

3 讨论

以流动相作溶剂,在200~400 nm波长测定了咖啡酸四聚体及其异构体紫外光谱图,结果均在252 nm处有最大吸收,确定252 nm为测定波长。

本实验比较了咖啡酸四聚体异构体在甲醇、水中的稳定性^[3],结果均在8 h内稳定,而因水价廉易得,故选用水为溶剂。

实验中曾用甲醇-水-甲酸(29 71 0.1)为流动相,结果主峰与邻峰分离不佳。经摸索筛选采用

甲醇-0.5%磷酸水(40 60)分离效果理想。

参考文献:

- [1] Robinson W E J, Reinecke M G. Inhibitors of HIV-1 replication that inhibit HIV integrase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 61(5): 268-270.
- [2] Kashiwada Y, Nishizawa M, Yamaagishi T, et al. Anti-AIDS agents, 18. Sodium and potassium salts of caffeic acid tetramers from *Arnebia euchroma* as anti-HIV agents [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(3): 392-400.
- [3] 贺金华,买尔旦. HPLC法测定新疆软紫草中咖啡酸四聚体的含量[J]. *新疆医科大学学报*, 2005, 28(5): 429-430.

HPLC法测定裸花紫珠片中木犀草素

李伟,徐向平,关怀,张艳娜*

(海南九芝堂药业有限公司,海南海口 570311)

摘要:目的 建立HPLC法测定裸花紫珠片中木犀草素的方法。方法 将裸花紫珠片用酸水解。采用HPLC法测定。色谱柱为Eurosphere-100 C₁₈(250 mm×4 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(50 50 0.2);柱温:室温;检测波长:350 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样量:10 μL。结果 木犀草素在0.029 4~0.147 μg与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.999 8$ 。平均回收率为100.4%,RSD为1.92%($n=6$)。结论 本方法准确,重复性好,专属性高,可用于裸花紫珠片的定量控制。

关键词:裸花紫珠片;木犀草素;高效液相色谱

中图分类号:R284.2

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)04-0578-03

裸花紫珠片为裸花紫珠经提取加工制成的单味药制剂,具有消炎、解毒、收敛、止血的功效,主要用于细菌感染引起的炎症,急性传染肝炎,呼吸道和消化道出血的治疗。裸花紫珠片原为糖衣片,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中成药成方制剂第6册,缺乏定量控制项。目前有文献报道采用分光光度法测定裸花紫珠片中总黄酮^[1],但该方法干扰多,专属性差。裸花紫珠地上部分中含有木犀草素苷和木犀草素^[2]。因此本实验选择木犀草素为指标成分,对裸花紫珠片中的木犀草素的测定方法进行了研究,以控制裸花紫珠片的质量。

1 仪器与试剂

德国Knauer液相色谱仪,包括K-1001泵、K-2501紫外检测器;Cary 50紫外分光光度计;CQ-10超声波清洗器。

甲醇(色谱纯)、磷酸(分析纯)、纯化水;木犀草

素对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号111520-200201;裸花紫珠片由海南九芝堂药业有限公司提供,规格为0.5 g/片。

2 方法与结果

2.1 方法的选择:经预试验,裸花紫珠片可见一个很小的游离木犀草素峰,而裸花紫珠片酸水解物中,与木犀草素对照品相同保留时间处有较大的游离木犀草素峰,可以用酸来水解木犀草素的苷类,采用高效液相色谱法来测定木犀草素,间接控制裸花紫珠片的质量。

2.2 色谱条件的选择

2.2.1 检测波长的选择:取木犀草素甲醇溶液进行紫外扫描,其最大吸收波长在350 nm附近,选用350 nm作为本品测定的检测波长。

2.2.2 流动相的选择:以甲醇和水作流动相,磷酸调pH值,进行流动相配比试验。甲醇-水的比例依

* 收稿日期:2008-07-04

作者简介:李伟(1966—),男(彝族),云南永仁县人,制药工程师,1988年毕业于上海医科大学药学院(现复旦大学药学院)药学专业,主要从事药物制剂生产管理、质量管理和研究。Tel:(0898)68631608-8212 E-mail:greatleo@21cn.com

次改变为 60 40、55 45、50 50,磷酸的比例为 0.2 不变。当甲醇-水比例相同时色谱峰分离情况良好,因此选择甲醇-水-磷酸(50 50 0.2)为流动相。结果待测组分木犀草素与其他组分能够完全分离,理论塔板数在 2 000 以上,分离效果较好。

2.2.3 色谱条件:色谱柱为 Eurospher-100 C₁₈ (250 mm × 4 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(50 50 0.2);柱温:室温;检测波长:350 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样量:10 μL。理论塔板数按木犀草素峰计算应不低于 2 000。

2.3 样品处理方法的选择

2.3.1 盐酸甲醇溶液浓度的选择:取裸花紫珠片 10 片,除去膜衣,精密称定,研细,取若干份,每份约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,分别加 1.0、1.5、2.0、2.5 mol/L 盐酸甲醇 20 mL,超声(功率 100 W,频率 25 kHz)30 min,放冷,加相应浓度的盐酸甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过。精密吸取续滤液 10 mL,置 50 mL 圆底烧瓶中,90 °C 水浴回流 45 min,放冷,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,测定,结果所得木犀草素的质量分数分别为 1.097 9、1.277 2、1.379 3、1.397 9 mg/片。根据实验结果,选择盐酸甲醇浓度为 2.5 mol/L。

2.3.2 超声时间的选择:取裸花紫珠片 10 片,除去膜衣,精密称定,研细,取若干份,每份约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇 20 mL,分别超声(功率 100 W,频率 25 kHz)15、25、30 min,放冷,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 10 mL,置 50 mL 圆底烧瓶中,90 °C 水浴回流 45 min,放冷,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,测定,结果所得木犀草素的质量分数分别为 1.261 8、1.296 8、1.321 8 mg/片。根据实验结果,选择超声处理时间为 30 min。

2.3.3 水解时间的选择:取裸花紫珠片 10 片,除去膜衣,精密称定,研细,取若干份,每份约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇 20 mL,超声(功率 100 W,频率 25 kHz)30 min,放冷,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过。精密吸取续滤液 10 mL,置 50 mL 圆底烧瓶中,90 °C 水浴分别回流 15、30、45、60 min,放冷,转移至 25

mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,测定,所得木犀草素的质量分数分别为 1.097 9、1.277 2、1.379 3、1.397 9 mg/片。根据实验结果,选择回流提取时间为 45 min。

2.4 溶液的制备

2.4.1 对照品溶液的制备:取木犀草素对照品适量,精密称定,加甲醇制成 10 μg/mL 的溶液,即得。

2.4.2 供试品溶液的制备:取样品 10 片,除去膜衣,精密称定,研细,取约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液 20 mL,超声(功率 100 W,频率 25 kHz)30 min,放冷,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 10 mL,置圆底烧瓶中,90 °C 水浴回流 45 min,放冷,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.5 空白试验:按处方中裸花紫珠干浸膏与辅料的比例,配制不含裸花紫珠的空白制剂,按供试品溶液的制备方法制备空白溶液。按以上色谱条件取对照品、供试品和空白对照进样分析,色谱图见图 1。

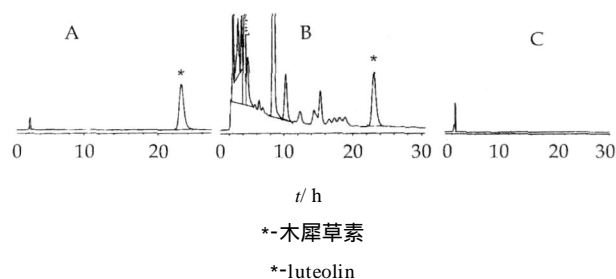


图 1 木犀草素对照品(A)、裸花紫珠片(B)和空白制剂(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of luteolin reference substance (A), Luohua Zizhu Tablets (B), negative sample (C)

2.6 线性关系考察:称取木犀草素对照品约 15 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 1、2、3、4、5 mL 分别置 100 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μL,注入高效液相色谱仪,记录峰面积。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为 $Y = 1.095\ 278\ 783\ X - 0.079\ 937\ 09$, $r = 0.999\ 8$ 。结果表明木犀草素的进样量在 0.029 4~0.147 μg 线性关系良好。

2.7 稳定性试验:精密吸取批号 700040 裸花紫珠片供试品溶液 10 μL,分别于配制后 0、2、4、6、8、10、12 h,依法测定木犀草素的峰面积值,求得 RSD 为

1. 44 %。表明供试品溶液在室温用量瓶密闭放置, 在 12 h 内基本稳定。

2. 8 精密度试验: 精密吸取批号 700040 裸花紫珠片供试品溶液, 进样 10 μ L, 重复进样 6 次, 测定木犀草素的峰面积值, 求得 RSD 为 1. 34 %。

2. 9 重现性试验: 取批号 700700 裸花紫珠片 6 份, 制备供试品溶液, 测定质量分数, 求得 RSD 为 1. 93 %。

2. 10 回收率试验: 取批号 700700 裸花紫珠片(含木犀草素 2. 843 1 mg/g) 0. 2 g, 分别称取 6 份, 精密称定, 分别精密加入 0. 51 mg/mL 木犀草素对照品溶液 1 mL, 制备供试品溶液, 测定, 计算, 结果平均加样回收率为 100. 3 %, RSD 为 1. 92 %。

2. 11 样品测定: 取 3 批样品, 依法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液和木犀草素对照品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 依照上述色谱条件测定峰面积, 按标准曲线法计算木犀草素的质量分数, 结果见表 1。

表 1 裸花紫珠片中木犀草素的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of luteolin in Luohua Zizhu Tablets (n=3)

批号	木犀草素/(mg·片 ⁻¹)
700060	1. 466 7
700070	1. 527 0
700080	1. 578 6

3 讨论

裸花紫珠片糖衣片的原质量标准均没有定量测定项。本实验选择裸花紫珠中的有效成分之一木犀草素作为指标性成分, 采用 HPLC 法测定其质量分数, 从而控制裸花紫珠片的质量, 为裸花紫珠片的质量控制提供了一个可行的测定方法。同时该法还可以供制定裸花紫珠药材质量标准时参考。

参考文献:

- [1] 宋永强, 谌乐刚. 分光光度法测定裸花紫珠片中总黄酮含量[J]. 海南医学, 2005, 16(6): 152.
- [2] 王祝年, 韩 壮, 崔海滨, 等. 裸花紫珠的化学成分[J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(04): 359-362.

RP-HPLC 法测定麻黄及其炮制品中盐酸麻黄碱

祝 婧, 钟凌云*, 龚千锋, 张的凤

(江西中医学院药学院, 江西 南昌 330004)

摘要:目的 确定盐酸麻黄碱测定方法, 以检测麻黄不同炮制品中麻黄碱成分的变化。方法 采用 RP-HPLC 法。色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4. 6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0. 1 % 磷酸(含 0. 1 % 三乙胺) 水溶液 (4 : 96); 体积流量: 1. 0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。结果 盐酸麻黄碱线性回归方程为 $Y = 29. 939 X + 0. 4095$, $r = 0. 999 5$, 盐酸麻黄碱进样量在 0. 06 ~ 1. 8 μ g 与峰面积线性良好。加样回收率为 103. 78 %, RSD 为 1. 89 %。麻黄碱的量为生品 > 沸水泡麻黄 > 蜜炙麻黄 > 炒麻黄。结论 建立的高效液相色谱测定盐酸麻黄碱方法提取步骤简便, 重现性高, 可以作为盐酸麻黄碱测定方法。

关键词: 麻黄; 炮制; 盐酸麻黄碱; 高效液相色谱

中图分类号: R286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)04-0580-03

麻黄为麻黄科多年生草本状小灌木植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf、中麻黄 *E. intermedia* Schrenk et C. A. Mey. 或木贼麻黄 *E. equisetina* Bge. 的干燥草质茎, 具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿等功效。麻黄中含有生物碱、黄酮、萜烯、鞣质、挥发油、有机酸、多糖等多种成分, 目前对其药理毒

理作用研究较明确的只有生物碱类, 其中盐酸麻黄碱被认为是麻黄宣肺平喘的药效成分之一。麻黄通过炮制可以缓和其发汗作用, 并增强止咳平喘功效, 目前临床使用和文献记载麻黄的炮制方法主要有蜜炙法、炒黄法及沸水泡法。《中国药典》2005 年版对麻黄药材以盐酸麻黄碱作为质控指标, 但样品的前

* 收稿日期: 2008-07-17

基金项目: 国家“十一五”科技攻关项目(2006BAI09B06-08-05)

作者简介: 祝 婧(1985—), 女, 江西中医学院 2006 级硕士研究生。

* 通讯作者 钟凌云 Tel: (0791) 7118995 E-mail: ly1638163@163.com