

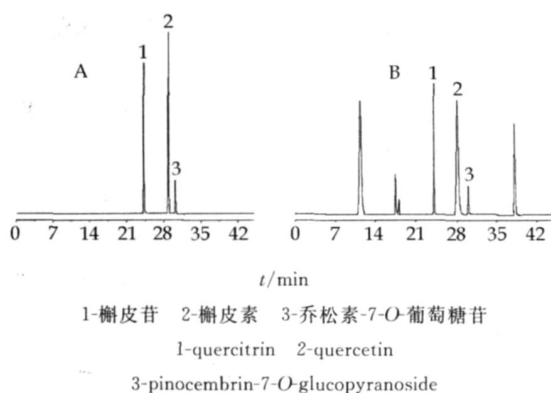


图1 对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances (A) and samples (B)

3.2 流动相的选择: 试验过程中选择了多种流动相,如甲醇-0.1%磷酸水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-水、甲醇-水等。结果表明,用乙腈-0.1%磷酸水溶

液作流动相,基线稳定,分离度好,峰形对称,确定采用乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱。

3.3 提取方法的选择: 对冷浸法、热回流法、超声法等进行考察,结果表明,热回流法与超声法提取效率均较高,但由于超声法操作简便,故选择超声提取法。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物属检索表 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册) [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [3] 何述敏, 李敏, 吴众, 等. 扯根菜的研究进展 [J]. 中草药, 2002, 33(6): 5.
- [4] 张旭, 杨明. 赶黄草有效成分研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2005, 25(4): 46.
- [5] 赵建勤, 杨明, 赵连三, 等. 扯根菜及其系统提取物抗乙型肝炎病毒体外实验研究 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2002, 2(1): 5.

高效液相色谱法测定乌药中乌药醚内酯

余翠琴, 陈方亮*

(台州市中心医院, 浙江 台州 318000)

摘要:目的 采用反相高效液相色谱法测定天台乌药中乌药醚内酯。方法 色谱柱为 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm); 流动相为乙腈-水(57:43); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 235 nm。结果 该方法下乌药醚内酯线性范围为 0.051~2.55 μg, 平均回收率为 99.96%。结论 本法简便、经济, 结果准确, 可用于天台乌药的质量控制。

关键词: 乌药; 乌药醚内酯; 反相高效液相色谱

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)06-0983-02

乌药为樟科山胡椒属植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根,《本草纲目》记载,乌药具散寒、补中、顺气、开郁,具有增加肠胃蠕动、兴奋大脑皮层、加速血液循环等功效,能上理脾胃元气,下通少阴肾经。主产浙江、江西、湖南等地,历代医家都评价“以浙江天台所产者品质最佳”,元、明时曾作为朝廷贡物,历史上著名医家朱丹溪的养生药补方中常用天台乌药。被誉为“长生不老药”的天台乌药,历史悠久,品质超群,享誉中外,是我国名贵地道药材之一。乌药中主要含有挥发油、异喹啉类生物碱、黄酮类及倍半萜类成分^[1],其中最能体现乌药特征的成分应是呋喃倍半萜及其内酯类成分,《中国药典》中以乌药醚内酯为指标性成分对乌药进行定性鉴定和定量测定^[2]。本实验建立简便快速的 HPLC 法测定乌药中乌药醚内酯。

1 仪器和试剂

1.1 仪器: Waters 2695 高效液相色谱仪(包括 2695 四元梯度泵,在线脱气机,自动进样器,柱温箱,2487 紫外检测器,Empower 色谱工作站); Mettler AE200 电子分析天平; UV-Vis8500 紫外可见分光光度计; XW-80A 型旋涡混合器; 0412-1 型台式离心机; HS2060 型超声波清洗器。

1.2 药品与试剂: 乌药产自浙江天台,由天台山乌药生物工程有限公司提供,经本院中药房主任黄瑞平副主任药师鉴定为樟科山胡椒属植物乌药 *L. aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根; 乌药醚内酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号 1568-200201); 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为双重蒸馏水; 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

* 收稿日期: 2008-12-03
基金项目: 台州市科技计划基金资助项目(061KY25)

2.1 色谱条件: Symmetry C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm); 流动相: 乙腈-水(57 : 43); 体积流量 1 mL/min; 检测波长: 235 nm; 柱温: 28 °C; 进样量 5 μL。见图 1。

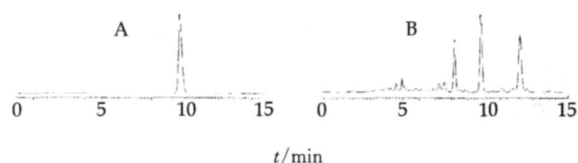


图1 乌药醚内酯对照品(A)和乌药药材(B) HPLC图

Fig 1 HPLC Chromatograms of linderane reference substance (A) and Radix Linderae (B)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取乌药醚内酯对照品 25.5 mg 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配成含乌药醚内酯质量浓度为 0.510 mg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 取乌药药材粉末约 1 g, 精密称量, 置于具塞试管中, 加入正己烷 20 mL, 45 °C 水浴超声提取 60 min, 取提取液 10 mL 于 4 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液 5 mL 氮气下吹干正己烷, 残渣加 5 mL 甲醇溶解, 抽取溶液适量经孔径为 0.45 μm 滤纸滤过, 即得。

2.4 标准曲线的绘制: 精密吸取 0.510 mg/mL 对照品溶液 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL 分别置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 进样测定。以乌药醚内酯的质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $A = 10\,300\,C - 18\,900$, $r = 0.999\,9$, 线性范围为 10.2 ~ 510 μg/mL。

2.5 精密度试验: 取对照品溶液, 按上述色谱条件连续重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果乌药醚内酯峰面积的 RSD 为 0.62 %。

2.6 重现性试验: 取同一批乌药药材, 平行制备 5 份供试液, 按 2.1 项条件进样, 结果得乌药醚内酯的平均质量分数为 0.184 2 %, 乌药醚内酯质量分数的 RSD 为 1.43 % ($n = 5$)。

2.7 稳定性试验: 取乌药粉末, 制备供试液, 每隔 8 h 进样一次, 48 h 内共测 7 次, 计算得乌药醚内酯的平均质量分数为 0.185 0 %, RSD 为 3.08 % ($n = 7$)。

2.8 加样回收率试验: 取乌药药材 5 份, 精密称定, 分别加入 0.102 mg/mL 乌药醚内酯对照品溶液 5 mL, 制备供试品溶液, 进样, 根据回归方程计算, 结果乌药醚内酯的平均加样回收率为 99.96 %, RSD 为 2.71 %。

2.9 样品测定: 取 12 批乌药药材粉末约 1 g, 制备供试品溶液, 进样测定, 按外标法根据峰面积代入回归方程计算质量浓度, 再计算样品乌药醚内酯的量, 结果见表 1。

表1 不同批次乌药药材中乌药醚内酯测定结果($n = 3$)

Table 1 Determination of linderane in Radix Linderae from different batches ($n = 3$)

批号	乌药醚内酯/(mg · g ⁻¹)	批号	乌药醚内酯/(mg · g ⁻¹)
071108	1.574	080712	1.894
071221	1.779	080923	1.903
080130	1.750	081107	1.941
080306	1.854	081215	1.923
080509	1.921	090117	1.843
080623	1.908	090221	1.987

3 讨论

通过对乌药醚内酯进行 UV 波长扫描发现, 在 209 nm 左右有最大吸收, 随着波长的增加, 吸光度逐渐减弱, 至 260 nm 后紫外吸收极弱, 但考虑到短波长对溶剂甲醇和流动相乙腈有干扰, 根据《中国药典》2005 年版, 选择 235 nm 作为检测波长。《中国药典》中乌药药材提取方法采用乙醚为提取溶剂^[2], 置索氏提取器中提取 4 h, 但考虑到乙醚易燃易爆且有麻醉性, 整个提取时间过长, 通过对比甲醇、乙腈、醋酸乙酯和正己烷, 最后确定正己烷对测定干扰少, 超声提取能达到要求并且大大缩短提取时间。确定流动相试验中发现, 甲醇与水组合其线波动大于乙腈与水的组合, 随着乙腈比例的增加, 乌药醚内酯的出峰时间逐渐提前, 但乌药药材的分离度不理想, 最后确定以乙腈-水(57 : 43)的流动相可使出峰时间与分离度达到比较理想的状况。

参考文献:

- [1] 王军伟, 阮冰. 乌药的植化及药理研究概况 [J]. 浙江中医杂志, 2006, 41(11): 675.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005.