

杏香兔耳风质量标准研究

★ 毛晓敏 沈静琳 (江西中医学院 2004 级硕士研究生 南昌 330006)

★ 陈玲 武丽平 (江西中医药高等专科学校 抚州 344000)

关键词: 杏香兔耳风; 质量标准; 薄层鉴别; 高效液相色谱法; 绿原酸

中图分类号: R 284.1 文献标识码: A

杏香兔耳风为菊科植物铁灯兔耳风 *Ainsliaea macrolinidioides* Hay. 或杏香兔耳风 *Ainsliaea fragrans* Champ. 的干燥全草。主产婺源、德兴、景德镇、宜春等地。为《江西省中药材标准》1996 年版收载。杏香兔耳风含有皂苷、生物碱、酚类、黄酮类和香豆素类成分^[1]。现代研究表明杏香兔耳风含绿原酸、无羁萜酮、羊齿烯醇、三十二烷酸、二十六醇、 β 谷甾醇; 还含有黄酮类、倍半萜内酯、丁香烯和豆甾醇等^[2]。绿原酸为杏香兔耳风的有效成分之一, 是质量控制的重要指标。具有抑制透明质酸酶、抗菌抗病毒、保肝利胆等多种生物活性, 原质控标准中仅有性状及两个理化鉴别, 无定量指标。为此, 我们对杏香兔耳风的质量标准进行研究, 增加了该药的薄层色谱鉴别, 并采用 HPLC 法对药材中的绿原酸进行了含量测定, 经方法学考察, 本法操作简便, 专属性和重现性良好。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪(岛津公司); N2000 色谱数据工作站(浙江大学智能信息工程研究所); TY4010 超纯水机(南昌桃源水处理设备厂); AT330 柱温箱(天津奥特赛斯仪器有限公司); 超声波清洗器 SB2200(上海必能信超声有限公司, 功率 80 W, 频率 50 KHz); METTLER-TOLEDD ABS-265-S 型电子天平(瑞士); 939 薄层制板器(重庆南岸贝尔德仪器技术厂); 微量进样器(上海安亭微量进样器厂); TU-1901 型紫外可见分光光度计(北京普析)。

1.2 样品与试剂 绿原酸对照品(含量测定用, 110753-200212), 由中国药品生物制品检定所提供;

杏香兔耳风药材由江西京通美联药业有限公司提供(产地广西); 聚酰胺薄膜(薄层层析用)(浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂), 硅胶 H(中国青岛海洋化工集团公司), 试剂除 HPLC 用甲醇为色谱纯外, 其他均为分析纯。

2 薄层鉴别试验^[3]

供试品溶液的制备: 取本品粉末 5 g, 加 70% 乙醇 100 mL, 加热回流 1.5 小时, 放冷, 滤过, 滤液蒸至无醇味, 加水 20 mL, 用稀盐酸调节 pH 值至 2, 滤过, 滤液用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

对照品溶液的制备: 取绿原酸对照品加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

吸取上述两种溶液各 2 μ L, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以异丙醇-甲酸(10:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点(Rf 值约为 0.4), 本法可用于鉴别杏香兔耳风药材。

3 绿原酸含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: DiamonsilTM C₁₈ ODS 柱(5 μ m, 200 mm \times 4.6 mm)。流动相: 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(18: 85: 1: 0.3)。检测波长: 327 nm。流速: 1.0 ml/min。柱温: 室温。理论塔板数按绿原酸峰计算不得低于 3 000。

3.2 对照品、供试品溶液的制备 绿原酸对照品溶液的制备: 精密称取绿原酸对照品适量, 置棕色量瓶中, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 20 μ g 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 取本品粉末适量, 精密称

定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入加 50% 甲醇 50 mL,称定重量,超声提取 30 分钟,放冷,称定重量,加 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

制得的绿原酸对照品溶液和供试品溶液均在 10℃ 以下保存。

3.3 检测波长的确定 取绿原酸对照品溶液,以 50% 甲醇为空白,用 TU-1901 紫外分光光度计于 200~400 nm 范围内,进行光谱扫描,由光谱扫描图可见,绿原酸在 327 nm 波长处有吸收峰,与参考文献一致^[4]。另取绿原酸对照品溶液、供试品溶液各 20 μL,进行 HPLC 测定,结果供试品与对照品保留时间一致,并且供试品中绿原酸与其它组分能良好分离,分离度 > 1.5,故确定检测波长为 327 nm。

3.4 绿原酸线性关系考察 分别精密量取绿原酸对照品溶液(50.60 μg/mL) 1 mL、2 mL、4 mL、6 mL、8 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度。分别精密吸取 20 μL,依次进样,测定峰面积,以浓度(μg/mL)对峰面积进行线性回归,得回归方程: $y = 26\,539x - 110\,27$, $r = 0.999\,6$ 。表明绿原酸在 5.06~50.60 μg/mL 范围内有良好的线性关系。

3.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20 μL,分别于 0 小时、2 小时、4 小时、8 小时和 24 小时进样测定,结果供试品溶液的稳定性良好,在 24 小时以内测定结果稳定。

3.6 重复性试验 对同一批样品,分别取 6 份,照上述方法试验,测定样品中绿原酸含量,结果样品中绿原酸含量的 RSD 为 1.63%,表明本法重现性良好。

3.7 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的同一杏香兔耳风粉末 6 份(绿原酸含量 0.86 mg/g),分别精密加入绿原酸对照品 50% 甲醇溶液(87.6 μg/mL) 适量,按上述方法进行测定,结果表明,本法回收率良好,见表 1。

表 1 回收率试验结果

实验号	样品中绿原酸量(mg)	加入绿原酸量(mg)	测得绿原酸量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.528 2	0.350 4	0.867 1	96.71		
2	0.543 6	0.350 4	0.886 7	97.90		
3	0.537 8	0.438 0	0.970 7	98.84	98.03	1.03
4	0.518 0	0.438 0	0.953 2	99.36		
5	0.505 2	0.525 6	1.021 4	98.21		
6	0.484 4	0.525 6	0.994 9	97.13		

3.8 样品的含量测定 分别精密称取不同批次的杏香兔耳风药材,照上述方法测定,杏香兔耳风药材中绿原酸的含量分别为(%): 0.086、0.022、0.043、0.064、0.135。

4 讨论

薄层鉴别中,供试品溶液制备采用调节 pH 值至 2,过滤,滤液再用乙酸乙酯提取的方法,可以减少背景干扰。曾尝试中国药典 2000 年版一部金银花项下绿原酸鉴别的薄层板与展开剂,即薄层板为以 CMC-Na 为黏合剂的硅胶 H 板,展开剂为醋酸丁酯-甲酸-水(7: 2.5: 2.5)的上层溶液,但背景干扰大,斑点不明显。后参考有关文献采用聚酰胺薄膜,展开剂采用异丙醇-甲酸(10: 0.5),结果 Rf 值合适,斑点清晰。

含量测定中,曾对样品超声提取时间进行考察,结果表明,超声 30 分钟即可以提取完全。曾采用乙腈-0.4% 磷酸溶液(13: 87)、甲醇-2% 冰醋酸(13: 87)流动相,经实验,以本文所述流动相分离效果较好。

本试验对杏香兔耳风进行了薄层色谱鉴别,并采用高效液相色谱法测定药材中绿原酸的含量,所用方法操作简便,专属性和重现性良好,可用于控制杏香兔耳风药材的质量,并为杏香兔耳风制剂的质量控制提供了参考。

参考文献

- [1] 江西省卫生厅编. 江西省中药材标准 1996 年版[S]. 江西科学技术出版社,1997. 122
- [2] 宋友昕,吕武清. 高效液相色谱法测定杏香兔耳风药材中绿原酸含量[J]. 江西中医学院学报,2005,17(2):36
- [3] 李宗,黄振国,褚克丹. 聚酰胺薄膜分离并测定金银花及其制剂中绿原酸的含量[J]. 福建中医药,1997,28(3):16
- [4] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2000 年版一部[S]. 化学工业出版社,2000. 177

(收稿日期:2006-04-12)

欢 迎 投 稿 ! 欢 迎 订 阅 !