碱两性。本实验采用的工艺利用此类生物碱的化学特性,选用了酸水渗漉法,先用酸水渗漉得到粗总生物碱,再利用其脂溶性特征选用乙醇回流,碱溶酸沉的方法,除去其他极性杂质如无机盐、多糖等,而保留其有效部位,不但达到了避免使用有毒及高成本有机溶剂的目的,并能得到较高量的PAMD。

References

- [1] Masao T, Yasuko O. Studies on the alkaloids of Menispermaceae Plants. CCW. Alkaloids of *Menispermum dauricum* DC. (Suppl. 3) Dauricine. [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1964, 84 (10): 1030.
- [2] Zhu J Q, Jia J F, Yan H W, et al. Effect of dauricine on myocardial contraction force and coronary circulation [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1986, 7(6): 543.
- [3] Zhu J Q, Hu C J. Effects of dauricine on the tolerance to anoxia and experimental myocardial ischemia and infarct [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1986, 2 (6): 21.
- [4] Zhou J, Ding Y X, Gu S F, et al. Investigation on platelet aggregation of dauricine in patients with cardiovascular diseases [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1994, 10(1): 33.
- [5] Luo X, Hu C J, Zeng F D. Antiatherosclerotic effect of dauricine [J]. *Chin J Arterioscl* (中国动脉硬化杂志), 1995, 3(2): 177.
- [6] Gong P L, Du Z H, Zeng F D, et al. Antiarrhythmia effects of phenolic alkaloids of *Menispermum dauricum* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1995, 6(3): 13.
- [7] *Ch P* (中国药典). Vol 1. 2005.

HPLC 法测定防芷鼻炎胶囊中 5-O-甲基维斯阿米醇苷

张 锐, 彭杨锐

(江西省药物研究所, 江西 南昌 330029)

防芷鼻炎胶囊处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第5册收载的防芷鼻炎片, 是由苍耳子、野菊花、鹅不食草、白芷、防风、墨旱莲、白芍、胆南星、甘草、茯苓和淀粉等辅料制成的胶囊剂, 用于治疗慢性鼻炎引起的喷嚏、鼻塞、头痛、过敏性鼻炎和慢性鼻窦炎。防风为本方主药之一, 其主要有效成分升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷属色原酮类化合物, 具有明显的解热、镇痛和抗炎作用^[1]。因此本实验建立高效液相色谱法测定 5-O-甲基维斯阿米醇苷的量, 为更有效地控制该成药的质量提供参考方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: 依利特 HPLC P200 I 泵, UV200 I 紫外检测器; AE100 Mettler 万分之一电子天平; M3 Mettler 百万分之一电子天平; KQ-250DE 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司); 乙腈、甲醇为色谱纯试剂, 水为自制新鲜重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯; 升麻苷(批号 1522-

200001)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(批号 111523-200401)对照品由中国药品生物制品检定所提供; 防芷鼻炎胶囊由江西万基药物研究院药业有限公司提供, 每粒约 0.5 g。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择: 测定波长为 254 nm^[3](5-O-甲基维斯阿米醇苷的甲醇溶液)。

2.2 对照品溶液的制备: 取 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 30 μg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取防芷鼻炎胶囊内容物, 充分研细, 取 0.5 g, 精密称定, 加甲醇 20 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 残渣用适量甲醇洗涤 3 次, 洗液并入滤液中, 滤液上中性 Al₂O₃ 柱(3 cm×1.5 cm), 收集洗脱液, 再用 30 mL 50% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 合并两次洗脱液, 置水浴上蒸干, 残渣用甲醇分次溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

收稿日期: 2006-12-21

作者简介: 张 锐(1976—), 男, 江西进贤人, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中药化学成分及质量评价。

Tel: (0791)8102554 E-mail: work037@sohu.com

2.4 阴性溶液的制备:按处方比例称取除去防风外的其他药材,按本品制备工艺和供试品溶液的制备方法制备阴性溶液。

2.5 色谱条件:迪马 Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(40:60:0.1),检测波长:254 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温。

min;柱温:室温。

2.6 专属性试验:照上述色谱条件,吸取5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液、供试品溶液和阴性溶液各10 μL,分别注入色谱仪中。色谱图见图1。结果供试品溶液色谱图中,在与对照品色谱相应的位置上,有一相同的色谱峰,而阴性溶液在此待测组分处无干扰。

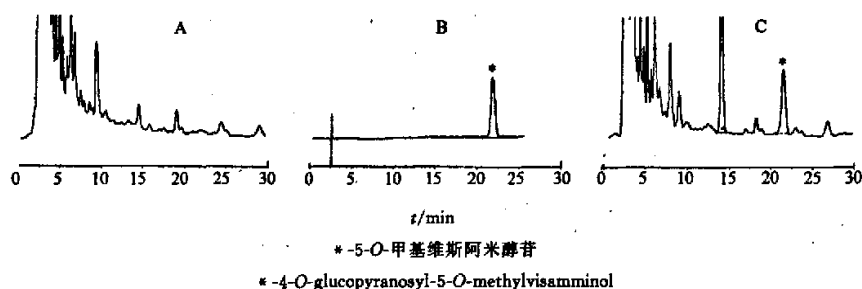


图1 阴性溶液(A)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液(B)和防芷鼻炎胶囊(C)的HPLC色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of negative solution (A), 4'-O-glucopyranosyl-5-O-methylvisamminol reference solution (B), and Fangzhi Biyan Capsula (C)

2.7 线性关系考察:精密吸取178.5 μg/mL 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 μL注入液相色谱仪中,测定峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标,进样质量为横坐标,计算得回归方程 $Y = 829.18X + 12.27$, $r = 0.9999$,结果表明5-O-甲基维斯阿米醇苷在0.089 25~2.678 μg与峰面积积分值的线性关系良好。

2.8 精密度试验:精密量取供试品溶液重复进样6次,每次10 μL,测定5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积积分值,计算得其RSD为0.91%。

2.9 稳定性试验:吸取供试品溶液10 μL,每隔一段时间进样1次,测定12 h内5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积积分值,计算得其RSD为0.72%。

2.10 重复性试验:批号041101样品平行取样6份,制备供试品溶液,依法进样,测定5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积积分值,计算得其RSD为1.9%。

2.11 回收率试验:采用加样回收法。取含5-O-甲基维斯阿米醇苷0.265 2 mg/粒,批号041101样品约0.25 g,精密称定,分别添加5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品106.8 μg,制备供试品溶液,依法测定,计算,结果平均回收率为98.09%,RSD为1.8%。

2.12 样品测定:取10批样品,每批取2份,制备供试品溶液,依法测定峰面积积分值,按外标法计算样品中5-O-甲基维斯阿米醇苷的质量分数,结果见表1。

3 讨论

比较了流动相^[2~4]甲醇-水(4:6)、甲醇-水-四

表1 防芷鼻炎胶囊中5-O-甲基维斯阿米醇苷的测定结果
Table 1 Determination of 4'-O-glucopyranosyl-5-O-methylvisamminol in Fangzhi Biyan Capsula

批号	5-O-甲基维斯阿米醇苷/(mg·粒 ⁻¹)	批号	5-O-甲基维斯阿米醇苷/(mg·粒 ⁻¹)
041101	0.2652	050102	0.3844
041201	0.2292	050103	0.3596
041202	0.2243	050201	0.2197
041203	0.2155	050202	0.2279
050101	0.2466	050203	0.2420

氢吡喃(62:38:1)、0.04 mol/L 醋酸钠溶液-甲醇(65:35)和甲醇-0.05 mol/L KH₂PO₄溶液-醋酸-异丙醇(85:170:4:4),结果均能使5-O-甲基维斯阿米醇苷得到很好的分离,而升麻苷峰仍不能完全达到基线分离,并且样品中的升麻苷周围有干扰峰,难于进行定量。故本实验只对5-O-甲基维斯阿米醇苷进行测定。试验中发现在流动相中添加一定量的酸,对5-O-甲基维斯阿米醇苷的分离无影响,但有利于加快其后面杂峰的洗脱,提高分析效率。因此确定流动相为甲醇-水-磷酸(40:60:0.1)。

由于5-O-甲基维斯阿米醇保留时间受温度影响较大,故采用HPLC测定5-O-甲基维斯阿米醇苷应选择适当的柱温,使色谱柱温保持恒定。

本品为中药复方制剂,化学成分复杂,并且含有大量的糖,色泽深、黏度大,需要对样品进行预处理。5-O-甲基维斯阿米醇苷的黄酮核上无O-二羟基基团,结构上也没有4-酮基-5-羟基或4-酮基-3-羟基系统,不与Al³⁺络合。为除去糖、大多数黄酮和黄酮醇等杂质的干扰,实验考察了提取溶剂和提取方式,

结果使用甲醇超声提取、过中性氧化铝柱,所得样品的澄明度明显好转、黏度下降,使5-O-甲基维斯阿米醇苷色谱峰的分离符合测定要求,并减少对分离柱系统的污染,保证分离柱有足够的柱效并延长其使用寿命。

References:

[1] Xue B Y, Li W, Li L, *et al.* A pharmacodynamic research on

chromone glucosides of Fangfeng [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(5): 297-299.

[3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

[3] Tian J, Li F M. Determination of prim-O-glucosylecimifugin and 4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvisaminol in Ganmaoqingre Granules by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(9): 671-673.

[4] Wan J H, Tian Z, Lou Z Q, *et al.* Determination of chromone glucosides in Fangfeng by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1988, 8(6): 325-327.

酶法提取贝母中总生物碱的工艺研究

魏金莹, 朱宏吉*, 魏静娜, 于晓艳, 张 达, 陈 希

(天津大学化工学院, 天津 300072)

贝母来源于百合科贝母属多种植物的鳞茎,具有清热润肺,化痰止咳之功效。贝母中的生物碱种类多,是贝母止咳、化痰作用的有效成分^[1,2]。贝母中生物碱多为脂溶性碱^[3],可以采用传统醇提方法,但收率很低,并且贝母药材价格较高,因此为了有效成分生物碱的进一步开发利用,本实验在醇提工艺前加一步酶解过程,使纤维素酶降解细胞壁中的纤维素,促进有效成分溶出,提高贝母总生物碱的收率。

1 试剂与仪器

纤维素酶由天津科健技术有限公司提供,活力为1 033.3 U/g;贝母药材购自天津市中药饮片厂,贝母素乙对照品(批号110751-200303)由中国药品生物制品检定所提供,所用试剂均为分析纯。

UV754 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);HZS—H 水浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);FZ102 粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);德国赛多利斯 Sartorius BP211D 微量天平。

2 方法与结果

2.1 贝母提取总生物碱的原工艺:20 g 贝母药材用60%乙醇250 mL 室温浸提4 d。

2.2 贝母提取总生物碱的新工艺:20 g 贝母药材加5倍量水,用HCl调pH 4.5,加入一定量的纤维素酶,在水浴振荡器中反应一定时间,振荡速度为100 r/min,温度为(50±1)℃,其他工艺同原工艺。

2.3 总生物碱的测定

2.3.1 供试品溶液的制备:取提取液挥去乙醇后用氯仿萃取2次,将萃取液移入50 mL 量瓶中,加氯

仿至刻度,即得。

2.3.2 标准曲线的制备:精密称取贝母素乙对照品2.59 mg,置100 mL 量瓶中,用氯仿溶解并加至刻度,摇匀,作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置60 mL 分液漏斗中,加pH 5.0 缓冲液2 mL,溴麝香草酚蓝试液2 mL,再加一定量氯仿,萃取2次,使2次氯仿加入量与对照品溶液之和为12 mL,充分摇匀,放置分层。将下层液经中速滤纸滤过后移入25 mL 量瓶中,加氯仿至刻度,作测试液。以氯仿同法操作做空白对照,采用分光光度计测定吸光度(A)值。以A为纵坐标,生物碱质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $A=0.039\ 19\ C+0.008\ 2$, $r=0.999\ 2$,结果贝母素乙在2.072~6.216 μg/mL 线性关系良好。

2.3.3 样品的测定:分别精密吸取供试品溶液2 mL 置60 mL 分液漏斗中,加pH 5.0 缓冲液2 mL,溴麝香草酚蓝试液2 mL,再加氯仿萃取,剧烈震荡后静置30 min,将下层液移入试管中,萃取2次,萃取液用滤纸滤过后移入25 mL 量瓶中,加氯仿至刻度。另取氯仿2 mL 作为空白溶液。在414 nm 波长处测定A值,根据标准曲线的回归方程计算出贝母总生物碱的质量浓度。

2.4 纤维素酶辅助提取工艺

2.4.1 相关影响因素的考察:取贝母药材20 g,共4份,按照2.2项下方法进行提取,酶用量分别为0.10、0.20、0.25、0.30 g,结果见图1。

结果显示,在不同的酶用量下,随着酶解时间的延长,贝母总生物碱的收率存在由低到高的趋势。这