

RP-HPLC 法测定地不容药材中轮环藤碱的含量

★ 段建华* (广州金域医学检验中心有限公司 广州 510330)

★ 胡子帆 欧阳辉 杨世林 (中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

摘要:目的:建立高效液相色谱法测定地不容药材中轮环藤碱的含量方法。方法:采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)测定地不容药材中轮环藤碱的含量,色谱柱:Hypersil C18(5 μ m,250 mm $\times$ 4.6 mm);甲醇-水-三乙胺(77:23:0.02)为流动相;流速为1.0 mL $\cdot$ min⁻¹;紫外检测波长为282 nm;柱温为25 $^{\circ}$ C。结果:该法可测定地不容药材中轮环藤碱的含量,轮环藤碱在2.05~4.1 μ g的范围内与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率为98.84%,RSD=0.38%(n=6)。结论:该方法简便、准确,可作为地不容药材中轮环藤碱的含量测定方法。

关键词:地不容;轮环藤碱;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R 282.73 **文献标识码:**B

地不容为防己科植物地不容 *Stephania delavayi* Diels 的块根,产于我国云南东部、中部和西部,四川西部和南部等地。本种块根是云南著名的传统中草药,味苦而辛,性凉,有小毒,具有清热解毒、消痰、镇静、理气、止痛等功能。临床主要用于痈疽肿痛、喉闭、疟疾、胃痛等疾病^[1]。其化学成分主要含轮环藤碱、千金藤素、西法安生、左旋箭毒碱、异紫堇定碱、木兰花碱、轮环藤酚碱等^[2]。为更好地控制地不容药材质量,本文采用 HPLC 法对地不容药材中轮环藤碱含量进行测定。

1 仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱仪,DAD 型检测器,Mettler 分析天平(梅特勒-托利多)。轮环藤碱对照品自制(经峰面积归一法测定,含量>98%)。甲醇为色谱纯,水为蒸馏水(经 MILLIPORE 纯化仪),其余试剂为分析纯。地不容药材由安徽和堂药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil C₁₈(5 μ m,250 mm $\times$ 4.6 mm);流动相:甲醇-水-三乙胺(77:23:0.02);流速为1.0 mL $\cdot$ min⁻¹;紫外检测波长为282 nm;柱温为25 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备 取轮环藤碱对照品约10 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。

2.3 线性关系考察 取上述对照品溶液1、2、5、10、15、20 μ L,分别注入色谱仪,测定其峰面积。以

轮环藤碱对照品峰面积积分值为纵坐标(A),进样量W(μ g)为横坐标,进行线性回归,回归方程(n=6)为 $A=1857.2W-57.667$ ($r=0.9998$),表明轮环藤碱在0.205~4.10 μ g的范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 供试品溶液的制备 取本品粗粉约1 g,精密称定,用乙醇25 mL回流1小时,放冷,滤过,滤液减压浓缩至干,残渣用5%盐酸溶液25 mL溶解,滤过,滤液加5%氢氧化钠调至pH=10,并用三氯甲烷萃取4次,每次10 mL,合并三氯甲烷萃取液减压浓缩至干,用甲醇定容至50 mL,摇匀,即得。

2.5 精密度实验 取地不容药材,按“2.4”项下同法操作制备一份供试品溶液,取该溶液,重复进样5次,每次进样10 μ L,测定轮环藤碱峰面积积分值,得其RSD=0.85%(n=5),结果表明本仪器精密度好。

2.6 重复性试验 取同一批样品(批号:20060515)5份,分别按供试品溶液制备项下方法操作,制备供试品溶液5份,依次进样,每次进样10 μ L,测定轮环藤碱峰面积积分值,得其RSD=1.21%(n=5),结果表明本方法重现性好。

2.7 稳定性试验 取重现性项下一份样品,分别于0、2、4、8、12、18小时后进样,进样量10 μ L,测定轮环藤碱峰面积积分值,得其RSD=1.12%(n=6),表明供试品溶液在18小时内基本稳定。

2.8 加样回收试验 采用加样回收率测定法,精密

* 作者简介:段建华,男,主管中药师,执业中药师,主要从事药品质量管理工作;Tel:13711276202;Email:djh-002@163.com.

升降散对急性肺损伤大鼠肺细支气管粘膜上皮细胞 ICAM-1 表达的影响*

★ 魏凯峰 常加松 张梅勇 张庆宏 潘云 (南京中医药大学 南京 210029)

摘要:目的:探讨升降散对急性肺损伤模型大鼠细支气管粘膜上皮 ICAM-1 表达的影响。方法:40 只雄性 SD 大鼠,随机分为正常组、模型组、升降散大剂量组、中剂量组及小剂量组。给药 6 天后,舌下静脉注射 LPS 复制急性肺损伤模型,取肺组织切片,免疫组化检测。采集图像,分析细支气管粘膜上皮细胞胞质的平均灰度。结果:药物治疗组与模型组比较,能明显抑制肺细支气管粘膜上皮细胞胞质 ICAM-1 的表达,有显著性差异。结论:升降散可通过抑制肺细支气管粘膜上皮细胞胞质 ICAM-1 的表达,抑制炎症反应对肺组织造成的急性损伤,对急性肺损伤起到防治作用。

关键词:升降散;急性肺损伤;肺细支气管粘膜上皮细胞;ICAM-1

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Effect of Shengjiang Powder on Expression of ICAM-1 of Lung Bronchiolar Epithelium Mucosae in Acute Lung Injury Rats

WEI Kai-feng, CHANG Jia-song, ZHANG Mei-yong, ZHANG Qing-hong, PAN Yun

Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029

Abstract: Objective: To investigate the effect of Shengjiang Powder on expression of ICAM-1 of lung bronchiolar epithelium mucosae

称取已知含量的同一批样品 6 份,分别加入含量的 80%、100%、120% 的轮环藤碱对照品,按供试品溶液制备方法处理,进行测定,结果平均加样回收率为 98.84%, $RSD = 0.38\%$ 。

2.9 样品测定 取三批地不容药材(批号:20060513、20060514、20060515),按供试品溶液制备项下制备供试品溶液,进行测定,记录色谱峰面积,以外标法计算,结果见表 1。

表 1 地不容药材中轮环藤碱的平均含量($n=3$)

批号	轮环藤碱含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$RSD(\%)$
20060513	2.34	0.95
20060514	2.32	1.43
20060515	2.28	1.72

3 讨论

3.1 流动相的选择 由于轮环藤碱具有一定的碱性,在流动相中加入一定量的三乙胺,很好地改善了峰形,轮环藤碱在药材样品中和其他杂质峰达到良

好的基线分离。

3.2 提取方法的选择 总生物碱的提取方法文献^[3]多采用在提取溶剂中加入一定量的酸回流提取或者用乙醇回流提取以后再加酸把生物碱提取出来,本文采用乙醇回流提取,并加入 5% 的盐酸将地不容中的生物碱提取出来,较好地达到了提取效果,提取的酸水液加入 5% NaOH 调 pH 至 10,用三氯甲烷多次萃取,生物碱转移比较完全。薄层显示轮环藤碱提取完全,该方法重复性较好。

参考文献

- [1] 江苏新医学院《中药大辞典》编委会. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:809
- [2] 杨云,张晶,陈玉婷. 天然药物化学成分提取分离手册(第二版)[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:246
- [3] 安银铃,章欣,胡旺云. 百解藤的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,1998,11(1):27

(收稿日期:2007-04-21)

* 基金项目:南京中医药大学校自然科学基金(No. 05XZK01)