

RP-HPLC法测定布渣叶中水仙苷的含量^Δ

杨茵^{1*}, 李硕果¹, 陈琳², 田海妍¹, 叶文才¹, 江仁望^{1#} (1. 暨南大学药学院中药及天然药物研究所中药药效物质基础与创新药物研究广东省高校重点实验室, 广州 510632; 2. 暨南大学第一临床医学院, 广州 510632)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-1018-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.21

摘要 目的: 建立测定布渣叶中水仙苷含量的方法。方法: 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Cosmosil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05%醋酸水(18:82, V/V), 流速为1.0 ml/min, 检测波长为256 nm, 柱温为25℃。结果: 水仙苷的进样量在0.67~10.72 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9998$); 平均加样回收率为98.79%, RSD=2.26% ($n=6$)。结论: 本方法快速、简便、重复性好, 可用于布渣叶中水仙苷的含量测定, 以控制布渣叶药材及其制剂的质量。

关键词 布渣叶; 水仙苷; 反相高效液相色谱法; 含量测定

Content Determination of Narcissin in the Leaves of *Microcos paniculata* by RP-HPLC

YANG Yin¹, LI Shuo-guo¹, CHEN Lin², TIAN Hai-yan¹, YE Wen-cai¹, JIANG Ren-wang¹ (1. Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of Traditional Chinese Medicine and New Drugs Research, Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of narcissin in the leaves of *Microcos paniculata*. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was carried out on Cosmosil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with acetonitrile-0.05% acetic acid (18:82, V/V) solution at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 256 nm and column temperature was 25℃. RESULTS: The linear range of narcissin was 0.67-10.72 μg ($r=0.9998$) with an average recovery of 98.79% (RSD=2.26%, $n=6$). CONCLUSION: The method is proven to be quick, simple and reproducible. It is quite suitable for the content determination of narcissin in the leaves of *M. paniculata* in order to control the quality of *M. paniculata* and the preparation.

KEY WORDS *Microcos paniculata*; Narcissin; RP-HPLC; Content determination

布渣叶为椴树科破布叶属植物破布树 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶, 主产于我国岭南地区, 亦称为破布叶^[1]。本品味微酸, 性平, 具有清热解毒、消食导滞、解渴开胃的功效, 民间常泡茶饮用, 用于治疗感冒、咽喉痛、消化不良、腹胀及黄疸等^[2]。现代药理研究表明, 布渣叶水提物具有抗内毒素及解热作用, 且毒性很小^[3-4]。布渣叶也是多种凉茶如“广东凉茶”、“王老吉”、“甘和茶”、“仙草爽凉茶”及中成药如“十味溪黄草颗粒”等的主要组成药物^[5]。有关布渣叶质量标准的研究尚未见报道。笔者最近的植物化学研究表明, 布渣叶中的水仙苷含量较高^[6], 且通过文献检索发现其具有抗炎、抗肿瘤等活性^[7-9], 与布渣叶主要功效一致。因此, 笔者选择水仙苷作为对照品, 首次建立了布渣叶中水仙苷的反相高效液相色谱(RP-HPLC)含量测定方法, 以为布渣叶药材及相关处方制剂的质量控制提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪, 含G1311A四元泵、自动进样器、二极管

Δ 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(No.8351063201000003)

* 硕士研究生。研究方向: 天然药物化学。E-mail: yangyin625@sina.com

通信作者: 教授。研究方向: 天然药物化学。电话: 020-85221016。E-mail: trwjjiang@jnu.edu.cn

阵列检测器(DAD)、G1316A紫外检测器(美国Agilent公司)。

1.2 试剂

水仙苷对照品由笔者分离纯化, 经光谱分析并对照文献^[9]鉴定为水仙苷, 经DAD检测, 并采用面积归一化法计算纯度>99%; 乙腈、甲醇(色谱纯, 美国Dima公司); 水为屈臣氏纯净水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 药材

布渣叶药材于2008年9月购自广州市不同地区的药店, 由暨南大学药学院中药及天然药物研究所周光雄教授鉴定均为椴树科植物破布树 *M. paniculata* L. 的叶, 标本保存于暨南大学中药及天然药物研究所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Cosmosil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05%醋酸水(18:82, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 256 nm; 进样量: 20 μl。在上述色谱条件下, 水仙苷与其他成分可达良好分离。色谱见图1。

2.2 对照品贮备液的制备

精密称取水仙苷对照品8.39 mg, 置于10 ml量瓶中, 加入50%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取3.2 ml, 置于5 ml量瓶中, 加入50%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 ml含0.536 mg的溶液, 即得对照品贮备液。

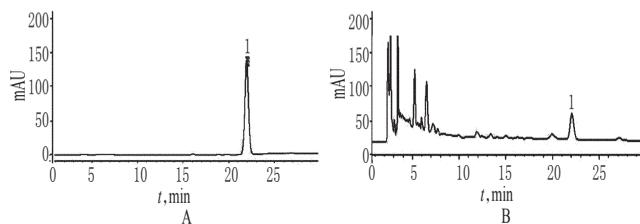


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 水仙苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; 1. narcissin

2.3 供试品溶液的制备

取布渣叶干燥药材,粉碎,过80目筛,精密称取2.5 g,置于50 ml三角瓶中,精密加入50%甲醇50 ml,称定质量,50 °C超声提取60 min(功率:250 W,频率:40 kHz),放至室温后再次称定质量,以50%甲醇补足失质量,用滤纸滤过,精密吸取续滤液20 ml,减压浓缩至干。用50%甲醇将样品完全转移至10 ml量瓶中,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系考察

精密量取对照品贮备液适量,加50%甲醇逐级稀释,分别得到质量浓度为0.536、0.268、0.134、0.067、0.033 5 mg/ml的对照品溶液,按上述色谱条件分别精密进样20 μl,测定峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标,对照品质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=753.33x-43.579$ ($r=0.9998$, $n=5$)。结果表明,水仙苷的进样量在0.67~10.72 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品贮备液(0.536 mg/ml)适量,注入HPLC仪,重复进样5次,测定峰面积。结果, $RSD=0.09\%$ ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取同批样品6份(样品编号:20100011),每份约2.5 g,精密称定,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进样分析,测定峰面积,计算样品含量。结果,每1 g布渣叶中平均含水仙苷0.13 mg, $RSD=2.9\%$ ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液20 μl,分别于0.2、4、6、8 h进样测定,记录峰面积。结果, $RSD=0.40\%$ ($n=5$),表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

取布渣叶干燥药材,粉碎,过80目筛,称取6份,每份约1.25 g,精密称定。分别精密加入0.839 mg/ml的对照品溶液0.20 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,精密吸取20 μl,注入HPLC仪,照上述色谱条件测定,记录水仙苷的峰面积,以外标法计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

2.9 样品含量测定

收集广州市不同地区的5个药材样本,分别按“2.3”项下

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=6$)

称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1.250 8	0.162 6	0.167 8	0.327 5	98.27		
1.255 4	0.163 2	0.167 8	0.334 1	101.85		
1.254 6	0.163 1	0.167 8	0.323 2	95.41	98.79	2.26
1.255 4	0.163 2	0.167 8	0.326 6	97.38		
1.251 5	0.162 7	0.167 8	0.330 5	100.00		
1.252 0	0.162 8	0.167 8	0.330 9	99.82		

方法制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各20 μl,注入HPLC仪,按上述色谱条件测定,平行操作3次,以外标法计算样品中水仙苷的质量分数,结果见表2。5个样本的HPLC图见图2。

表2 5个样本中水仙苷的含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Contents determination of narcissin in 5 samples($n=3$)

序号	样品编号	收集地区	质量分数,%
1	20100011	海珠区	0.09
2	20100012	白云区	0.15
3	20100013	荔湾区	0.12
4	20100014	越秀区	0.14
5	20100015	天河区	0.10

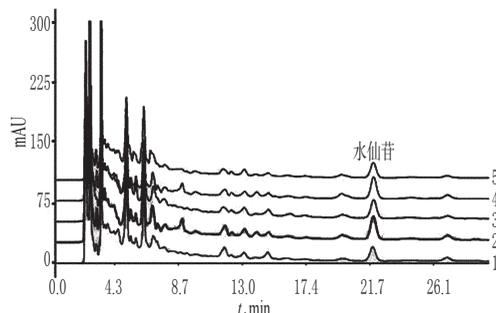


图2 5个样本的HPLC图

Fig 2 HPLC chromatograms of 5 samples

3 讨论

3.1 关于提取方法

本试验对提取溶剂和提取时间进行了考察。提取溶剂分别采用50%、70%甲醇与纯甲醇,结果显示以50%甲醇提取时水仙苷质量分数最高,且各种化合物提取完全。提取时间分别考察了超声30、60、120 min,结果表明超声60 min时提取较完全。

3.2 关于流动相

本试验对流动相的系统组成进行了比较研究,分别试用了甲醇-水、乙腈-0.05%醋酸水等系统,根据分离情况,以乙腈-0.05%醋酸水(18:82, V/V)系统较适宜。该流动相对布渣叶药材的含量测定比较适合,能使药材中的主要成分达到较好的基线分离。

3.3 小结

由本试验结果可知,来源于广州市不同地区药店的布渣叶药材中水仙苷的质量分数范围为0.09%~0.15%,各药材的HPLC图谱基本一致。

在对布渣叶进行化学成分研究的过程中,笔者发现水仙

不同厂家紫杉醇注射液的稳定性考察

李雅静*,王晨#,王淑静(天津医科大学附属肿瘤医院/天津市“肿瘤防治”重点实验室,天津 300060)

中图分类号 R283.61;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-1020-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.22

摘要 目的:考察不同厂家紫杉醇注射液的稳定性,为临床安全、有效用药提供依据。方法:采用高效液相色谱法对不同厂家紫杉醇注射液进行含量测定及杂质检查:色谱柱为Kromasil-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),检测波长为227 nm,流速为1.0 ml/min,流动相为甲醇-水-乙腈(23:41:36, V/V/V),柱温为室温。结果:各样品外观均符合规定;pH值为5.83~7.22;紫杉醇的质量浓度在10~120 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);平均加样回收率为100.59%,RSD=1.05%($n=6$);供试品溶液在8 h内稳定性良好。结论:不同厂家生产的紫杉醇注射液,其外观、pH值、含量、微粒数量均符合规定。

关键词 紫杉醇注射液;稳定性;高效液相色谱法;微粒;含量测定

Stability of Paclitaxel Injection from Different Manufacturers

LI Ya-jing, WANG Chen, WANG Shu-jing(The Affiliated Cancer Hospital of Tianjin Medical University/Tianjin Key Laboratory of “Tumor Prevention and Therapeutics”, Tianjin 300060, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the stability of Paclitaxel injection from different manufacturers, and to provide evidence for safe and effective drug use in the clinic. METHODS: HPLC method was adopted to determine the content of Paclitaxel injection and impurity. The determination was performed on Kromasil-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm) column with mobile phase consisted of ethanol-water-acetone (23:41:36, V/V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 227 nm and column temperature was room temperature. RESULTS: The appearance of samples was in line with the standard; pH value was between 5.83-7.22; the linear ranges of paclitaxel were 10-120 μg/ml($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 100.59% (RSD=1.05%, $n=6$); the sample solution was stable within 8 h. CONCLUSION: The appearance, pH value, content and microparticle of Paclitaxel injection from different manufacturers consistent with the standard.

KEY WORDS Paclitaxel injection; Stability; HPLC; Microparticle; Content determination

紫杉醇(Paclitaxel)是当前公认的有效抗癌药物之一,因其是从植物中直接提取,所以提纯工艺直接影响其制剂质量。

目前,市场上紫杉醇注射液种类繁多,为安全、有效、合理用药,笔者对不同厂家紫杉醇注射液的pH值、含量、外观及不溶

昔是其主要成分之一,并且水仙昔具有抗炎、杀虫等活性,与布渣叶主要功效一致。因此,对水仙昔的含量进行测定,可为布渣叶药材质量标准的制定提供科学依据。本研究首次建立了水仙昔作为布渣叶药材指标成分的含量测定方法,该方法可行性高、快速、简便、重复性好,适用于布渣叶药材及其制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 稽含.生草药性备要[M].北京:中国医药科技出版社,1999:1 083.
- [2] 江苏新医学院.中药大词典:下册[M].上海:上海科学技术出版社,1986:1 824.
- [3] 梅全喜,戴卫波,范文昌,等.布渣叶抗内毒素和急性毒性

实验研究[J].中国药房,2011,22(23):2 128.

- [4] 曾聪彦,梅全喜,高玉桥,等.布渣叶水提物解热退黄作用的实验研究[J].中国药房,2010,21(11):973.
- [5] 杨琳.仙草爽凉茶的研制[J].饮料工业,1999,2(6):29.
- [6] 杨茵,李硕果,叶文才,等.布渣叶的化学成分研究[J].时珍国医国药,2010,21(11):2 790.
- [7] Calzada F, Velázquez C, Cedillo-Rivera R, et al. Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens* [J]. *Phytother Res*, 2003, 17(7): 731.
- [8] Ito H, Miyake M, Nishitani E, et al. Anti-tumor promoting activity of polyphenols from *Cowanina mexicana* and *Coleogyne ramosissima*[J]. *Cancer Lett*, 1999, 143(1):5.
- [9] 彭江南,冯孝章,梁晓天.耳草属植物的化学研究Ⅷ:黄毛耳草化学成分的分离和鉴定[J].中草药,1999,30(3): 170.

* 主管药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:022-23340123-5105。E-mail:liyajing919@163.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:022-23340123-5105。E-mail:jiyei789@126.com

(收稿日期:2012-04-01 修回日期:2012-07-09)