

对湿度下的吸湿百分率。以吸湿百分率为纵坐标,以相对湿度为横坐标作不同环境下吸湿率曲线图,分别在曲线两端作切线,两切线交点的横坐标即为临界相对湿度,如图1所示,结果本品的临界相对湿度为54%。故在生产时,相对湿度应控制在54%以下。

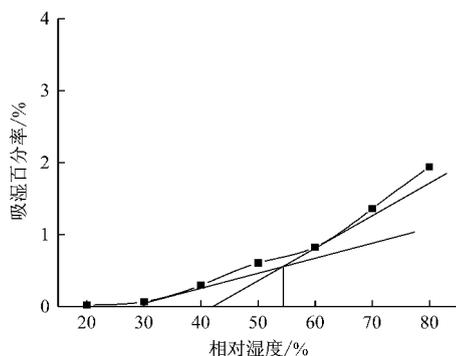


图1 药粉临界相对湿度图

### 2.3 空胶囊规格及服用剂量的确定

堆密度的测定与胶囊剂的装量有很大关系,颗粒的堆密度×胶囊壳的容积=胶囊壳的可装量,因此,堆密度愈大,胶囊的装量愈多。本文中五味子粗多糖粉的堆密度为0.48 g/mL,说明药粉质量较轻,所需容积较大。再结合本课题组前期所做的药效学实验,确定五味子粗多糖胶囊成人(60 kg)的临床推荐量和临床用量为0.70 g/d<sup>[1]</sup>,选用0号胶囊(近似容积0.68 mL)。每粒理论可装量为0.33 g,故服用剂量定为每日一次,每次2粒。

### 3 讨论

3.1 通常多糖的吸湿性较强,但是本文制得五味子粗多糖药粉的吸湿率却很低,前期的添加辅料试验也没有对药粉的吸湿性造成很明显的影 响,因此五味子粗多糖粉的制备是无需添加辅料来解决其它多糖普遍存在的吸湿性强问题的。究其原因,我们认为本试验所用五味子原料为经药厂醇提后的药渣,所以这个过程已将一些易吸湿的小分子多糖除去,从而使五味子多糖药粉的吸湿性大大降低。

3.2 喷雾干燥是利用雾化器将料液分散为细小的雾滴,并

在热干燥介质中迅速蒸发溶剂形成干粉产品的干燥技术。喷雾干燥工艺一般与浓缩液的相对密度、喷雾干燥机组进风温度、出风温度有关。其中,浓缩液的相对密度对喷雾干燥的效果影响最大,密度高,黏稠度大,使雾化困难,且雾化形成的粒子大,干燥速度慢。由于实验原料是多糖,本身黏度就较大,因此本文控制物料的相对密度在1.07~1.08之间。进风温度过高易造成药粉烘焦,选择进风温度为149~150℃,生产的药粉品质较好,工艺可行。

在喷雾干燥过程中,被干燥的物料粘在干燥塔内壁上,称之为黏壁。黏壁后的物料由于长时间停留在热的内壁上,有可能被烧焦或变质,影响产品质量,同时使收率降低。在浸膏中加入适当辅料,可缓解黏壁现象,使喷雾干燥顺利进行。本文在五味子粗多糖浓缩液中添加辅料糊精,明显减轻了黏壁程度,优化了生产工艺。

3.3 临界相对湿度反映了药物的吸湿情况,同时也可以根据它确定生产时的环境湿度。由试验结果可知,当相对湿度小于54%时,五味子粗多糖药粉吸湿量变化不明显,当大于54%时,其吸湿量明显增加,因此环境相对湿度应控制在54%以下。

### 参考文献:

- [1] 仰榴青,陈荣华,吴向阳,等.五味子醇提残渣中粗多糖的免疫活性研究[J].食品科学,2008,29(6):392-394.
- [2] 黄玲,陈华,张捷平.五味子多糖对荷瘤小鼠血液SOD和MDA的影响[J].福建中医学院学报,2005,15(1):28-29.
- [3] Gao X X, Meng X J, Li J H, et al. Hypoglycemic effects of a water-soluble polysaccharide isolated from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill in alloxan-induced diabetic mice [J]. *J Biotechnol*, 2008, 1716-1742.
- [4] 陈荣华.五味子醇提药渣中粗多糖的提取及生物活性研究[D].江苏大学,2008.
- [5] 赵婷,仰榴青,笪祖林,等.五味子醇提残渣中多糖的提取工艺研究[J].食品研究与开发,2008,29(8):70-73.
- [6] 冯超,蔡亚玲,阮金兰,等.益宫胶囊的成型工艺研究[J].中药材,2008,31(1):128-130.

## UPLC-PDA 法同时测定灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的含量

郑林<sup>1</sup>, 王永林<sup>1</sup>, 王爱民<sup>1</sup>, 乔希<sup>1</sup>, 官志忠<sup>2</sup>, 兰燕宇<sup>1\*</sup>

(1. 贵阳医学院药学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院分子生物学重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

关键词: UPLC-PDA; 灯盏细辛; 飞蓬苷; 绿原酸; 野黄芩苷

收稿日期: 2009-06-17

基金项目: 国际科技合作项目(2006DFA33530); 国家科技部科技支撑计划课题(2006BAI06A01-03); 国家科技重大专项课题(2008ZX09101-021); 贵州省社会发展攻关计划课题(黔科合SY[2010]B046号)

作者简介: 郑林(1981-),女,硕士,从事中药质量控制研究工作。E-mail: mailofhy@126.com

\* 通讯作者: 兰燕宇(1958-),女,教授,从事中药新药的研究开发工作。

**摘要:**目的:建立同时测定灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷含量的方法。方法:采用超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA),BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm × 150 mm,1.7 μm),以乙腈(A)-0.1%磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(0 min 2% A;3 min 5% A;4 min 13% A;6 min 15% A;7 min 18% A;9 min 19% A;9.1 min 80% A;10 min 80% A);流速为0.35 mL/min,柱温40℃,检测波长:260 nm(检测飞蓬苷),326 nm(检测绿原酸)和335 nm(检测野黄芩苷)。结果:飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷浓度分别在28.32~453.12 μg/mL( $r=0.9999$ ),12.50~200 μg/mL( $r=0.9996$ ),25.08~401.20 μg/mL( $r=0.9998$ )范围内与峰面积呈良好的线性关系;平均回收率( $n=6$ )分别为101.43%(RSD=1.72%),97.49%(RSD=1.61%),99.38%(RSD=2.04%)。结论:本方法快速、准确,重复性好,可较全面地评价灯盏细辛药材的质量。

中图分类号:R284.1

文献标识码:B

文章编号:1001-4528(2010)09-1619-04

灯盏细辛又名灯盏花,为菊科植物短萼飞蓬[*Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz.]的干燥全草,主产于云南、贵州、广西、四川等地,具有祛风散寒、活血通络止痛等功效;国内市场上已开发出该药的冻干粉针、注射液、胶囊剂、片剂、滴丸等单味药制剂,主要用于治疗心脑血管疾病、眼科疾病及老年性疾病,具有广阔的开发应用前景<sup>[1]</sup>。灯盏细辛的化学成分主要含有黄酮类、咖啡酸酯类、酚酸类化合物以及其它类化合物。目前灯盏细辛及制剂中多采用高效液相色谱法(HPLC)对野黄芩苷单一成分进行含量测定<sup>[2,3]</sup>,不能全面反映其质量。本研究采用超高效液相色谱(UPLC)法,建立了同时快速、高灵敏测定灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷含量的新方法,查阅国内文献,未见有关定量分析的报道。并对不同产地灯盏细辛药材此3种成分进行了测定研究,为进一步完善灯盏细辛的质量控制体系提供了实验依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

液相色谱仪为美国Waters公司Acquity UPLC系统,包括二元高压梯度泵、自动进样器、二极管阵列检测器以及Empower色谱工作站。

### 1.2 试剂

乙腈、甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

### 1.3 对照品、药材

绿原酸(批号110753-200212)、野黄芩苷(批号110842-200403,纯度为97.12%)对照品购自中国药品生物制品检定所;飞蓬苷对照品自制(系从灯盏细辛药材中提取分离,经UV、IR、NMR和MS鉴定结构,HPLC归一化检查,纯度大于98%以上)。

灯盏细辛样品来源于云南、贵州和四川等地,并经贵阳医学院药学院龙庆德副教授鉴定。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 供试品溶液** 精密称定粉碎过40目筛的灯盏细辛样品约0.5g,精密加入50%甲醇50mL,称定重量,加热回流2h,放冷,再称定重量,用50%甲醇补足减失的重量,摇匀,离心,取上清液用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

**2.1.2 对照品溶液** 精密称取对照品飞蓬苷14.16mg、绿原酸6.25mg、野黄芩苷12.91mg,置于25mL量瓶中,用50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷浓度分别为0.5664 μg/mL,0.2500 μg/mL,0.5015 μg/mL混合对照品贮备液。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:Acquity BEH C<sub>18</sub>(2.1 mm × 150 mm,1.7 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸(B)梯度洗脱(0 min 2% A;3 min 5% A;4 min 13% A;6 min 15% A;7 min 18% A;9 min 19% A;9.1 min 80% A;10 min 80% A);流速:0.35 mL/min;柱温40℃;检测波长:260 nm(检测飞蓬苷),326 nm(检测绿原酸)和335 nm(检测野黄芩苷);进样量:1 μL。在此条件下,飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷与其他组分分离完全,理论塔板数均不低于10 000。对照品及样品色谱图见图1。

### 2.3 线性关系考察

分别精密吸取上述混合对照品贮备液0.5,1,2,4,6,8 mL置于10 mL量瓶中,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.22 μm微孔滤膜滤过,分别进样1 μL,按上述色谱条件测定,以色谱峰峰面积(Y)为纵坐标,以飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线并进行线性回归。飞蓬苷回归方程为 $Y=4\ 934\ 909X-7\ 794$ , $r=0.9999$ ;绿原酸回归方程为 $Y=7\ 287\ 380X-11\ 541$ , $r=0.9996$ ;野黄芩苷回归方程为 $Y=4\ 944\ 101X+1\ 346$ , $r=0.9998$ ;结果表明飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷浓度分别在28.32~453.12,12.50~200,25.08~401.20 μg/mL范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.4 精密度试验

取上述飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷混合对照品溶液(浓度分别为113.28,500.00,100.30 μg/mL)重复进样6次,测定峰面积。飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷峰面积的RSD( $n=6$ )为0.76%,0.46%,0.82%。结果表明,仪器精密度良好。

### 2.5 重复性试验

精密称取同一批灯盏细辛样品(贵州雷山样品),共6份,按“2.2.1项供试品溶液”项下方法操作,在上述色谱条件下进样,飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的平均含量( $n=6$ )分别为1.60%,0.82%,2.42%;RSD( $n=6$ )分别为1.26%,1.52%,1.16%。结果表明,重复性良好。

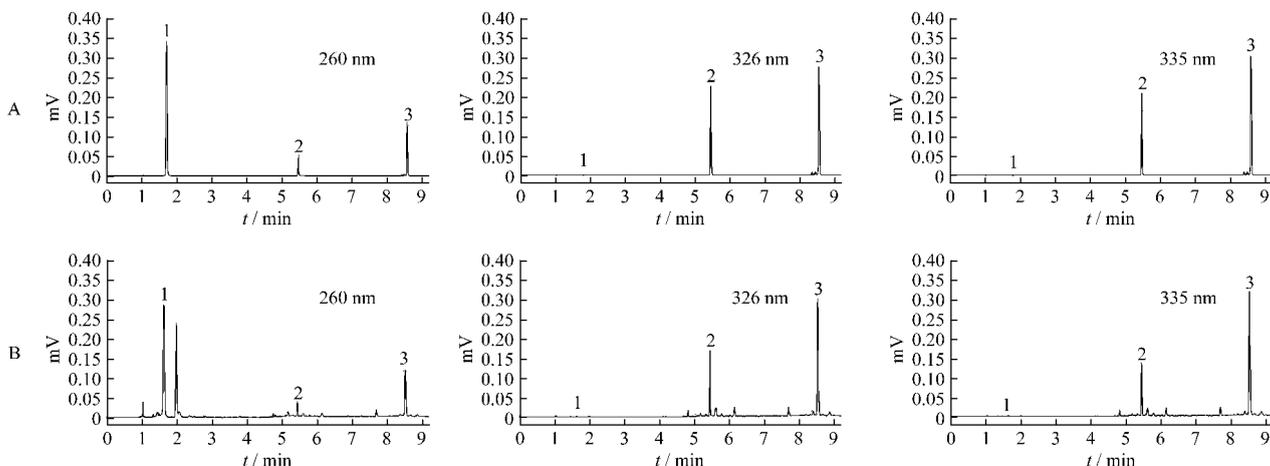


图1 对照品(A)与贵州雷山样品(B)UPLC色谱图

1. 飞蓬苷 2. 绿原酸 3. 野黄芩苷

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(贵州雷山样品),分别在0,1,2,4,8,12 h 进样分析,测得飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷峰面积的RSD( $n=6$ )分别为0.69%,1.33%,1.56%。结果表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

### 2.7 回收率试验

精密称取6份已知含量的灯盏细辛(贵州雷山样品)约0.25 g,分别按相当于药材中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷100%的量精密加入混合对照品溶液,按供试品溶液的制备方法制得供试品溶液,进样测定,求得飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷回收率平均值( $n=6$ )分别为101.43%,97.49%,99.38%;RSD分别为1.72%,1.61%,2.04%。

### 2.8 样品测定

取收集的不同产地的灯盏细辛药材,按“2.1.1 供试品溶液”项下方法操作,在上述色谱条件下进行分析,用外标法计算样品中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的含量。14批药材含量测定结果见表1。

表1 不同产地灯盏细辛样品中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的含量测定结果( $n=2$ )

样品 编号	产地	飞蓬苷		绿原酸		野黄芩 苷	
		1%	RSD 1%	1%	RSD 1%	1%	RSD 1%
1	云南大理	0.35	2.34	0.31	0.82	1.18	0.88
2	云南楚雄	1.12	1.26	0.77	1.66	2.39	1.15
3	云南文山	3.94	0.76	0.63	2.81	3.14	0.45
4	贵州花溪	2.79	1.30	0.36	1.85	2.07	1.11
5	贵州花溪	2.11	0.89	0.24	1.71	1.81	0.77
6	贵州关岭	2.30	0.48	0.49	2.22	2.48	1.06
7	贵州关岭	0.93	1.10	0.25	2.92	2.08	1.61
8	贵州龙里	0.57	2.19	0.54	0.62	2.81	1.27
9	贵州龙里	0.76	1.89	0.46	1.95	1.39	0.51
10	贵州雷山	1.60	1.11	0.82	2.18	2.42	1.64
11	四川雅安	1.49	2.52	0.36	0.97	1.61	0.88
12	四川甘孜	1.60	1.25	0.28	1.66	1.44	1.28
13	四川甘孜	1.67	0.36	0.37	2.20	1.29	2.29
14	四川凉山	1.89	1.28	0.51	1.27	2.69	0.46

### 3 讨论

#### 3.1 检测指标的选择

近年来随着灯盏细辛研究的深入,发现除了以野黄芩苷为代表的黄酮类成分外,其所含的酚酸类成分和其它小分子化合物也是灯盏细辛中不可忽视的活性成分<sup>[4]</sup>。笔者从灯盏细辛中分离鉴定出了飞蓬苷、绿原酸等化合物,且在药材中含量较高。本文同时测定了灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的含量,为更客观地评价灯盏细辛的质量提供了实验依据。

#### 3.2 提取方法的选择

中国药典2005年版一部<sup>[5]</sup>与《贵州省中药材民族药材质量标准》(2003年版)<sup>[6]</sup>灯盏细辛含量测定项下的方法在提取方法、提取溶剂上有较大差异。为此,对两种测定方法进行了试验比较,结果表明药典方法测定结果明显偏低,分析其原因,主要是药典法采用三氯甲烷索式提取后甲醇索提的方法对野黄芩苷提取不完全所致。因此,我们在《贵州省中药材、民族药材质量标准》灯盏细辛回流提取方法的基础上,对提取溶剂、提取时间进行了考察,以50%甲醇回流提取2 h综合指标较好,具有操作简便、快速灵敏等优点。

#### 3.3 检测条件的选择

本研究采用UPLC方法,在10 min内即可同时准确测定灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷的含量;UPLC作为HPLC分析方法的一种突破,为中药多成分复杂体系的分析提供了一种新的强有力工具。试验曾对不同配比流动相系统进行考察,结果表明,以乙腈-0.1%磷酸为流动相梯度洗脱分离效果较好。利用二极管阵列检测器(PDA)检测,得到各波段的三维色谱及光谱图,其色谱峰与相应对照品色谱峰的保留时间及紫外光谱一致;飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷分别在260,326,335 nm有最大吸收,飞蓬苷在300 nm后基本无吸收,绿原酸和野黄芩苷在260 nm附近为吸收波谷,在同一波长下的测定结果不甚理想,因此,采用PDA选择在各成分最大吸收波长下进行测定,提高了检测灵敏度。经过方法学考察,证明本方法准确可靠,重复性好。

### 3.4 测定结果分析

经对不同产地的灯盏细辛中飞蓬苷、绿原酸和野黄芩苷含量测定,表明本方法能达到有效分离各组分的目的,可作为灯盏细辛的质量控制方法;同时表明不同地域的灯盏细辛中3种成分的含量存在明显差异,说明生态环境、采收时间和储存条件等可能对含量产生影响。上述结果提示,为保证灯盏细辛相关制剂批次间质量的一致性,应加强灯盏细辛的质量控制,必要时固定药材的来源。

#### 参考文献:

[1] 杨莉. 灯盏花制剂的临床应用[J]. 四川中医, 2007, 25(3):

40-42.

- [2] 王淑红, 熊英, 王祥红. 加速溶剂萃取法用于灯盏细辛中灯盏乙素的测定[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(5): 703-705.
- [3] 戴航, 侯小涛, 谢植轰, 等. 益脉康胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(6): 11-13.
- [4] 孙汉董. 现代化是中药与植物药发展的必由之路[J]. 云南中医学院学报, 2004, 27(1): 3-5.
- [5] 中国药典[S]. 一部. 2005: 100.
- [6] 贵州省药品监督管理局编. 贵州省中药材民族药材质量标准. 2003年版[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 172.

## 蓝萼香茶菜化学成分研究(II)

项昭保<sup>1,3</sup>, 陈海生<sup>2</sup>, 王光利<sup>1</sup>, 姚干<sup>1</sup>, 李晓辉<sup>3\*</sup>

(1. 重庆邮电大学生物信息学院, 重庆 400065; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 3. 第三军医大学药学院, 重庆 400030)

关键词: 蓝萼香茶菜; 化学成分; 结构鉴定

摘要: 目的: 进一步研究来自辽宁省的蓝萼香茶菜(*Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara var. *glauco-calyx* (Maxim.) Hara) 化学成分。方法: 对蓝萼香茶菜 80% 乙醇提取物的正丁醇部分进行色谱分离, 根据光谱数据和理化性质确定各化合物的结构。结果: 从蓝萼香茶菜正丁醇部分中分离得到 5 个化合物, 分别为槲皮素-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(querctin-7-O- $\alpha$ -L-rhamnoside I), 槲皮素-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(querctin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside II), 芦丁(rutin, III), 金合欢素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(acacetin-7-O- $\beta$ -D-glucoside IV) 和柯伊利素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(chrysoeriol-7-O- $\beta$ -D-glucoside V)。结论: 化合物 I, IV 和 V 首次从该植物中发现。

中图分类号: R284.1

文献标识码: B

文章编号: 1001-1528(2010)09-1622-03

蓝萼香茶菜为唇形科(*Labiatae*) 香茶菜属(*Isodon*) 植物蓝萼香茶菜 [*Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara var. *glauco-calyx* (Maxim.) Hara] 的全草, 又名回菜花、倒根野苏、山苏子等。味苦、性良, 具有健胃消食、清热解暑之功效, 主治脘腹胀痛、食滞纳呆、胁痛黄疸、感冒发热、乳痈、蛇虫咬伤<sup>[1]</sup>。民间用于胃炎、肝炎初期、感冒发热、乳腺炎、关节病等疾病。为了了解其药理活性成分, 作者对蓝萼香茶菜化学成分进行了研究, 前文<sup>[2]</sup>报道了从乙酸乙酯部分中分离鉴定了 8 个化合物, 进一步研究从正丁醇部位分离并鉴定了 5 个化合物, 分别为槲皮素-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(I), 槲皮素-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(II), 芦丁(rutin, III), 金合欢素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(IV) 和柯伊利素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(V)。化合物 I, V 和 VI 为首次从该植物中发现。

### 1 实验仪器与材料

Q-T of micro 质谱仪(ESI-MS); 核磁共振仪(Bruker

DRX-600 型); 柱色谱硅胶(200~300 目, 烟台芝罘黄务硅胶开发试验厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 反相硅胶 C<sub>18</sub> (40~70  $\mu$ m) (Merck 公司); 药材 2001 年 10 月采自辽宁省鞍山市, 经第二军医大学药学院生药学教研室张汉明教授鉴定。

### 2 提取与分离

蓝萼香茶菜 8 kg, 粉碎后用 80% 乙醇加热回流提取 3 次, 减压回收溶剂得流浸膏约 360 g, 分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取。取正丁醇萃取物(30 g) 经硅胶柱层析(甲醇-水溶剂系统)、Sephadex LH-20 凝胶柱层析和 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析得到化合物 I (130 mg), 化合物 II (15 mg), 化合物 III (62 mg), 化合物 IV (59 mg) 和化合物 V (10 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物(I): 黄色无定型粉末, Molish 反应呈阳性, ESI-

收稿日期: 2009-06-19

基金项目: 中国博士后科学基金(20090460111); 重庆市教委科学技术研究资助项目(KJ100509)

作者简介: 项昭保(1977-), 男, 博士, 副教授。从事天然活性成分研究, Tel: (023)62461625 E-mail: xiangzb@126.com

\* 通讯作者: 李晓辉, 博士生导师, 教授。Tel: (023)687523 E-mail: lpsh008@yahoo.com.cn