

- ikarsh) 毒镇痛活性肽的分离纯化及其镇痛作用研究[J]. 沈阳药学院学报, 1994, 11(4): 273-277.
- [4] 韩雪飞, 徐霞, 申庆红, 等. 蝎毒素分离、纯化研究[J]. 河南医科大学学报, 1996, 31(3): 1-4.
- [5] 韩雪飞, 王水奎, 陈华艳, 等. 蝎毒抗癌多肽纯化组分对小鼠肝癌的生长抑制作用及带瘤小鼠胸腺重量的影响[J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(4): 288-290.
- [6] 刘崇铭, 高殿振, 周新华, 等. 东亚钳蝎毒及其成分抗癫痫肽的抗惊厥作用[J]. 沈阳药学院学报, 1988, 5(2): 110-111.
- [7] 邹龙, 郭建生, 桂卉, 等. 全蝎镇痛成分的提取工艺研究[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(2): 19-21.
- [8] 林超, 王玉蓉, 吴清, 等. 全蝎的酶解工艺研究[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(6): 66-69.
- [9] 赵英永, 戴云, 崔秀明, 等. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定草乌中可溶性蛋白质含量[J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2006, 15(3): 235-237.
- [10] 陈俐, 廖卫平. 石菖蒲萃取挥发油抗癫痫药效研究[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(3): 171-173.

HPLC 法测定白花蛇舌草注射液中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷

姚鑫宁, 纪菁, 陈静, 郭兴杰*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立白花蛇舌草注射液中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的测定方法。方法 采用 HPLC 法测定, 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.1% 冰醋酸 (3:2:95), 检测波长 230 nm, 体积流量 1.0 mL/min。结果 去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的浓度分别在 7.50~90.0 μg/mL ($r=0.9997$) 和 6.00~72.0 μg/mL ($r=0.9999$) 线性关系良好; 平均加样回收率分别为 98.1%、99.0%, RSD 分别为 1.2%、1.1%。结论 本法快速、简便、准确, 可用于同时测定白花蛇舌草注射液中上述两种环烯醚萜类成分。

关键词: 白花蛇舌草注射液; 去乙酰基车叶草苷酸; 鸡屎藤次苷; HPLC

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)04-0580-03

白花蛇舌草为茜草科植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 的干燥全草, 研究表明该植物主要含有黄酮类、三萜类、萜醌类、环烯醚萜类、多糖类等成分, 具有抗肝炎、抗肿瘤、抗病毒、抗炎抑菌、调血脂及降血糖等多种药理活性^[1]。白花蛇舌草注射液是以白花蛇舌草制成的注射剂, 具有清热解毒、利湿消肿的作用。临床用于湿热蕴毒所致的呼吸道感染、扁桃体炎、肺炎、胆囊炎、阑尾炎、痈疖脓肿及术后感染, 亦可用于癌症辅助治疗。本实验室从白花蛇舌草中分离得到了两种环烯醚萜苷类成分, 通过 IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 解析, 以及与文献报道的图谱比较, 确证此两种成分结构分别为去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷^[2], 结构式见图 1。已有文献报道测定白花蛇舌草药材或注射液中对香豆酸^[3]、反式 6-O-对香豆酰鸡屎藤次苷甲酯^[4]、齐墩果酸^[5]和熊果酸^[6]等, 但未见有关于去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的测定方法的文献报道, 且在研究中发现去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷在注射液中的量较高。因此本研究首次建立了同时测定白花蛇舌草注射液中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次

苷的方法, 并应用于市售白花蛇舌草注射液的测定中, 为进一步控制白花蛇舌草注射液的质量提供了依据。

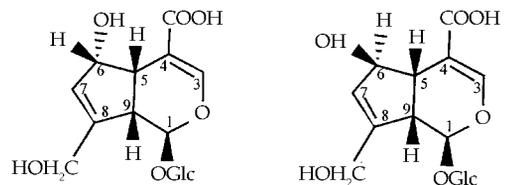


图 1 去乙酰基车叶草苷酸 (A) 和鸡屎藤次苷 (B) 的结构

Fig 1 Structures of deacetyl asperuloside acid (A) and scandoside (B)

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪, SPD-10A 型紫外可见检测器, ANASTAR 色谱工作站; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 冰醋酸为分析纯, 重蒸水 (自制); 去乙酰基车叶草苷酸、鸡屎藤次苷对照品均为本实验室自制 (质量分数均不小于 99.0%); 白花蛇舌草注射液 (2 mL/支) 来自 3 个不同厂家 (批号为 080312、080510、080203) 及本实验室自制 (批号为 080127)。

收稿日期: 2009-07-07

基金项目: 教育部“春晖计划”科研合作项目 (Z2005-110016)

作者简介: 姚鑫宁 (1984—), 女, 辽宁鞍山人, 药物分析专业硕士研究生, 2007 年毕业于沈阳药科大学药学专业, 主要从事药物分析及中药质

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-乙腈-0.1%冰醋酸 (3 2 95);体积流量为 1.0 mL/min;柱温为 25 °C;检测波长为 230 nm;进样量为 20 μL;在上述色谱条件下,取对照品溶液和供试品溶液分别进样,记录色谱图。理论塔板数按去乙酰基车叶草苷酸计算不低于 8 000,按鸡屎藤次苷计算不低于 10 000。两成分的色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于 1.5,拖尾因子均在 0.95 ~ 1.05。色谱图见图 2。

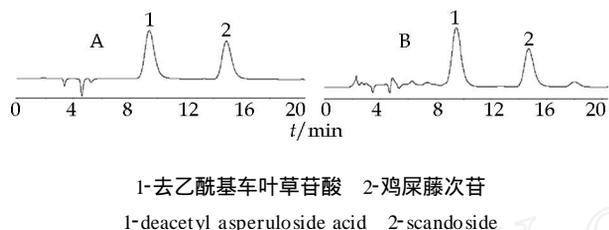


图 2 对照品溶液(A)及供试品(B)溶液 HPLC 图

Fig 2 HPLC Chromatograms of reference solution (A), and sample solution (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称定去乙酰基车叶草苷酸对照品 7.51 mg, 鸡屎藤次苷对照品 6.00 mg, 置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品储备液(质量浓度分别为 0.300 mg/mL 和 0.240 mg/mL)。取混合对照品储备液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,即得(质量浓度分别为 30.0 μg/mL 和 24.0 μg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备:取白花蛇舌草注射液(批号 080312)0.5 mL 置于 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.4 线性关系的考察:精密吸取混合对照品储备液 0.25、0.5、1、1.5、2、3 mL 置 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。分别吸取上述对照品溶液 20 μL 注入液相色谱仪中,以峰面积(A)对质量浓度(C)进行线性回归,去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷回归方程及线性范围分别为: $A = 1.09 \times 10^4 C - 3.93 \times 10^3$, $r = 0.9997$, 7.50 ~ 90.0 μg/mL; $A = 9.6 \times 10^3 C - 7.72 \times 10^3$, $r = 0.9999$, 6.00 ~ 72.0 μg/mL。

2.5 精密度试验:取供试品溶液一份,在上述色谱条件下连续进样 6 次,记录去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷峰面积,其 RSD 分别为 1.2%、0.88%。

2.6 重现性试验:取同一批白花蛇舌草注射液(批号 080312)6 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样分析,测定去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的质量浓度,其 RSD 分别为 1.3%、1.5%。

稳定性试验 取供试品溶液 室温放置 分别在

0、1、2、4、8、12 h 进样,记录去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷峰面积,计算 RSD,其 RSD 分别为 1.2%、1.0%,表明供试品溶液至少在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验:精密吸取同一批号(批号 080312)白花蛇舌草注射液 6 份,每份 0.25 mL,分别精密加入去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷混合对照品储备液 1.3 mL(质量浓度分别为 0.300 mg/mL 和 0.240 mg/mL),按供试品溶液制备方法操作,进样分析,以外标法计算去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的加样回收率。结果去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的平均回收率及 RSD 分别为 98.1%、1.2%、99.0%、1.1%。

2.9 样品测定:取各厂家白花蛇舌草注射液,制备供试品溶液,在上述色谱条件下进样分析,按外标法计算去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷质量浓度,结果见表 1。

表 1 白花蛇舌草注射液中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的测定结果

Table 1 Determination of deacetyl asperuloside acid and scandoside in different batches of Hedyotis diffusa injection

批号	去乙酰基车叶草苷酸/ (mg · mL ⁻¹)	鸡屎藤次苷/ (mg · mL ⁻¹)
080312	1.62	1.38
080510	0.85	0.47
080203	1.67	2.20
080127	1.56	0.95

3 讨论

在研究白花蛇舌草中发现,白花蛇舌草药材和注射液中均含有较高量的环烯醚萜成分去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷。研究表明,环烯醚萜苷具有抗氧化、抗炎、免疫调节等生物活性。本实验建立了 HPLC 法测定注射剂中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷的量,为进一步控制白花蛇舌草制剂质量奠定了基础。

本实验首先考察了甲醇-醋酸水溶液和乙腈-醋酸水溶液作流动相对分离的影响。结果表明:使用二元流动相时,被测组分与杂质分离度差,且使用甲醇-水流动相体系柱效明显降低。而采用三相体系,甲醇-乙腈-0.1%醋酸水(3 2 95)作流动相,被测组分与干扰成分之间能达到完全分离,柱效高,组分保留时间合适。

去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷水溶液均在 230 nm 附近有最大吸收,且在此波长处干扰组分对测定无影响 因此本实验选择 为测定波长。

实验结果显示,不同厂家生产的注射液中去乙酰基车叶草苷酸和鸡屎藤次苷量差异较大,说明注射液质量在一定程度上有较大差异。这可能与白花蛇舌草药材的来源、产地、采收期及注射液制备工艺等有关。

参考文献:

[1] 郑宏钧,詹亚华.现代中药材鉴别手册[M].北京:中国医药科技出版社,2001.

- [2] 逯萍,戴乾圆.白花蛇舌草化学成分研究进展[J].北京工业大学报,2000,26(3):68.
- [3] 张才华,郭兴杰,薛秀峰,等.HPLC测定白花蛇舌草注射液中对香豆酸的含量[J].中国药学杂志,2004,39(11):854.
- [4] 郭云珍,宝炉丹,潘永玉,等.HPLC法同时测定白花蛇舌草注射液中2种成分的含量[J].药物分析杂志,2007,27(8):1158.
- [5] 周昕,谢瑞芳,顾希钧.白花蛇舌草注射液中齐墩果酸的含量测定[J].杭州师范学院学报:医学版,2008,28(5):410.
- [6] 张瑜,谈献和,李伟,等.白花蛇舌草中熊果酸的含量测定[J].中国野生植物资源,2005,24(3):46.

HPLC法测定麻仁丸中厚朴酚、和厚朴酚、大黄素和大黄酚

刘翔*

(江苏省镇江药品检验所,江苏 镇江 212003)

摘要:目的 建立同时检测麻仁丸中厚朴酚、和厚朴酚、大黄素及大黄酚的测定方法。方法 采用 HPLC 法。C₁₈ 色谱柱;甲醇-0.1%磷酸水溶液为流动相,进行梯度洗脱;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 254 nm。结果 根据回归方程,4 种成分线性范围:和厚朴酚 6.285~62.85 μg/mL, R²=0.999 6;厚朴酚 14.57~145.7 μg/mL, R²=0.999 6;大黄素 2.744~27.44 μg/mL, R²=0.999 3;大黄酚 6.828~68.28 μg/mL, R²=0.999 2;平均回收率:和厚朴酚 98.8%,RSD 为 1.0%(n=6),厚朴酚 99.9%,RSD 为 1.4%(n=6),大黄素 98.9%,RSD 为 2.0%(n=6),大黄酚 98.4%,RSD 为 1.6%(n=6)。结论 该方法操作简便、准确,重复性好,可用于麻仁丸的质量控制。

关键词:麻仁丸;厚朴酚;和厚朴酚;大黄素;大黄酚;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)04-0582-02

麻仁丸收载于《中国药典》2005 年版一部,由火麻仁、大黄、苦杏仁、枳实(炒)、厚朴(姜制)、白芍(炒)组成,具润肠通便之功效,用于肠燥便秘等症。麻仁丸的测定是检测其中的大黄素和大黄酚,本实验参考相关报道^[1-3]增加了对其中厚朴药材有效成分厚朴酚、和厚朴酚的测定,并同时检测游离的大黄素和大黄酚,有别于原标准中通过酸水解测定大黄素和大黄酚总量的方法,该方法操作简便、准确,重复性好,有利于更好的对麻仁丸进行质量评价和监控。

1 仪器与试剂

Waters2695 液相色谱仪,Empower 色谱工作站(美国沃特斯公司),DAD 检测器;AG-245 电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

厚朴酚(批号 110729-200310)、和厚朴酚(批号 110730-200609)、大黄素(批号 110756-200110)、大黄酚(批号 110796-200615)对照品均购自于中国药品生物制品检定所;甲醇(分析纯、色谱纯);麻仁丸(批号 080618,杭州胡庆余堂药业有限公司;批号 071102,南京同仁堂药业有限责任公司;批号 070712,江苏七

七天然制药有限公司),均为小蜜丸。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:岛津 C₁₈ 色谱柱(150 mm × 6.0 mm, 5 μm);流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B);洗脱程序为:0~4 min, A 为 78%;4~18 min, A 为 78%~90%;18~20 min, A 为 90%~78%;体积流量:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温为 30 °C;进样量 10 μL。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取和厚朴酚、厚朴酚、大黄素和大黄酚适量,分别配成质量浓度为 20.95、48.57、9.145、22.76 μg/mL 混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取供试品 1.5 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,用甲醇补足质量,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性溶液的制备:取不加厚朴和大黄的空白样品按照供试品溶液的制备项下的方法,制成溶液即得。

2.5 线性关系考察:取适量对照品溶液,分别进样 3、5、10、15、20、30 μL,由峰面积对浓度求得工作曲线,得回归方程。和厚朴酚: A = 57 109 C - 16 129,