

HPLC 测定梓木草饮片中尿囊素的含量

徐志红^{1,3}, 贾晓斌^{1,2*}, 陈磊垚³

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 江苏省中医药研究院中药新型给药系统重点实验室, 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 南京 210028;
3. 南京市中西医结合医院, 南京 210014)

[摘要] 目的:建立梓木草饮片中尿囊素含量测定的方法。方法:采用 HPLC 测定。色谱柱 Hypersil ODS-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(5:95),流速 0.2 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm,柱温 30 ℃,进样量 20 μL。结果:尿囊素在 12.32~61.60 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);尿囊素平均加样回收率为 98.1%,RSD 1.55%($n=6$)。结论:该方法可以作为梓木草饮片的质量控制,不同产地梓木草饮片中尿囊素含量差异较大。

[关键词] 梓木草; HPLC; 尿囊素; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)23-0112-03

Determination of Allantoin in Lithospermum Zollingeri by HPLC

XU Zhi-hong^{1,3}, JIA Xiao-bin^{1,2*}, CHEN Lei-yao³

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;
2. Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine of Chinese Medicine Key Laboratory of New Drug Delivery System, The Key Unit of Chinese Medicine DDS of SATCM, Nanjing 210028, China;
3. Nanjing Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Nanjing 210014, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of allantoin in *Lithospermum zollingeri*. **Method:** Separation and determination of allantoin were accessed by using an ODS-C₁₈ column and a mobile phase of methanol-water at a ratio of 5:95. The flow rate was 0.2 mL·min⁻¹, temperature at 30 ℃ and detection wavelength at 210 nm. **Result:** A good linearity of allantoin was achieved in the range of 12.32-61.60 μg ($r=0.999\ 9$). The mean value of recovery was 98.1%, RSD was 1.55%. **Conclusion:** The method in this paper could provide an evidence for quality control of *L. zollingeri* and there is comparatively large difference of content of allantoin in *L. zollingeri* from different producing areas.

[Key words] *Lithospermum zollingeri*; HPLC; allantoin; content determination

梓木草为紫草科植物梓木草 *Lithospermum zollingeri* DC. 的干燥全草,主要分布于江苏、四川、安徽、甘肃、贵州、浙江、陕西以及日本、朝鲜等地,具有健脾化痰、消肿散结的功效,主治疗痢,尤其适用于初、中期痢病患者^[1]。近年来研究发现梓木草具

有治疗肺结核、淋巴结核的作用^[2],有关梓木草化学成分、药理作用的研究报道也日益增多^[3],但未见关于控制梓木草饮片质量的报道。为了保证饮片使用的质量,本实验对梓木草饮片的活性成分尿囊素进行了定量研究,初步建立了梓木草饮片的含量测定方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),VWD 检测器;FA2004 型电子天平(上海料科天平),KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

[收稿日期] 20120728(018)
[第一作者] 徐志红,主管中药师,硕士,从事中药制剂及质量控制研究, Tel:025-84431057, E-mail: rowlandh@163.com
[通讯作者] * 贾晓斌,研究员,博士生导师, Tel: 025-85637809, E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

1.2 试剂与药材 尿囊素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110715-200210),梓木草饮片(南京药业股份有限公司提供),甲醇为色谱醇,其他试剂均为分析醇,水为乐百氏纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil ODS- C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μ m),流动相甲醇-水(5:95),流速 0.2 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 20 μ L。该条件下色谱峰可达到良好的分离。理论塔板数按尿囊素计算不低于 3 000,分离度>1.5。色谱图见图 1。

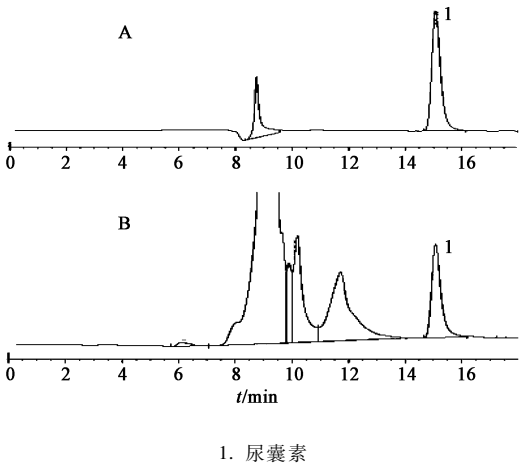


图 1 对照品(A)梓木草(B)HPLC

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取置于干燥器干燥 48 h 以上的尿囊素对照品适量,加 70% 乙醇制成每 1 mL 含尿囊素 0.246 4 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取梓木草饮片粗粉约 5 g,精密加入 10 倍量 70% 乙醇,超声提取 3 次,每次 30 min,过滤,合并滤液浓缩,用 70% 乙醇定容至 100 mL。滤液经 0.45 μ m 的滤膜滤过,备用。

2.3 线性关系的考察 精密吸取上述对照品溶液(0.246 4 g·L⁻¹)0.5,1,1.5,2,2.5 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀。分别精密吸取上述 5 种不同质量浓度对照品溶液 20 μ L,按上述色谱条件测定峰面积,以对照品浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,计算得回归方程为 $Y = 91.90 X - 2.28 (r = 0.999\ 94)$ 。结果表明,尿囊素质量浓度在 12.32~61.60 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取质量浓度为 24.64 mg·L⁻¹ 的对照品溶液 20 μ L,注入液相色谱仪,连续进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD 0.35%,结果表明本方法的精密度良好。

2.5 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液

20 μ L,分别于 0,4,8,12,18,24 h 进样,记录峰面积,计算 RSD 1.04%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批梓木草饮片 10 g,精密称定,共 6 份,按供试品溶液的制备方法制备,测定含量,尿囊素平均含量为 17.49 mg·g⁻¹,RSD 1.20%,表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 称取同一批已知含量的梓木草饮片(尿囊素含量为 22.17 mg·g⁻¹)0.5 g,平行 6 份,精密称定,置圆底烧瓶中,分别精密加入新配制质量浓度为 2.28 g·L⁻¹ 对照品溶液 5 mL,按 2.2.2 项下方法制备,依法测定,结果回收率平均值为 98.1%,RSD 1.55%。

2.8 样品的含量测定 精密称取 10 批梓木草饮片,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定,结果见表 1。

表 1 梓木草饮片中原尿素的含量 mg·g⁻¹

产地	尿囊素
江苏	18.19
江苏	19.46
江苏	22.17
江苏	20.89
福建	17.06
福建	18.22
福建	16.53
陕西	17.61
陕西	19.31
陕西	18.21

3 讨论

梓木草为我院瘰癧科治疗淋巴结核的常用药,尿囊素是目前从梓木草中分离出来的成分之一,具有抗刺激物、麻醉镇痛、和消炎抑菌等作用^[4],因此其含量可反映梓木草的内在质量。尿囊素极性较大,易溶于水和乙醇中^[5],本实验考察了不同溶剂水和乙醇(50%,70%,90%)提取梓木草对尿囊素含量的影响,结果 70% 乙醇中尿囊素的含量最高,故选用 70% 乙醇作为提取溶剂,这正符合文献报道的用酒泡梓木草可以治疗淋巴结核,疗效显著^[6-7]。根据紫外扫描图谱,尿囊素在 210 nm 处有最大吸收波长,且样品峰无干扰。考察了不同比例的甲醇-水和乙腈-水等^[8-11],结果甲醇-水(5:95)分离效果最好。样品的含量测定中不同产地梓木草尿囊素的含量差异较大,临床用药应引起重视。

HPLC 测定驱白白热斯酊中补骨脂素和异补骨脂素的含量

范晓雯,马清河,李海齐,戴秀勇*
(新疆华圣元医药科技有限公司,乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:建立驱白白热斯酊中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定方法,以控制该产品的质量。方法:采用 HPLC 法,Scienhome kromasil ODS-1 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温 40℃,流动相甲醇-水(55:45),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 246 nm。结果:补骨脂素和异补骨脂素分别在 6.12~18.36 mg·L⁻¹,在 6~18 mg·L⁻¹ 线性关系良好,相关系数分别为 $r_{\text{补骨脂素}}=0.999\,0$, $r_{\text{异补骨脂素}}=0.999\,1$ 。两组份的回收率分别为补骨脂素 101.57%,RSD 1.6%;异补骨脂素 100.39%,RSD 1.5%。结论:该法可同时测定补骨脂素和异补骨脂素,方法简便易行、准确可靠,可用于驱白白热斯酊的质量控制。

[关键词] 补骨脂素;异补骨脂素;驱白白热斯酊;HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)23-0114-03

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Qubaibairesi Tincture by RP-HPLC

FAN Xiao-wen, MA Qing-he, LI Hai-qi, DAI Xiu-yong*
(Xinjiang Huashengyuan Medicine Technology Co Ltd, Uruonqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a reversed-phase HPLC method for the determination of psoralen and isopsoralen in Qubaibairesi tincture. **Method:** The method of RP-HPLC was carried out with Scienhome kromasil ODS-1 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm); the flow rate of the mobile phase of methanol-water (55:45) was 1.0 mL·min⁻¹; the column temperature was maintained at 40℃ and the detection wavelength was set at 246 nm. **Result:** The linear ranges of psoralen and isopsoralen were 6.12-18.36 mg·L⁻¹ ($r=0.999\,0$) and 6-18 mg·L⁻¹ ($r=$

[收稿日期] 20111227(006)
[第一作者] 范晓雯,学士,主管中药师,从事中药新药研发,Tel:13999227728,E-mail: jyan712@163.com
[通讯作者] *戴秀勇,学士,制药工程高级工程师,从事新药开发,Tel:13565836898,E-mail: dxy315@yahoo.com.cn

[参考文献]

[1] 苏青华,张水利,韩召会.《本草纲目拾遗》毛叶仙桥及猫舌仙桥考释[J].浙江中医药大学学报,2012,36(1):74.

[2] 胡万春,杨念云,邓涛.梓木草全草的化学成分[J].中南药学,2008,6(4):437.

[3] 张现涛,殷志琦,叶文才,等.梓木草的化学成分[J].中国天然药物,2005,3(6):357.

[4] 张芳芳,李伟东,杨光明,等. HPLC 法测定麸炒山药饮片 中尿囊素的含量[J].南京中医药大学学报,2010,26(2):146.

[5] 夏曙辉,闫冰,郁靓,等. HPLC 法测定尿囊素乳膏的含量[J].中国药师,2007,10(3):265.

[6] 张莉,刘继春,杜亮,等.梓木草药酒配合抗癆药物治

疗颈部淋巴结核[J].河北医学,2001,7(1):729.

[7] 夏公旭.梓木草酒治疗淋巴结核 60 例疗效观察[J].新中医,1997,29(1):17.

[8] 黄玉仙,易骏,吴岩斌,等.不同山药种质资源的尿囊素含量比较研究[J].福建中医药,2011,42(2):50.

[9] 刘玉强,甄毕贤,才谦.不同地区白术药材及饮片 中白术内酯Ⅱ的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):120.

[10] 李伟东,刘雪东,杨光明,等.山药片质量标准研究[J].南京中医药大学学报,2012,26(6):462.

[11] 刘瑞,张振秋,李伟铭,等.连翘不同产地与不同炮制 品中 4 种成分的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(14):83.

[责任编辑 顾雪竹]