

HPLC 测定海南青牛胆中盐酸巴马汀的含量

吴丽媛¹, 张鹏威², 董琳², 刘明生^{3*}, 袁中文¹, 周郁斌¹

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 海南医学院药学院, 海口 571101;
3. 海南省南药黎药研究院, 海口 571101)

[摘要] 目的: 建立海南青牛胆药材中盐酸巴马汀的 HPLC 含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, 流动相为乙腈-0.4% 三乙胺水溶液 (24:76), 用磷酸调 pH 至 4.0, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 347 nm, 柱温 40℃。结果: 盐酸巴马汀在线性范围 0.006~0.15 mg ($r=0.9999$)。平均回收率为 99.8%, RSD 0.8%。结论: 该测定方法精密度高, 重复性好, 可作为海南青牛胆中盐酸巴马汀的含量测定方法。

[关键词] 海南青牛胆; 盐酸巴马汀; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)08-0075-03

HPLC Determination of Palmatine Hydrochloride in *Tinospora hainanensis*

WU Li-yuan¹, ZHANG Peng-wei², DONG Lin², LIU Ming-sheng^{3*}, YUAN Zhong-wen¹, ZHOU Yu-bin¹

(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. College of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou 571101, China;
3. Hainan Provincial Institute of South and Li Medicine Development & Research, Haikou 571101, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of palmatine hydrochloride in *Tinospora hainanensis*. **Method:** HPLC method was applied on Agilent TC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at 40 °C with acetonitrile-0.4% triethylamine (24:76) and adjusts pH with phosphoric acid to 4.0 as the mobile phase; detected wavelength was at 347 nm, and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The linear range of palmatine chloride was 0.006-0.15 mg ($r=0.9999$). The average recovery was 99.8% and RSD was 0.8%. **Conclusion:** This determination method is accurate and reproducible, which can offer a suitable method for the determination of palmatine hydrochloride in *T. hainanensis*

[Key words] *Tinospora hainanensis*; palmatine hydrochloride; HPLC; determination

海南青牛胆 *Tinospora hainanensis* H. S. Lo et Z. X. Li. 为防己科青牛胆属植物, 为海南特有种, 别名松筋藤, 黎药名肖稔。药用部位为其干燥茎, 在海南有长期的食用历史。具有镇痛、肌松、抗炎、抗菌

之功效。黎族地区用其藤茎松弛肌肉紧张, 并可治疗跌打损伤^[1]。海南青牛胆的化学成分主要包括甾酮类化合物和季铵类生物碱。研究发现甾酮类化合物具有防治骨质疏松的功效, 能显著地抑制钙的流失和促进成骨细胞的形成, 可改善因钙流失或成骨细胞合成受阻而造成的骨质疏松^[2]。季铵类生物碱具有抗炎、抗菌、止痛和肌松等作用^[3]。其中巴马汀碱对痢疾杆菌、大肠杆菌、乙型链球菌和亚洲甲型流感病毒均有抑制效果, 具有清热解暑作用, 能治疗多种炎症^[4], 另外还具有促进血液循环和活血化瘀的作用^[5]。为充分利用海南青牛胆这一资源, 控制其质量, 本研究建立了 HPLC 测定海南青牛胆

[收稿日期] 20110927(007)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2007BA127B05)

[第一作者] 吴丽媛, 研究生, 从事热带药用植物(南药黎药)研究与开发, Tel: 020-39358312, E-mail: wuliyuan3@163.com

[通讯作者] * 刘明生, 教授, 博士生导师, 从事热带药用植物(南药黎药)研究与开发, Tel: 0898-65232366, E-mail: mingsliu2002@yahoo.com

中盐酸巴马汀含量的方法。

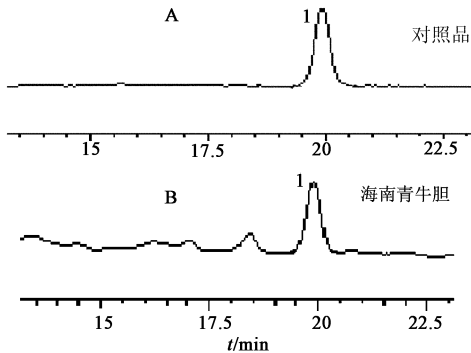
1 材料

1.1 仪器 SHIMADZU LC-2010AHT 高效液相色谱仪(紫外检测器,LC-solution 色谱工作站),色谱柱为 Agilent TC-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), CascadeIX 超纯水器(美国 PALL 公司),FA-1104 型电子天平(110 g/0.000 1 g,德国赛多利斯仪器有限公司),KH5200DE 型数控超声波清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司)。

1.2 试药 盐酸巴马汀对照品(批号 100080-200707,中国药品生物制品检定所提供),甲醇、乙腈(色谱纯,SIGMA 公司),磷酸、盐酸和三乙胺(AR,广东光华化学工厂有限公司),水为超纯水。海南青牛胆药材采自海南省文昌市,由中国医学科学院药用植物研究所海南分所陈伟平教授鉴定。

2 方法和结果

2.1 色谱条件选择和系统适用性实验 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.4% 三乙胺水溶液(24:76),用磷酸调 pH 至 4.0,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 347 nm,柱温 40 °C,见图 1。



1. 盐酸巴马汀

图 1 盐酸巴马汀色谱图

2.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸巴马汀对照品适量,加甲醇制成 0.006 g·L⁻¹的溶液,微孔滤膜(0.45 μm)过滤即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥海南青牛胆细粉 1.0 g,置于 50 mL 锥形瓶,加入含 1% 盐酸的甲醇溶液 50 mL,称重,静置 30 min 后,超声 40 min,补提取液至初重,微孔滤膜(0.45 μm)过滤即为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 盐酸巴马汀对照品溶液进样量分别为 1,5,10,15,20,25 μL,在上述色谱条件下测定,以进样质量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得标准曲线 $Y = 4.09 \times 10^6 -$

1.02×10^2 ($r = 0.999 9$),结果表明盐酸巴马汀在 0.006 ~ 0.15 mg 呈良好的线性关系。

2.5 密度试验 对照品溶液连续进样 5 次,进样量 10 μL,测定盐酸巴马汀峰面积结果 RSD 1.19%。

2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液分别在 0,2,4,8,12,24 h 进样测定,每次进样 10 μL。所得盐酸巴马汀的峰面积 RSD 1.94%。说明供试品溶液中盐酸巴马汀含量在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批药材细粉,平行制备供试品溶液 5 份,分别进样,每次进样 10 μL。测定盐酸巴马汀峰面积,结果 RSD 1.59%。

2.8 加样回收率试验 取同批盐酸巴马汀质量分数为 0.052 6 mg·g⁻¹的药材细粉 9 份,3 份一组,3 组分别加入 2.2 项下对照品溶液 7.0,8.5,10.0 mL,按供试品溶液制备及测定。结果见表 1。

表 1 盐酸巴马汀加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	1.001 0	0.052 7	0.042 0	0.093 4	98.7		
2	1.001 9	0.052 7	0.042 0	0.094 1	99.4		
3	1.002 6	0.052 7	0.042 0	0.094 0	99.2		
4	1.002 5	0.052 7	0.051 0	0.104 5	100.7		
5	1.002 4	0.052 7	0.051 0	0.103 0	99.3	99.8	0.8
6	1.001 1	0.052 7	0.051 0	0.103 2	99.6		
7	1.002 9	0.052 8	0.060 0	0.114 0	101.1		
8	1.003 3	0.052 8	0.060 0	0.113 2	100.3		
9	1.003 0	0.052 8	0.060 0	0.112 9	100.1		

2.9 含量测定 3 批药材分别按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,HPLC 测定,进样量 10 μL。结果分别为 0.052 6,0.052 9,0.053 9,0.053 4 mg·g⁻¹ 生药材。

3 讨论

实验选用了 Agilent TC-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Diamonsil(钻石二代) C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Gemini C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)3 种液相色谱柱进行了考察,Agilent TC-C₁₈ 柱分离效果及峰形最佳。考察了流动相如乙腈-KH₂PO₄(磷酸调 pH)、乙腈-磷酸、甲醇-磷酸等,柱温(20,30,35,40 °C)以及流动相的 pH(2.5,3.0,3.8,4.0,4.2)对分离效果的影响。结果显示,温度及 pH 对峰形对称度及保留时间影响明显。最后,通过综合的比较不同参数色

竭红跌打凝胶膏剂中阿魏酸的测定

谢清春¹, 梁兆丰¹, 陈卉¹, 林世源¹, 孙美丽¹, 冯思欣¹, 班俊峰¹, 黄思玉¹, 邬威尧², 吕竹芬^{1*}

(1. 广东药学院药物研究所 广东省药物新剂型重点实验室, 广州 510006;

2. 佛山冯了性药业有限公司, 广东 佛山 528000)

[摘要] 目的:探索 HPLC 测定竭红跌打凝胶膏剂中阿魏酸的含量。方法:采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水-三乙胺(9:91:0.15)用冰乙酸调节 pH 4.0 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 316 nm, 柱温 40 °C。结果:阿魏酸在 0.631 ~ 20.20 mg·L⁻¹ 回归方程为 $A = 0.7948C + 0.0064$ ($r = 0.9997$), 平均回收率为 100.62%, RSD 3.08% ($n = 6$)。结论:该方法操作简便, 准确, 重复性良好, 可用于竭红跌打凝胶膏剂的质量控制。

[关键词] 竭红跌打凝胶膏剂; 高效液相色谱; 阿魏酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)08-0077-03

Study on Determination of Ferulic Acid in Jiehongdieda Cataplasm

XIE Qing-chun¹, LIANG Zhao-feng¹, CHEN Hui¹, LIN Shi-yuan¹, SUN Mei-li¹, FENG Si-xin¹,
BAN Jun-feng¹, HUANG Si-yu¹, WU Wei-yao², LV Zhu-fen^{1*}

(1. Institute of Material Medica, Key Laboratory of Advanced Drug Delivery of

Guangdong Province, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China;

2. Foshan Fengliaxing Pharmaceutical Co., Ltd, Foshan, 528000, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for determination off ferulic acid in Jiehong Dieda cataplasm. **Method:** Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used, acetonitrile-water-triethylamine (9:91:0.15, pH was adjusted to 4.0 by acetic acid) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength at 316 nm, and column temperature at 40 °C. **Result:** The linear response ranges were

[收稿日期] 20111205(012)

[基金项目] 广东省佛山市产学研专项资金项目(2007CT003)

[第一作者] 谢清春, 助理研究员, 从事药物新剂型与质量研究, Tel:020-39352508, E-mail: xieqchun@163.com

[通讯作者] * 吕竹芬, 教授, Tel:020-39352506, E-mail: luzhufen@163.com

谱图的分离度、拖尾因子、保留时间, 得到了最佳的色谱条件, 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.4% 三乙胺水溶液 (24:76), 用磷酸调 pH 至 4.0, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 347 nm, 柱温 40 °C。本文建立的 HPLC 法具有良好的精密度和准确性, 适合于测定海南青牛胆中盐酸巴马汀的含量, 可有效评价海南青牛胆的质量。

[参考文献]

[1] 刘明生. 黎药学概论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008:134.

[2] 海南医学院. 海南青牛胆植物总甾酮的医药用途及

其制备方法. 中国[P]. ZL 02 1 28429. 6, 2005-2-23.

[3] 吴丽媛, 关世侠, 姜月霞, 等. 海南青牛胆化学成分与药理学研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25 (3):197.

[4] 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, 1986:287, 800.

[5] Virtanen-P, Lassila-V, Söderström K O. Natural protoberberine alkaloids from *Enantia chlorantha*, palmatine, columbamine and jatrorrhizine for thioacetamide traumatized rat live [J]. Acta Amat Basel, 1998, 132(2):166.

[责任编辑 蔡仲德]