

3.4 胡薄荷酮的测定 在 HPLC 法测定新塔花药材中胡薄荷酮含量时, 比较了加热回流与超声的方法进行提取, 结果表明加热回流提取时, 挥发油受热易挥发而使测得的结果偏低, 故选用超声提取。采用超声提取法对胡薄荷酮进行了提取 2 次和提取 3 次的考察, 结果表明甲醇 2 次提取就已完全, 故确定提取次数为 2 次。流动相选择时比较了甲醇-水(50:50)、甲醇-水(60:40)、甲醇-水(80:20)。结果甲醇-水(80:20)这一条件下胡薄荷酮出峰时间适中, 主峰的分离度、理论板数、对称性等色谱参数均符合要求, 故确定为本研究的色谱条件。

经研究 3 个产地的新塔花药材中挥发油得率在 0.92%~1.24% 范围内变化, 总萜类成分质量分数在 64.37%~70.59% 范围内变化, 胡薄荷酮量在 0.469%~0.570% 范围内变化, 考虑到药材质量受产地、采收季节、存放和加工等因素的影响, 其中挥发油、总萜类成分、胡薄荷酮量有较大的差异, 因此有必要做进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘勇民. 维吾尔药志: 上册[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1985: 353-357.
- [2] 胡晓灵, 谢志云, 火树华, 等. 新塔花胶囊治疗稳定型心绞痛临床疗效观察[J]. 中西医结合实用临床急救, 1997, 11(4): 490-492.
- [3] 李雪, 张正方, 唐军. 唇香草挥发油的气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报, 2008, 29(2): 105-109.
- [4] 张丽, 单鸣秋, 孔铭, 等. RP-HPLC 法测定荆芥穗中胡薄荷酮的含量[J]. 中草药, 2004, 35(12): 1444-1445.
- [5] 杨建平, 包贝华, 张丽, 等. 荆芥饮片中胡薄荷酮的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9): 669-670.
- [6] 石峰, 杨伟俊, 顾政一, 等. 芳香新塔花挥发油的化学成份分析[J]. 新疆中医药, 2009, 27(1): 23-24.
- [7] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 713-714, 872.

高效液相色谱法测定白及中肉桂酸

麻秀萍¹, 杨清秋², 蒋朝晖¹, 陆崇玉¹

(1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002; 2. 安顺市西秀区人民医院, 贵州 安顺 561000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定白及中肉桂酸的方法。方法 采用 Shim-Pack VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 柱温 40℃; 以乙腈-0.1% 磷酸水溶液(29:71) 为流动相, 检测波长为 285 nm。结果 肉桂酸进样量在 0.023 2~0.208 8 μg 范围内呈良好线性关系($r=0.9999$); 平均回收率为 99.10%, RSD 为 1.83%。结论 建立的方法操作简便、灵敏、准确, 为白及药材质量控制标准的完善提供科学依据。

关键词: 白及; 肉桂酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)09-1631-03

白及系兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的干燥块茎, 多年生草本, 分布于贵州、四川、湖南、江苏等地, 具收敛止血、消肿生肌之功效^[1], 并收载于中国药典。临床上广泛用于治疗咳血吐血、外伤出血疮疡肿毒、皮肤皲裂、结核咳血、溃疡病出血等, 疗效显著。白及含黏液质、对羟基苯甲酸、原儿茶酸、肉桂酸(Cinnamic acid)、联苯类等化合物^[2-3]。目前, 药典只收载其显微鉴定及薄层鉴别, 未见有定量测定的报道。李及等人曾对白及中的大黄素甲醚进行定量测定, 因其量甚微, 没有检测的实际意义^[4]。肉桂酸具有抗菌、真菌作用和升高白细胞作用, 是本品的有效成分之一^[5]。故本实验采用 HPLC 法测定白及中肉桂酸, 并进行方法学考察, 结果表明建立的方法前处理简便, 专属性强, 测定结果准确、稳定, 为白及药材质量控制标准的完善提供科学

依据。

1 仪器和材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(四元泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、化学工作站); 肉桂酸对照品(C₉H₈O₂, 编号 0786-9802, 中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用), 乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂为分析纯。

白及药材采于贵州省关岭县, 采集时间为 2007 年 11 月, 经贵阳中医学院董立莎教授鉴定为药典品种兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的新鲜块茎。鲜品洗净, 部分去皮, 皮与去皮块茎分别低温烘干, 皮为 1 号样品, 去皮块茎为 2 号样品; 鲜品洗净, 切片, 烘干, 为 3 号样品; 鲜品按药典的炮制方法, 蒸至无白心, 去皮, 切片, 烘干, 为 4 号

收稿日期: 2010-08-09

作者简介: 麻秀萍(1971—), 女(苗族), 副教授, 从事分析化学和中药制剂分析的教学、科研工作。Tel: (0851) 5601577, E-mail: mxp001130@sina.com.cn

样品。将4份样品粉碎,过60目筛备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱为 Shim-Pack VP-ODS(4.6 mm × 150 mm 5 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(29:71);柱温40℃;检测波长为285 nm。理论塔板数按肉桂酸峰计不低于4 000。在此色谱条件下,肉桂酸与其他色谱峰完全分离,峰形较好。见图1。

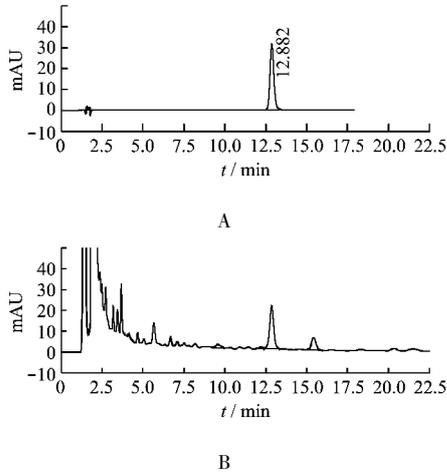


图1 肉桂酸(A)与白及药材供试液(3号样品)(B)色谱图

2.2 对照品溶液的制备 精密称取肉桂酸对照品适量,甲醇溶解,摇匀,制成每1 mL含肉桂酸10 μg的对照品溶液。

2.3 供试液制备 取白及粉末1.0 g,精密称定,精密加入70%甲醇溶液25 mL,称定质量,超声提取30 min(功率250 W,频率33 kHz),放冷,再称定质量,并用70%甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察 精密吸取一系列质量浓度肉桂酸对照品溶液分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以峰面积为横坐标,进样量为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 1.43799 \times 10^{-7} X - 0.000435843$ ($r = 0.9999$),肉桂酸进样量在0.023 2~0.208 8 μg范围内,线性关系良好。

2.4.2 精密度实验 精密吸取肉桂酸对照品溶液(11.6 μg/mL)10 μL,按上述色谱条件连续进样5次,测定峰面积,RSD值为1.02%。

2.4.3 重复性试验 取白及粉末(3号样品)按2.3项方法分别制备6份供试液,测定峰面积,计算白及药材中肉桂酸的平均质量分数为268.16 μg/g,RSD为1.15%。

2.4.4 稳定性实验 取同一供试液,按上述色谱条件分别于0、2、4、6、8 h测定肉桂酸峰面积,RSD值为1.56%,结果表明白及供试液至少在8 h内测定稳定。

2.4.5 加样回收试验 取0.5 g白及粉末(3号样品)6份,精密称定,分别精密加入肉桂酸对照品适量,按2.3项方法制备供试液,照上述色谱条件测定峰面积,结果见表1。

2.5 样品测定 分别取不同加工方法和购于不同产地的白及,按2.3项方法制备供试液,照上述色谱条件测定,每个样品测定3份,计算质量分数,结果见表2。

表1 加样回收试验结果(n=6)

称样量/g	含肉桂酸的量/μg	加入肉桂酸的量/μg	测得量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.500 7	134.19	132.5	262.44	96.79		
0.500 2	134.05	132.5	267.40	100.63		
0.501 3	134.35	132.5	264.79	98.45	99.10	1.83
0.500 9	134.24	132.5	263.28	97.39		
0.502 3	134.62	132.5	267.30	100.12		
0.501 2	134.32	132.5	268.42	101.21		

表2 白及药材中肉桂酸测定结果(n=3)

样品	平均质量分数/(μg/g)	RSD/%
1(皮)	256.48	1.10
2(去皮块茎)	164.72	1.33
3(生品)	268.16	1.15
4(蒸制品)	85.08	1.23
芝林大药房	41.46	1.55
同济堂药房	43.55	1.46
万东桥药市	19.32	1.67

3 结果与讨论

3.1 提取条件的筛选 由于肉桂酸易溶于乙醚、丙酮、甲醇、苯等溶剂中,本实验比较了乙醚、甲醇、50%甲醇、70%甲醇,分别超声提取30 min的提取效果,结果以70%甲醇为提取溶剂时,提取效率高,且肉桂酸峰与其他色谱峰完全分离,故本实验选择70%甲醇溶液作为提取溶剂。另对提取时间20、30、60 min进行了考察,结果提取20 min时,量较低,提取30、60 min时的量相当,故选择提取时间为30 min。还对溶剂的用量进行了比较,定容至10 mL时,质量分数偏低,定容至50 mL时,溶液浓度过低,故定容至25 mL。

3.2 检测波长的确定 于190~400 nm波长范围对肉桂酸进行了扫描,经考察在285 nm波长处检测,肉桂酸峰灵敏度较高,其他色谱峰干扰较小,色谱峰的分离较为理想,故本实验选用285 nm作为检测波长。专属性考察采用二极管阵列检测器进行峰纯度检查,在样品色谱图中肉桂酸峰为纯峰,且溶剂对肉桂酸色谱分析均无干扰,方法的专属性强。

3.3 色谱条件的选择 比较了不同流动相的分离效果,以甲醇-0.1%磷酸溶液(25:75)为流动相时,肉桂酸峰与前一个峰的分离不佳;以乙腈-0.1%磷酸(25:75)为流动相时,肉桂酸峰对称性欠佳;根据肉桂酸峰与其前后两个峰分离情况及峰形,选择乙腈-0.1%磷酸溶液(29:71)为流动相。本实验比较了不同色谱柱 Shim-Pack VP-ODS(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); ZOBAX SB C₁₈(4.6 × 150 mm, 5 μm)的分离情况,均达基线分离。

3.4 经比较白及皮中肉桂酸量比去皮部分量高,按药典的炮制方法(蒸至无白心,去皮,烘干)炮制后的白及肉桂酸量最低。提示白及应用在抗病毒、抗菌和升高白细胞等方面时,应用其生品,且不去皮的白及效果可能更好。另对购于不同药店的白及药材进行了肉桂酸测定,结果质量分数过低,这与炮制方法相关,有待进一步研究。

致谢:贵阳中医学院徐文芬老师给予大力帮助!

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 95.
- [2] 韩广轩, 王立新, 王麦莉, 等. 中药白及的化学成分研究[J]. 药学实践杂志, 2001, 19(6): 360-361.
- [3] 韩广轩, 王立新, 顾正兵, 等. 中药白及中一新的联苯化合物[J]. 药学报, 2002, 37(3): 194-195.
- [4] 李 及, 张立新, 周世玉. 中药白及的质量标准研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(2): 57-58.
- [5] 常新全, 丁丽霞主编. 中药活性成分分析手册[M]. 北京: 学苑出版社, 2002: 674.

天山雪莲凝胶剂质量标准研究

黄贤慧¹, 邢建国^{2*}, 王新春^{1,3}, 袁 勇³, 陈卫军³

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004; 3. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

摘要: 目的 建立天山雪莲凝胶剂质量标准。方法 用薄层色谱法进行定性鉴别; 高效液相色谱法同时测定天山雪莲凝胶剂中的绿原酸和芦丁。结果 薄层鉴别的色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰; 定量测定绿原酸质量浓度在 2.4 ~ 48.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 101.18%, RSD 为 0.57% ($n=6$); 芦丁质量浓度在 3.25 ~ 65.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 102.12%, RSD 为 1.41% ($n=6$)。结论 定性、定量方法简便、可靠、准确, 能有效控制天山雪莲凝胶剂的质量。

关键词: 天山雪莲凝胶剂; 高效液相色谱法; 薄层色谱法; 绿原酸; 芦丁

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)09-1633-03

天山雪莲凝胶剂由天山雪莲单味药材制成的维药新制剂, 具有补肾活血, 强筋骨, 营养神经, 调节异常体液等功效^[1], 是治疗风湿性关节炎, 关节疼痛的有效药物^[2-3]。绿原酸和芦丁是天山雪莲中主要药效成分^[4-5]。为有效控制制剂质量, 本试验建立了同时测定天山雪莲凝胶剂中绿原酸和芦丁的高效液相色谱法和鉴别天山雪莲凝胶剂中绿原酸和芦丁的薄层色谱法, 结果所建立的方法准确、可靠、专属性强, 能有效控制天山雪莲凝胶剂的质量, 为天山雪莲凝胶剂质量标准的研究提供了实验依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪 (LC-20AT 二元高压泵, SPD-M20A 二极管阵列检测器, SIL-20A 自动进样器); pH 酸度计 (上海雷磁仪器厂); NDJ-1 旋转黏度计 (上海精密科学仪器有限公司); AE-200 电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); Millipore simplicity-185 超纯水器 (美国密理博公司)。绿原酸对照品 (批号: 110753-200413), 芦丁对照品 (批号: 100080-200707) 均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、乙腈为色谱纯 (SK Chemicals 公司), 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。天山雪莲凝胶剂由石河子大学药学院制备。

2 方法与结果

2.1 性状 本品为棕黄色半固体, 均匀且细腻, 稠度适宜, 涂展性好。

2.2 检查

2.2.1 pH 值 称取凝胶剂约 1.0 g, 用 10 g 蒸馏水稀释, 在室温下测定 pH, 范围为 5.5 ~ 6.5。

2.2.2 黏度 采用 NDJ-1 旋转黏度计 (1 号转子, 12 r/min) 室温测定, 结果为 (183 ± 6) MPa · s。

2.2.3 其他 应符合凝胶剂项下的有关各项规定 (《中国药典》2010 版一部附录 IQ)。

2.3 定性鉴别^[6] 取本品约 0.25 g, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇 10 mL, 超声 5 min, 离心, 取上清液作为供试品溶液。同法处理空白凝胶, 作为阴性对照溶液。另取天山雪莲药材约 1.0 g, 加入 70% 乙醇 50 mL, 回流提取 1 h, 离心, 取上清液作为对照药材溶液。再分别取绿原酸、芦丁对照品适量, 加甲醇溶解制成每 1 mL 含 0.5 mg 绿原酸和 0.5 mg 芦丁的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验^[2], 分别吸取上述 5 种溶液各 10 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水 (10:6:1:2) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 0.1% 亚硝酸钠的 1% 甲醇溶液, 加热至斑点显色清晰。结果, 供试品色谱在与对照品溶液色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点, 而阴性对照品溶液无此斑点, 见图 1。

收稿日期: 2010-12-27

基金项目: 自治区科技支撑计划项目 (201091156); 国家自然科学基金项目 (30960528)

作者简介: 黄贤慧 (1986—), 女, 硕士研究生。

* 通信作者: 邢建国, 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中西药物新制剂与新剂型。Tel: 13999178585, E-mail: xjguodd@163.com