

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 °C, 进样量 20 μL。结果: 尿囊素在 12.32 ~ 61.60 μg 呈良好的线性关系 ($r=0.9999$); 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 °C and detection wavelength at 210 nm. **Result:** A good linearity of allantoin was achieved in the range of 12.32-61.60 μg ($r=0.9999$). 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 仪器与试剂

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。

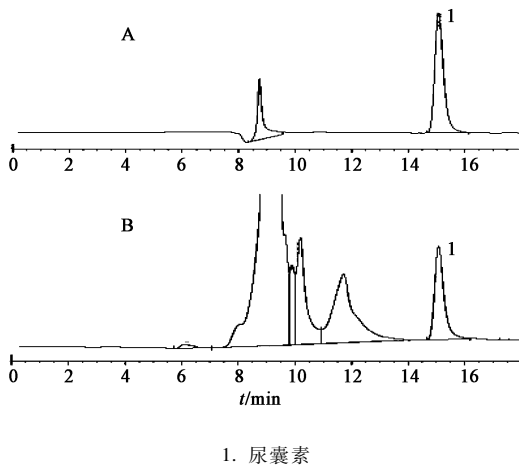


图 1 对照品(A)梓木草(B)HPLC

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,峰面积积分为纵坐标,计算得回归方程为 $Y = 91.90X - 2.28$ ($r = 0.999\ 94$)。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 梓木草饮片中尿囊素的含量 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

梓木草为我院瘰疬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 °C, 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 $r_{\text{补骨脂素}} = 0.9990$, $r_{\text{异补骨脂素}} = 0.9991$ 。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, Uruoqi 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 °C 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 ($r = 0.9990$) 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原尿囊素的含量[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原尿囊素的含量测定[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]