

7), (400 50 4), (400 60 5), 分析色谱图看出, 选用甲醇-水-醋酸(400 60 5)峰形较好, 各种杂质峰对测定无任何干扰, 保留时间可以接受。

3.2 提取剂的选择 曾选用三氯醋酸沉淀蛋白, 但回收率过低, 且上清液吹干需要时间长。采用固相萃取技术与直接用醋酸乙酯提取两种方法, 效果相似, 但前者费用较高且较步骤繁琐, 故采用醋酸乙酯直接提取的方法。

本实验采用 HPLC 法测定熊果酸磷脂纳米注射剂在血浆中的浓度, 此方法操作简便, 稳定性好, 回收率高, 并且制剂中纳米材料、辅料和其他相关物质对测定无干扰, 为对熊果酸的进一步研究提供了比较理想的检测方法。

参考文献:

[1] 黄镜, 孙燕. 熊果酸的抗肿瘤活性[J]. 中国新药杂志, 1997, 6(2): 101-104.
 [2] 白育军, 杨小生, 康文艺, 等. 熊果酸的结构修饰物及其抗肿瘤活性[J]. 华西药学杂志, 2003, 18(2): 87-90.
 [3] 王杰军, 王兵, 郭静, 等. 熊果酸体外抑制血管形成的研究[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(11): 1071-1073.
 [4] 裴建梅, 颜杰, 贾孟良. HPLC 测定肝达片中熊果酸的含量[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(2): 365-369.
 [5] 唐丽琴, 刘圣, 李鑫, 等. 高效液相色谱法测定枇杷叶提取物中齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 725-726.

[收稿日期]2006-06-10

高效液相色谱法测定小儿七星茶冲剂中钩藤碱含量

李亚萍¹, 雷晓林², 庄义修¹, 欧阳蒲月¹ (1. 广东化工制药职业技术学院, 广东 广州 510520; 2. 东方药林药业有限公司, 广东 广州 510510)

[摘要] 目的: 建立小儿七星茶冲剂中钩藤碱的含量测定方法。方法: 以高效液相色谱法测定, 色谱柱: Phenomenex BDS C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(加 0.5% 三乙胺, 冰醋酸调节 pH 5.2)(70:30); 检测波长为 254 nm。结果: 钩藤碱线性范围为 10.8 ~ 64.8 μg, 平均回收率 91.34%, RSD 为 1.88%。结论: 方法可靠, 简单可行, 为控制小儿七星茶冲剂的质量提供了科学依据。

[关键词] 小儿七星茶冲剂; 钩藤碱; 高效液相色谱法
 [中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)12-1783-02

小儿七星茶冲剂(收录于卫生部药品标准, 标准编号: WS3-B-1689-94)由薏苡仁、稻芽、山楂、淡竹叶、钩藤、蝉蜕、甘草等 7 味药材组成, 功能定惊消滞。其中钩藤为常用中药, 具有清热镇惊、平肝熄风功能, 是本品起定惊作用的主药, 其主要成分钩藤碱的含量是评价钩藤及其制剂质量的重要指标。但原标准未对钩藤碱的含量作出相关规定, 为更好地控制本品的质量, 确保其临床疗效, 本实验以高效液相色谱法测定了钩藤碱的含量, 为控制小儿七星茶冲剂质量提供依据。

[作者简介] 李亚萍, 女, 硕士, 讲师, 电话: 020-22846586, E-mail: liyaping508@hotmail.com

1 材料

美国 Dionex 高效液相色谱仪: P680 HPLC 泵, ASF100 自动进样器, UVD170 检测器, Chromeleon HPLC management software; 钩藤碱对照品(日本株式会社, 批号 110745-200312); 小儿七星茶冲剂(广州一力药业有限公司, 批号 051211, 051212, 051213, 060702, 060801, 060402); 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex BDS C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 甲醇-0.5% 三乙胺(冰醋酸调节 pH 5.2)(70:30)为流动相, 流速 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长为 254 nm; 柱温为室温; 进样量为 10 μL。理论板数按钩藤碱峰计算不低于 2 000。

2.2 阴性对照 制备钩藤碱阴性对照液, 在“2.1”色谱条件下测定。结果表明钩藤碱和样品中的其他物质可以得到良好的分离, 阴性对照无干扰。见图 1。

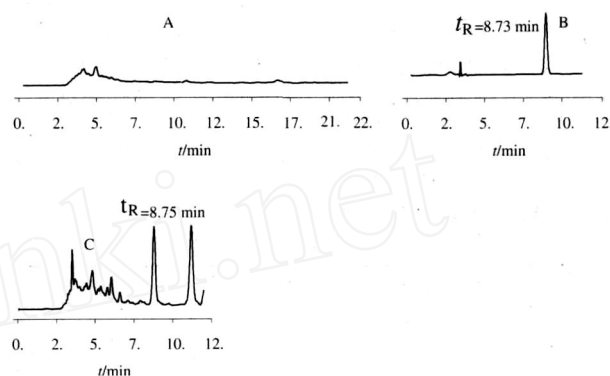


图 1 HPLC 色谱图

A. 钩藤碱阴性样品; B. 对照品; C. 小儿七星茶冲剂供试品

Fig 1 HPLC chromatogram

A. negative control sample; B. reference substance; C. sample

2.3 线性关系考察 精密吸取质量浓度为 4.32 mg · L⁻¹ 的钩藤碱对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15 μL, 按“2.1”项下色谱条件测定峰面积。以峰面积积分为纵坐标, 钩藤碱的进样量(μg)为横坐标绘制标准曲线, 回归方程: Y = 0.045 3 X + 0.013 8, r = 0.999 9。结果表明钩藤碱在 0.010 8 ~ 0.064 8 μg 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 重复进样 5 次, RSD 为 0.93% (n = 5)。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液于制备后 0, 2, 4, 6, 8 h 分别进样, 进行测定, 测得样品钩藤碱含量在 9.592 0 ~ 9.622 9 μg · g⁻¹ 之间波动, RSD 为 1.07%。可见供试品中钩藤碱在 8 h 内稳定。

2.6 重复性试验 分别精密称取本品同一批号样品 6 份, 按供试品溶液制备方法制备, 依法进样测定。结果钩藤碱平均含量为 9.593 2 μg · g⁻¹, RSD 为 1.15%。说明本方法重现性良好。

2.7 回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量样品(含量为 9.472 8 μg · g⁻¹) 共 6 份, 分别精密加入钩藤碱对照品溶液 1 mL (24 mg · L⁻¹), 按供试品溶液制备方法制备, 进样测定, 计算回收率, 结果见表 1。钩藤碱的平均回收率为

91.34%, RSD 为 1.88%, 说明该法准确度较好。

表 1 加样回收率测定结果 (n=6)

Tab 1 Results of recovery determination (n=6)

| 编号 | 样品称量 /g | 样品含量 /μg | 加入对照品量 /μg | 测得量 /μg | 回收率 /% | 平均回收率 /% | RSD /% |
|----|---------|----------|------------|----------|--------|----------|--------|
| 1 | 2.124 1 | 20.121 2 | 24 | 42.304 3 | 92.43 | 91.34 | 1.88 |
| 2 | 2.045 3 | 19.374 7 | 24 | 41.008 3 | 90.14 | | |
| 3 | 2.497 2 | 23.655 5 | 24 | 44.899 7 | 88.52 | | |
| 4 | 2.510 5 | 23.781 5 | 24 | 45.760 6 | 91.58 | | |
| 5 | 3.198 3 | 30.296 9 | 24 | 52.432 1 | 92.23 | | |
| 6 | 3.005 4 | 28.469 6 | 24 | 50.825 5 | 93.15 | | |

2.8 样品测定 精密称取钩藤碱对照品,加流动相超声使溶解,制成 5 mg L⁻¹ 的对照品溶液。取小儿七星茶冲剂约 5 g,精密称定,置三角烧瓶中,加甲醇低温超声 3 次,(每次加 30 mL 甲醇,超声 30 min),滤过,洗涤残渣及滤纸,合并所有甲醇液,蒸干(蒸发温度 60 ~ 65),残渣用 30 mL 水溶解,置分液漏斗中,氨试液调节 pH 8 ~ 10,氯仿振荡提取 7 次(每次 20 mL),合并氯仿液,蒸干(蒸发温度 60 ~ 65),残渣加少量流动相超声溶解,转移定溶至 10 mL 量瓶中,摇匀,作为供试品溶液。取对照品、供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪中,测定样品中钩藤碱的含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (n=6)

Tab 2 Reesults of recovery determination (n=6)

| 批号 | 钩藤碱含量/μg·g ⁻¹ | RSD/ % |
|--------|--------------------------|--------|
| 051211 | 9.61 | 1.72 |
| 051212 | 9.66 | |
| 051213 | 9.36 | |
| 060702 | 9.47 | |
| 060801 | 9.38 | |
| 060402 | 9.77 | |

3 讨论

小儿七星茶冲剂的辅料为蔗糖且用量较大,直接用水溶氯仿萃取钩藤碱则乳化现象严重,而先采用甲醇超声提取,除去大部分糖分,再以水溶氯仿萃取,则可避免乳化。氯仿萃取次数经方法学考察确定为 7 次,可使回收率达 90% 以上,如减少萃取次数,则回收率较低。在实际操作中,因氯仿比重大于水,处于下层,虽萃取 7 次,但只用一个分液漏斗,故操作有一定的可行性。

钩藤碱在极性溶剂中不稳定^[2],易转变为其旋光物质异钩藤碱,实验亦证实钩藤碱对照品的甲醇溶液不稳定,色谱图上有异峰出现。为保证测定的准确,经反复实验摸索发现在采用流动相作溶剂条件下钩藤碱具有较好的稳定性,放置 3 d 也无分解的异峰出现,故钩藤碱对照品溶液制备选用流动相超声溶解的方法。

本实验建立了高效液相色谱法测定钩藤碱的方法,经回收率试验、线性试验、精密度试验等证明,该方法专属性强,重复性好,结果准确,可作为小儿七星茶冲剂中钩藤碱的含量测定方法。

参考文献:

[1] 胡晓波. 复方杜仲片中钩藤的鉴定及其钩藤碱的含量测定[J]. 中成药, 1990, 12(9): 13-14.
 [2] 原田正敏, 姜顺善. 日本常用中药的定量分析-防己, 钩藤[J].

国外医药植物药分册, 1991, 6(5): 219-221.

[3] 仲耘, 冯瑞芝. 钩藤及其同属植物生物碱含量的紫外分光, HPLC 测定[J]. 中草药, 1993, 24(9): 462-466.

[收稿日期] 2007-01-12

高效液相色谱法测定口炎清合剂中黄芩苷的含量

肖卫红¹, 洪怡², 何伟¹, 卢全德¹ (1. 武汉市第一医院, 湖北 武汉 430022; 2. 湖北中医学院, 湖北 武汉 430060)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定口炎清合剂中黄芩苷的含量。方法: 色谱柱用十八烷基硅烷键合相 Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸 (50 50 0.2), 检测波长为 277 nm, 流速 1 mL · min⁻¹, 柱温为室温。结果: 口炎清合剂中线性范围为 0.2 ~ 1.0 μg, r = 0.999 9, 平均回收率为 97.83%, RSD 为 1.63% (n=6)。结论: 方法简便、准确、重现性好, 可作为该制剂的含量测定方法。

[关键词] 口炎清合剂; 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)12-1784-02

口炎清合剂系本院制剂, 主要由黄芩, 金银花, 野菊花, 连翘, 陈皮, 鱼腥草组成, 临床用于牙周炎, 牙龈红肿, 口腔溃疡等, 临床应用近 10 年, 效果显著, 本制剂采用蒸馏法收集芳香水后再加水煎煮浓缩制成。为了有效控制本品质量, 本实验采用高效液相色谱 (HPLC) 法对黄芩苷进行含量测定^[1-2], 现报道如下。

1 材料

高效液相色谱仪: 美国光谱物理公司 SP2000 泵, UV1000 紫外检测器, DataJet 数据处理机, CQ-250 超声波仪 (上海超声波仪器厂); 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0715-200010); 供试品 (武汉市第一医院制剂中心, 批号 050211, 050212, 050213, 050310, 050311, 050312, 050313, 050314, 050315); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸 (50 50 0.2); 检测波长: 277 nm; 柱温: 室温; 流速: 1 mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 7 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理使其溶解, 放至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密吸取本品 10 mL 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取本品 1 mL 置 10 mL 的量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀即得。

2.4 线性关系的考察 精密称取黄芩苷对照品 9.76 mg 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声使溶解, 放冷并稀释至刻度, 分别精密吸取 2, 4, 6, 8 mL 至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别得到质量浓度为 19.52, 39.04, 58.56, 78.08, 97.60 g L⁻¹ 的对照品溶液, 分别精密吸取 10 μL 注入液相

[作者简介] 肖卫红, 男, 学士, 药师, 电话: 027-85855908, E-mail: xiaoweihong2005@sina.com

