

蒸发光散射—高效液相色谱法测定三叶木通中 齐墩果酸的含量

刘一兵^{1*}, 罗晋萍², 张静静³

(1. 山西省晋中市药品检验所, 晋中 030600; 2. 山西省药品检验所, 太原 030001;

3. 山西省忻州市药品检验所; 忻州 034000)

[摘要] 目的: 建立三叶木通中齐墩果酸的含量测定方法。方法: 采用蒸发光散射—高效液相色谱法。流动相乙腈-水 (90:10)。漂移管温度 50℃, 压力 3.7 bar。结果: 齐墩果酸在 1.023 ~ 10.23 μg 范围内呈良好的线性关系。平均回收率 100.8%, RSD 为 1.4% (n=6)。结论: 方法可靠, 简单易行, 为控制木通的内在质量提供了科学依据。

[关键词] 三叶木通; 齐墩果酸; 蒸发光散射—高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0038-02

三叶木通具有清热利尿、通经活络、镇痛、排脓、通乳的功效^[1]。根含皂苷, 水解得齐墩果酸及葡萄糖、鼠李糖。研究发现, 齐墩果酸为苷元的五环三萜类皂苷是三叶木通主要有效成分之一^[2]。关木通用

药标准被取消后, 三叶木通作为木通广泛应用。

由于齐墩果酸结构中无共轭系统, 在紫外末端有吸收, 用紫外检测器测定时, 受溶剂干扰较大, 杂质峰较多, 分离难度大。我们采用 ELSD-HPLC 法对木通中齐墩果酸的含量进行测定, 结果方法重复性好, 操作简便, 可有效控制其质量。

[收稿日期] 2009-05-25

[通讯作者] * 刘一兵, Tel: (0354) 3035576

1 仪器与试药

8 000 ppm, 4 h 则因麻醉而死亡^[4]。本实验在中药材菘蔚子挥发油中发现有环己酮这一化合物, 在此之前还未见其他文献报道, 因此长期服用此中药是否会产生毒副作用有待我们密切观察及进一步深入研究。

3.3 本试验结果希望对评价菘蔚子挥发油的价值, 进一步利用开发菘蔚子资源提供依据。

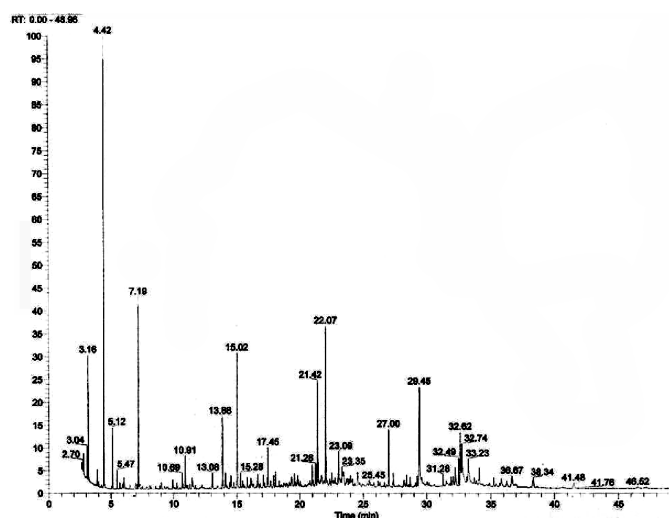


图 3 江西菘蔚子挥发油总离子流图

工业的原料。在一次性使用输液器、静脉输液针厂用于零配件的连接组装^[4]。经动物实验, 吸入高浓度环己酮气后轻者嗜睡继之全身血管扩张、出现低血压, 重者呼吸循环衰竭, 最后可导致死亡^[3]。另外樊加才等报道环己酮经大鼠口服给药 LD₅₀ 为 1 620 mg · kg⁻¹, 吸入 4 000 ppm, 4 h 无死亡; 吸入

[参考文献]

- [1] 赵丽娟, 李铁纯, 丁旭光, 等. 木蝴蝶挥发油成分的研究[J]. 化学工程师, 2002, 88(1): 47.
- [2] 孙艳, 路军章. GC-MS 法鉴定银柴胡挥发油的化学成分[J]. 解放军药学学报, 2003, 19(6): 473.
- [3] 刘桂治, 李丽华, 吴德海. 环己酮中毒动态血液检查结果分析病例报告[J]. 实用医技杂志, 2002, 9(9): 670.
- [4] 樊加才, 罗直智, 张军, 等. 简述环己酮中毒与预防[J]. 职业与健康, 1999, 15(3): 20.

1.1 仪器 Waters-2695(美国)-ELSD(法国)。

1.2 对照品 齐墩果酸 购于中国药品生物制品检定所(批号:0709-9803)。

1.3 供试品 木通药材,购于河北安国,经山西省药品检验所高天爱老师鉴定为三叶木通 *Akebia trifoliolate*(Thunb.) Koidz 的藤茎。

1.4 试剂 乙腈为色谱纯;水为纯化水;其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:大连依利特 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×200 mm, 5 μm)。流动相:乙腈 水(90 10)。蒸发光散射检测器压力 3.7Bar, 漂移管温度 50。理论塔板数按齐墩果酸计算应不低于3 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品,加甲醇制成 1 mg · mL⁻¹ 的溶液,摇匀,即得。

2.3 线性关系的考察 取对照品(1.023 mg · mL⁻¹) 的溶液,分别进样 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL 进行测定。以 *m* 与 *A* 的对数函数为横、纵坐标,绘制标准曲线。回归方程: $\log A = 1.4833 \log m + 5.4244$ ($r = 0.9999$)。结果表明,齐墩果酸在 1.023 ~10.23 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.4 供试品溶液的制备 取本品,粉碎,过四号筛,取约 1.0 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,超声处理(250 W, 33 kHz) 30 min,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,滤过,精密量取续滤液 25 mL 浓缩至干。残渣加水 20 mL,浓盐酸 2 mL,水浴中水解 1 h,取出,放冷,转移至分液漏斗中,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 20 mL,合并三氯甲烷提取液,蒸干,残渣加甲醇适量使溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度。摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过,取续滤液即得。

2.5 精密度实验 吸取同一供试品溶液,依法测定,连续进样 6 次,进样量 20 μL。测得峰面积的 RSD 为 1.9% ($n=6$)。结果精密度良好。

2.6 稳定性实验 取同一供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样。结果峰面积的 RSD 为 0.7% ($n=6$)。供试品溶液中齐墩果酸在 10 h 内基本稳定。

2.7 重复性实验 取同一样品 6 份,分别按供试品溶液的制备方法制备。依法进行测定。结果 RSD = 1.8% ($n=6$)。说明本方法重现性良好。

2.8 加样回收率实验 取已知含量(1.721 2 mg · g⁻¹) 的样品 0.5 g,精密称定。精密

量取齐墩果酸对照品甲醇溶液 50 mL (0.019 4 mg · mL⁻¹),按供试品溶液制备方法制备,依法测定,计算回收率。结果平均回收率为 100.8%, RSD = 1.4% ($n=6$)。见表 1。

表 1 回收率测定

测定次数	取样量(g)	测得量(mg)	样品中含量(mg)	对照品加入量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.504 7	1.847 4	0.868 7	0.97	100.9		
2	0.504 1	1.846 4	0.867 6	0.97	100.9		
3	0.502 2	1.837 6	0.864 4	0.97	100.3		
4	0.504 5	1.861 4	0.868 3	0.97	102.4	100.8	1.4
5	0.504 6	1.854 3	0.868 5	0.97	101.6		
6	0.503 5	1.812 6	0.866 6	0.97	98.4		

3 讨论

3.1 流动相的选择 实验过程中,曾参考 HPLC-ELSD 法测定黄芪甲苷的流动相:乙腈 水(32 68),未检出。试用乙腈 水(65 35);乙腈 水(80 20)等流动相,色谱峰均不理想,而未被采用。经摸索以乙腈 水(90 10)为流动相分离效果较好,且保留时间短。

3.2 提取方法的选择 实验中曾试用酸性甲醇超声提取样品,但是滤液蒸干后难以转移,无法定量操作。由于皂苷易溶于甲醇,经水解得齐墩果酸,所以采用加酸水解方法提取。

3.3 分别考察提取溶剂(甲醇)加入量(25, 50, 100 mL);超声提取时间(20, 40, 60 min);水解加入盐酸量(1, 2, 3 mL);水解时间(0.5, 1, 2 h)以及三氯甲烷萃取次数(3, 4, 5 次),结果以本文提取方法提取完全、省时且节约能源为最佳方法。

3.4 目前木通中齐墩果酸含量测定的方法多采用薄层扫描法,高效液相色谱法^[2]若采用 HPLC-紫外检测器进行检测,由于齐墩果酸仅在 210 nm 有弱的末端吸收,因而操作条件须十分严格,噪音对结果影响也较大。蒸发光散射检测是使流动相溶剂喷物汽化,进入漂移管后溶剂挥发,而被分析检测的物质颗粒经散射光进行散射,散射光由光电倍增管收集得到响应,由被分析物质的颗粒的数量和大小决定光散射检测器的响应大小,而不受流动相溶剂的干扰^[3]。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S] 一部,北京:化学工业出版社,2005: 43.
- [2] 王晔,鲁静,林瑞超. 三叶木通藤茎的化学成分研究[J]. 中草药,2004, 35(5): 495.
- [3] 谭永红,姜云平. 高效液相色谱法测定胃炎停胶囊中齐墩果酸,熊果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志,2004,24(2): 71.