

RP-HPLC 法测定不同产地两面针中氯化两面针碱含量*

Determination of Nitidine Chloride in *Zanthoxylum nitidum*(Roxb.)DC. from Different Areas by RP-HPLC

覃兰芳¹, 赖茂祥², 梁 威¹

QIN Lan-fang¹, LAI Mao-xiang², LIANG Wei¹

(1. 广西天然药物研究中心, 广西南宁 530022; 2. 广西中医药研究所, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Research Centre of Nature Material Medical, Nanning, Guangxi, 530022, China;

2. Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:采用反相高效液相色谱法,以 Reliasil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 为色谱柱,乙腈-水-三乙胺-磷酸(25:75:1:1)为流动相,在271 nm 检测波长的条件下,分析广西邕宁、武鸣、靖西、平果、马山、昭平、大新、那坡、扶绥、龙虎山,共10个不同产地的两面针药材中氯化两面针碱的含量。结果表明,广西区内10个不同产地的两面针药材样品中,氯化两面针碱的含量为0.36%~1.03%,含量差异比较大,其中以邕宁(1.03%)、靖西(0.71%)、马山(0.69%)、武鸣(0.67%)等地的含量较高,昭平(0.36%)、那坡(0.44%)等地的含量较低。该方法测定两面针中氯化两面针碱的平均回收率为97.55%, RSD 为1.15%(n=6)。

关键词:高效液相色谱法 氯化两面针碱 含量

中图分类号:O657.72;R284.1 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2006)04-0297-03

Abstract: Determined by RP-HPLC and Kromasil (250mm × 4.6mm, 5μm) column, using Acetonitrile-water-triethylamine-phosphoric acid (25:75:1:1) as mobile phase and UV detector wavelength is 271nm to analyze and compare the content of Nitidine chloride in *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. in 10 different growing areas of Guangxi including Yongning, Wuming, Jingxi, Pingguo, Mashan, Zhaoping, Daxin, Napo, Fusui and Longhushan. The result shows that in these 10 differnt growing areas, the content of Nitidine chloride in *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. is of great difference ranging between 0.36%~1.03%. The areas such as Yongning(1.03%), Jingxi(0.71%), Mashan(0.69%), Wuming(0.67%) are with higher content but the areas such as Zhaoping(0.36%), Napo(0.44%) are with lower content. In this way, it had been mensurated the average recovery was 97.55%, RSD = 1.15% (n = 6).

Key words: RP-HPLC, Nitidine chloride, content

两面针系极具广西民族特色的大宗药材之一,为数10种中成药的原料药材,每年用量在1000t以上,其药材来源为芸香科花椒属植物两面针 [*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.] 的干燥根,历代本草和近代中草药专著以及中国药典均有收载,具有

行气止痛、活血散瘀、祛风通络之功效^[1]。用于气滞血瘀引起的跌扑损伤、风湿痹痛、胃痛、牙痛、毒蛇咬伤;外治汤火烫伤。广西是两面针的主产地,大部分地区均有分布,但由于两面针产区分布区域较广,地理环境、气候条件以及土壤性质等有较大差异,为了测定不同产地两面针氯化两面针碱含量的差异,本文利用 RP-HPLC 法对广西邕宁、武鸣、靖西、平果、马山、昭平、大新、那坡、扶绥、龙虎山,共10个不同产地两面针样品进行含量测定。

收稿日期:2006-06-06

作者简介:覃兰芳(1967-),女,广西环江人,研究实习员,主要从事中药化学分析工作。

* 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0424008-1B)资助。

1 实验部分

1.1 仪器

日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪、SPD-10AVP 紫外检测器；威玛龙色谱数据处理工作站。

1.2 试剂

氯化两面针碱对照品(批号:848-9901),由中国药品生物制品检定所提供;乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其他试剂均为分析纯。

所有采集到的两面针药材样品,都经过广西中医药研究所赖茂祥副研究员严格鉴定,均为芸香科花椒属植物两面针 [*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.] 的根。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱为 Reliasil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-三乙胺-磷酸(25:75:1:1), 检测波长为271 nm, 灵敏度为0.0100AUFS, 柱温为室温。

1.3.2 对照品溶液配制方法

精密称取氯化两面针碱对照品24 mg, 用少量甲醇溶解并转移至10 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度处, 摇匀, 制得浓度为2.4 mg/ml 的氯化两面针碱对照品储液 I; 再精密吸取0.5 ml 对照品储液 I 至25 ml 容量瓶中, 加入甲醇至刻度处, 摇匀, 制得浓度为48 μg/ml 的氯化两面针碱对照品储液 II; 再精密吸取1 ml 对照品储液 II 至5 ml 容量瓶中, 加流动相至刻度处, 摇匀, 配成每1 ml 含9.6 μg 氯化两面针碱的对照品溶液。对照品溶液的色谱图如图1所示。

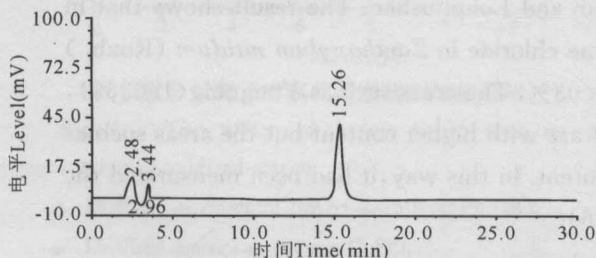


图1 氯化两面针碱对照品 RP-HPLC 色谱图

Fig. 1 RP-HPLC chromatogram map of Nitidine chloride

1.3.3 供试品溶液配制方法

精密称取样品粗粉约1 g, 置于索氏提取器中, 用5 ml 盐酸(5→100)浸润30 min 后, 加入100 ml 甲醇, 加热回流6 h, 回收甲醇, 蒸干, 用甲醇溶解定容至25 ml, 摇匀, 过滤, 取续滤液1 ml 置于25 ml 容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 用0.45 μ 的微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液作为供试品溶液。供试品溶液的色谱图如图2所示。

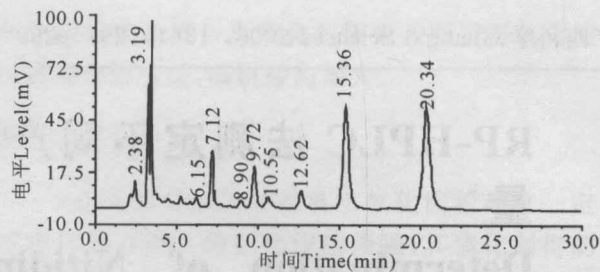


图2 两面针供试品溶液 RP-HPLC 色谱图

Fig. 2 RP-HPLC chromatogram map of nitidine chloride sample

1.4 方法学考察

1.4.1 线性关系

精密吸取氯化两面针碱对照品溶液储液 II (C=48 μg/ml) 0.2 ml、0.6 ml、1.0 ml、1.4 ml、1.8 ml, 分别置于5 ml 量瓶中, 加入流动相至刻度, 摇匀, 浓度分别为1.92 μg/ml、5.76 μg/ml、9.60 μg/ml、13.44 μg/ml、17.28 μg/ml, 在1.3.1的色谱条件下分别进样20 μl, 记录氯化两面针碱峰面积值, 计算其线性回归方程。以进样量(X)为横坐标, 对照品峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线。其线性回归方程为 $Y = 1.20 \times 10^4 + 6.48 \times 10^6 X$ (X为进样量 μg), 相关系数 $r = 0.9996$, 线性范围为0.0384 ~ 0.3456(μg)。

1.4.2 精密度试验

取样品(产地:那坡)按1.3.3的方法处理制成供试品溶液, 将20 μl 注入高效液相色谱仪, 测定样品中氯化两面针碱的含量, 重复6次, 测得含量分别为0.45%、0.44%、0.44%、0.45%、0.44%、0.43%, RSD为1.70%。

1.4.3 稳定性试验

取同一批样品(产地:那坡)按1.3.3的方法处理制成供试品溶液, 分别于0 h、2 h、6 h、8 h、12 h, 进样20 μl 测定, 测得样品中氯化两面针碱的含量分别为0.44%、0.43%、0.44%、0.45%、0.44%, RSD为1.61%。说明供试品溶液在12 h 内稳定, 可满足分析要求。

1.4.4 重复性试验

取同一批样品(产地:那坡)6份, 分别按1.3.3的方法处理, 后进样20 μl 测定样品中氯化两面针碱的含量, 分别为0.44%、0.43%、0.44%、0.45%、0.46%、0.44%, RSD为2.33%。

1.4.5 加样回收率试验

精密称取已知含量的两面针粉末(产地:那坡)共6份, 每份0.5 g, 分别精密加入1 ml 氯化两面针碱对照品储液 I, 按1.3.3的方法提取, 进样20 μl 测定。结果为, 6次测定的平均回收率为97.55%, RSD为

1.15% ($n=6$)。详见表1。

表1 加样回收率试验数据

Table 1 Recovery of sample

样品量 Sample quantity (mg)	样品中 含量 Original quantity (mg)	加入量 Added quantity (mg)	测得量 Observation (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回 收率 Average recovery (%)	RSD (%)
0.5005	2.2022	2.4	4.5062	96.00		
0.5004	2.2018	2.4	4.5387	97.37		
0.5005	2.2022	2.4	4.5585	98.18		
0.5006	2.2026	2.4	4.5288	96.93	97.55	1.15
0.5005	2.2022	2.4	4.5854	99.30		
0.5004	2.2018	2.4	4.5426	97.53		

2 结果

按上述方法将所采集的广西区内邕宁、武鸣、靖西、平果等10个不同产地的两面针制成供试样品溶液,进样20 μ l测定,每个样品进样2次的结果见表2。

3 结束语

实验结果表明,广西区内10个不同产地的两面针,氯化两面针碱的含量为0.36%~1.03%,含量差异比较大,其中以邕宁、靖西、马山、武鸣等地的含量较高,昭平、那坡等地的含量较低。

表2 广西区内10个不同产地两面针中氯化两面针碱的含量 ($n=2$)

Table 2 The content of nitidine chloride in *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. that from 10 different growing areas at Guangxi province ($n=2$)

产地 Growing areas	氯化两面针碱含量 Content of nitidine chloride(%)			标准偏差 RSD (%)
			平均值 Mean content	
	1	2		
邕宁 Yongning	1.0283	1.0313	1.03	0.21
武鸣 Wuming	0.6756	0.6685	0.67	0.75
靖西 Jingxi	0.7122	0.7151	0.71	0.29
平果 Pingguo	0.6528	0.6501	0.65	0.29
马山 Mashan	0.6943	0.6926	0.69	0.17
昭平 Zhaoping	0.3598	0.3611	0.36	0.26
大新 Daxin	0.6008	0.5986	0.59	0.26
那坡 Napo	0.4398	0.4412	0.44	0.22
扶绥 Fusui	0.5098	0.5120	0.51	0.30
龙虎山 Longhushan	0.4812	0.4785	0.48	0.40

在样品提取方法考察时,曾比较用甲醇直接提取和先用稀盐酸酸化后再用甲醇提取,结果表明,先用稀盐酸酸化后再用甲醇提取测得的氯化两面针碱很明显优于用甲醇直接提取。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2005版1部 [M]. 北京:化学工业出版社,2005.

(责任编辑:邓大玉 凌汉恩)

生物致病与化学污染严重威胁我国食品安全

按照世界卫生组织的定义,食品中具有的危害通常称为“食源性”危害。食源性危害包括了物理性、化学性、生物性危害以及转基因食品风险。全世界每年数以亿计的食源性疾病患者中,70%是由各种致病性生物污染的食品和饮用水所引发;死于食物中毒的儿童中有70%是由微生物性食物中毒所致。今年9月,波及美国23个州、146人感染、3人死亡的“菠菜恐慌”事件元凶正是受到大肠杆菌感染的菠菜,菠菜阴影给美国造成了至少1亿美元的经济损失。对中国来说,由于生态环境的破坏、食品生产模式及饮食方式发生改变、食品流通日益广泛、百姓对肉禽需求量不断增加、新的致病微生物不断出现,由此造成了食品尤其是动物性食品的生物污染日益严重。例如,11月,从河北到整个华北,“苏丹红四号”已成为中国百姓街知巷闻的“新词儿”;9月,上海连续发生食用猪肉中毒事件,300余人前往医院就诊,一时间“瘦肉精”以这样一种方式抢占了人们的视听。近年来,“致癌农药、氟化物、亚硝酸盐”等化学名词频现报端——化学污染正在成为危及我国食品安全的另一“杀手”。化学农药、兽药、激素残留污染,除了可造成人体的急性中毒外,还会通过污染食品、食物链富集对人体产生慢性损害。在今天的中国,生物污染已上升为食品安全的首要问题,亟待解决。

企业作为食品安全的第一责任人要严格自律、加强诚信体系建设,建立食品安全的长效机制;同时规范食品从业人员的职业素质和道德准则,建立行之有效的食品安全自控体系;除此之外,还须注意提前采取有效措施,对可能会给消费者安全构成潜在危害的风险预先加以防范。

据《科学时报》