

# 高效液相色谱法测定柘木中山柰素含量

郑云枫,李家春,彭国平

(南京中医药大学中医药研究院,210029)

**[摘要]** 目的 建立测定柘木中山柰素含量的高效液相色谱法。方法 柘木药材经提取水解后测定山柰素的含量,以确定柘木中有效成分的含量;色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.01% 三氟乙酸水溶液(58:42);流速:1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长:360 nm。结果 山柰素在 0.725 ~ 11.600 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好( $r=0.9999$ ),平均加样回收率为 100.94%, $RSD=1.66\%$ 。结论 该法操作简便、快捷、灵敏度高,可作为柘木及其制剂的含量测定方法。

**[关键词]** 柘木;山柰素;含量测定;高效液相色谱法

**[中图分类号]** R286;R927.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2007)02-0191-02

柘木为桑科柘属植物柘树 [*Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur] 的木材。性味甘温无毒,功能主治妇人崩中血结、疟疾等<sup>[1]</sup>。柘木中主要含有 xanthone 类和黄酮类成分,此外,还含有生物碱、木质素、香豆素等<sup>[2]</sup>。其制剂如糖浆剂、注射剂等具有抗肿瘤的功效,可用于食管癌、胃癌、贲门癌、肠癌等的治疗。现代研究表明,柘木的主要化学成分为黄酮类、杂氧蒽酮等多种有药理作用的活性成分,根据分析测定,黄酮类化合物被认为是具有抗肿瘤作用的成分。但是对柘木药材及其制剂,至今没有很好的质量控制方法,其疗效也难以得到保证。因此通过建立柘木药材中的山柰素的含量测定方法,使柘木从药材到制剂的质量得到控制,从而保证用药原料及制剂的均一性与有效性,确保制剂的药效。可用于由单味柘木制成的糖浆剂、颗粒剂、片剂、胶囊、注射剂等剂型的质量控制,还可用于含柘木药材的复方制剂的质量控制。

## 1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,VWD 紫外检测器,Agilent LC 色谱工作站。甲醇为色谱纯(淮阴汉邦科技有限公司),三氟乙酸为色谱纯(Tedia company),水为亚沸纯化水,其他试剂均为分析纯。山柰素对照品由中国药品生物制品检定所提供(供含量测定用,批号:0861-200002)。柘木药材购自浙江宁波,经南京中医药大学鉴定教研室吴启南教授鉴定为桑科柘属植物柘树 [*Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur] 的木材。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱:淮阴汉邦科技有限公司,Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.05% 三氟乙酸水溶液(58:42)(V/V);流速:1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长:360 nm;柱温:30 ℃。

### 2.2 样品溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取于 60 ℃ 减压干燥至恒重的山柰素适量,加甲醇制成每 1 mL 含 5 μg 的溶液,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取柘木药材,粉碎成粗粉,称取 5.0 g,精密称定,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 80% 的乙醇

50 mL,称重,回流提取 2 h,冷却,补足失重,过滤,精密移取续滤液 25 mL,加入 25% 盐酸 10 mL 水浴回流水解 40 min,快速冷却,转移至 50 mL 容量瓶中,用 80% 乙醇定容至刻度,取样,过滤,即得。

**2.2.3 样品酸水解方法的优选** 主要对水解的酸用量进行了试验,按提取条件得柘木药材提取液 400 mL,精密移取续滤液 4 份,每份 25 mL,分别加入 25% 盐酸 8.0,9.0,10.0,11.0 mL 水浴回流水解 40 min,快速冷却,定容至 50 mL,取样过滤,即得。样品液进行高效液相色谱分析,计算。结果见表 1。结果说明加酸量 10.0 mL 时进行酸水解较为合理,即 25 mL 提取液加入 25% 盐酸 10 mL 水浴回流水解 40 min 能使柘木中以山柰素为苷元的黄酮苷水解完全。

表 1 酸用量的选择实验结果

| 序号 | 加酸量/mL | 峰面积/S |
|----|--------|-------|
| 1  | 8.0    | 73.6  |
| 2  | 9.0    | 82.4  |
| 3  | 10.0   | 85.3  |
| 4  | 11.0   | 84.5  |

**2.3 线性关系考察** 精密称取于 60 ℃ 干燥至恒重的山柰素对照品适量,制成山柰素标准贮备液(11.6 μg · mL<sup>-1</sup>)。采用逐级稀释法再分别配成 5.800,2.900,1.450,0.725 μg · mL<sup>-1</sup> 的系列对照品液,分别吸取上述溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,测定,以峰面积为纵坐标(Y),对照品浓度(μg · mL<sup>-1</sup>)为横坐标(X),绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 39.352X - 4.775$  ( $r = 0.9999$ )。山柰素浓度在 0.725 ~ 11.600 μg · mL<sup>-1</sup> 之间呈良好的线性关系。

**2.4 精密度实验** 精密吸取浓度为 2.9 μg · mL<sup>-1</sup> 的山柰素对照品试液,连续重复进样 6 次,每次 10 μL,按上述条件测得峰面积。结果  $RSD$  为 0.58%

**2.5 稳定性实验** 同一批柘木药材,按上述条件制备样品溶液,将样品溶液在室温下贮存,于 0,2,4,6,8,10 h 测定。结果样品溶液在 10 h 内稳定, $RSD$  为 0.77%。

**2.6 重复性实验** 同一批柘木药材 6 份,按供试品溶液的制备方法制备样品溶液,分别测定,计算含量, $RSD$  为 1.18% ( $n=6$ )。

**2.7 加样回收率实验** 精密称取已测定含量的药材各 2.5 g

[收稿日期] 2006-05-08 [修回日期] 2006-06-02

[作者简介] 郑云枫(1979-),男,江苏溧阳人,在读硕士,主要从事中药化学成分研究与开发研究工作。电话:025-86798186。

共6份,2份一组,各组分别加入了山柰素对照液(0.135 mg·mL<sup>-1</sup>)0.8,1.0,1.2 mL。依法测定,计算得山柰素平均回收率为100.94%,RSD=1.66%。结果见表2。

表2 山柰素加样回收率实验结果

| 产地 | 样品重/<br>g | 样品含量/<br>mg | 加标量/<br>mg | 检出量/<br>mg | 回收率/<br>% | 平均回收率/<br>% | RSD/<br>% |
|----|-----------|-------------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 1  | 2.510     | 0.112 1     | 0.108      | 0.219 4    | 99.35     |             |           |
| 2  | 2.652     | 0.118 5     | 0.108      | 0.229 7    | 103.70    |             |           |
| 3  | 2.495     | 0.111 4     | 0.135      | 0.245 9    | 99.63     | 100.94      | 1.66      |
| 4  | 2.598     | 0.116 0     | 0.135      | 0.253 9    | 102.15    |             |           |
| 5  | 2.612     | 0.116 7     | 0.162      | 0.281 5    | 101.73    |             |           |
| 6  | 2.504     | 0.111 8     | 0.162      | 0.272 3    | 99.07     |             |           |

2.8 样品测定 共收集了6批不同产地柘木药材,分别精密称取各批次的柘木药材约5.0 g,按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,进样,测定峰面积。经计算平均含量为0.103 mg·g<sup>-1</sup>。结果见表3。

表3 不同产地柘木药材山柰素含量测定结果

| 产地   | 山柰素含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 平均含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|------|-----------------------------|----------------------------|
| 安徽亳州 | 0.049                       |                            |
| 安徽亳州 | 0.068                       |                            |
| 浙江宁波 | 0.162                       | 0.103                      |
| 浙江宁波 | 0.119                       |                            |
| 广西玉林 | 0.125                       |                            |
| 广西玉林 | 0.094                       |                            |

3 讨论

3.1 指标性成分的选择 柘木中含有多类化学成分,现代研

究表明其水提取物及醇浸膏具有良好的抗肿瘤作用,并发现以山柰素-7-葡萄糖苷为主的黄酮类成分为其抗肿瘤活性成分<sup>[3]</sup>。由于山柰素为常用对照品,笔者采取先提黄酮成分后水解,然后测定山柰素含量的方法确定药材中有效成分的含量。实验表明本方法快速、简便、准确,可作为柘木及其制剂的质量控制指标。

3.2 流动相的选择 在采用高效液相色谱法进行分析时,流动相中如果不加酸,其色谱峰存在拖尾现象,推测是由于黄酮类成分具有一定的酸性在中性流动相中部分离子化所致。在改用含三氟乙酸的流动相后,抑制了成分的解离,获得的色谱图分离度、分辨率、重现性与稳定性均较理想。

3.3 柘木的质量控制 从实验结果可以看出,不同产地的药材,其含量相差较大,在应用于临床时,必须对其质量进行控制,以保证其疗效。本试验为柘木及其制剂的质量控制提供了分析方法。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998:1502-1503.

[2] 宋耐宝,杨学东,王义明,等. 柘木化学成分及药理活性研究现状[J]. 中成药,2005,27(3):335-336.

[3] 张英慧,徐誉泰. 柘木根黄酮注射液对小鼠S18肿瘤的抑制作用[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版),2001,19(3):75-77.

# 等吸收波长消去法测定吠喃西林溶液中苯甲酸钠含量

伦新强

(广西壮族自治区柳州医学高等专科学校第一附属医院药剂科,545002)

[摘要] 目的 建立测定吠喃西林溶液中苯甲酸钠含量的紫外分光光度法。方法 采用等吸收波长消去法,苯甲酸钠在225 nm波长处有最大吸收,吠喃西林在225和328 nm波长处具有等吸光度(A),测定A<sub>225 nm</sub>-A<sub>328 nm</sub>可消除吠喃西林的干扰,利用ΔA<sub>225 nm</sub>值计算苯甲酸钠的含量。结果 苯甲酸钠在6~14 μg·mL<sup>-1</sup>浓度范围内与吸光度的线性关系良好(r=0.999 8),平均回收率为100.4%,RSD为0.7%(n=6)。结论 该法简便、快速、实用,适用于吠喃西林溶液中苯甲酸钠的含量测定。

[关键词] 吠喃西林溶液;苯甲酸钠;等吸收波长消去法;含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2007)02-0192-02

吠喃西林溶液是医院常用制剂,主要成分有吠喃西林、苯甲酸钠、氯化钠等,其中吠喃西林可采用紫外分光光度法测定含量<sup>[1]</sup>,苯甲酸钠的含量未作要求。有文献报道采用反相高效液相色谱法<sup>[2]</sup>可同时测定两组分的含量,但需精密仪器,而采

用差示分光光度法<sup>[3]</sup>也较为繁琐。笔者在本实验中采用等吸收波长消去法可直接测定苯甲酸钠的含量,该法简便、实用、快捷,亦可按规范要求同时测定吠喃西林的含量,适于基层单位推广使用。

1 仪器与试剂

UV-1601PC型紫外分光光度计(日本岛津);吠喃西林(济南鑫达药化有限公司生产,批号:20051027);苯甲酸钠(镇江前进化工有限公司生产,批号:050314);氯化钠(中盐宏博集团云

[收稿日期] 2006-05-24 [修回日期] 2006-06-29

[作者简介] 伦新强(1970-),男,广西柳州人,副主任药师,学士,研究方向:临床药理学、药品管理等。电话:0772-2531759, E-mail: lunxinqiang@yahoo.com.cn。