

4 讨论

厚朴是一种应用较广的重要中药材, 最近的研究表明, 其中厚朴酚^[4] 与和厚朴酚^[5] 有抑制癌细胞的潜能, 厚朴药材将会有更加广泛的医药用途; 寻找合适的厚朴皮替代品将具有较大的研究价值。本实验利用美国先进的快速萃取系统进行提取方法的研究, 结果理想; 但由于系统的萃取压力不可调, 固定为 1 500 psi, 因此正交试验中没有考察萃取压力因子的影响。

厚朴叶中总酚的含量是未发汗厚朴皮的 1/4, 提示厚朴叶有替代厚朴皮入药的潜能; 然厚朴叶中的厚朴酚与和厚朴酚的含量组成与皮有较大差异, 入药应综合考虑。

参考文献:

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 661.
- [2] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 448.
- [3] 瞿京红. 厚朴皮与叶及不同炮制法酚性成分的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(12): 766.
- [4] LIN Shyr-yi, LIU Jear-dean, CHANG Hui-chiu, *et al.* Magnolol suppresses proliferation of cultured human colon and liver cancer cells by inhibiting DNA synthesis and activating apoptosis[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2001, 84(3): 532-544.
- [5] XIAN He-bai, Francesca CM, Masuko U F, *et al.* Honokiol, a small molecular weight natural product, inhibits angiogenesis *in vitro* and tumor growth *in vivo*[J]. J Biol Chem, 2003, 278(37): 35501-35507.

[收稿日期] 2006-08-17

高效液相色谱法测定番泻叶及其配方颗粒中番泻苷 A 的含量

蔡进章¹, 潘晓军², 林观样³ (1. 温州医学院附属第二医院药剂科, 浙江 温州 325000; 2. 温州医学院药学院, 浙江 温州 325035; 温州医学院附属第一医院, 浙江 温州 325000)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定番泻叶及其配方颗粒中番泻苷 A 含量的方法。方法: 色谱柱为 Alltima C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为四氢呋喃-水-醋酸 (15: 85: 1.5); 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长为 365 nm; 柱温: 30 ℃。结果: 番泻苷 A 在 0.02~0.1 g · L⁻¹ 时线性关系良好。回归方程为 $A = 57.14X + 9.61$, $r = 0.9991$ 。加样回收率为 99.04%, RSD 为 1.27%。结论: 该方法操作简便, 可靠, 易行。

[关键词] 高效液相色谱; 番泻叶; 番泻苷 A; 配方颗粒

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2007)05-0696-02

番泻叶为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl. 或尖叶番泻 *Cassia acutifolia* Lelile. 的干燥叶, 具有泻热行滞、通便、利水等功效, 用于热结积滞、便秘腹痛、水肿胀满的治疗, 是临床上最常用的泻下药之一^[1]。番泻苷 A、B、C 等二蒽酮类化合物是其主要药效成分。临床应用中发现, 部分批次的番泻叶配方颗粒按常规与番泻叶同等剂量服用后, 泻

下作用不明显甚至无泻下作用, 达不到预期效果。因此, 为准确、简便控制番泻叶及其配方颗粒中番泻苷的含量, 本实验进行了高效液相色谱法测定番泻叶及其配方颗粒中番泻苷 A 的方法学研究。

1 材料

HP1100 高效液相色谱系统(美国惠普公司); 番泻苷 A 对照品(sigma, 批号 2013399); 番泻叶(配方颗粒深圳三九南方制药有限公司, 批号 20010101, 20020913, 20050401); 四氢呋喃为色谱纯; 水为注射用水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Alltima C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 四氢呋喃-水-醋酸 (15: 85: 1.5); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 365 nm; 柱温: 30 ℃。此条件下番泻苷 A 理论塔板数不低于 4 300。对照品及样品色谱图见图 1。

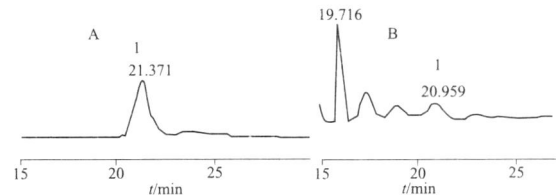


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品溶液; B. 样品溶液; 1- 番泻苷 A

Fig 1 HPLC chromatogram

A. reference substance; B. sample solution; 1. the peak of sennoside A

2.2 对照品溶液的制备 取番泻苷 A 对照品 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加入 20 mL 2% 碳酸氢钠溶液, 使对照品溶解完全, 用注射用水稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.1 g · L⁻¹ 的对照品储备液备用。

2.3 标准曲线制备 精密吸取标准品储备液 5, 10, 15, 20, 25 mL 于 25 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 制成不同质量浓度的标准溶液。依次取 20 μL 进样, 每个质量浓度重复 3 次。峰面积(A)对番泻苷 A 质量浓度(C)进行回归, 回归方程为 $A = 57.14C + 9.61$, $r = 0.9991$, 在 0.02~0.1 g · L⁻¹ 线性关系良好。

2.4 精密度试验 在上述色谱条件下, 精密吸取对照品溶液 (0.06 g · L⁻¹) 20 μL, 连续进样 5 针, 测定峰面积, 按外标法计算含量, 平均值为 0.0601 g · L⁻¹, RSD 为 0.68%。

2.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液 (0.06 g · L⁻¹), 按“样品测定”项下方法处理, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 对样品进行分析, 平均值为 0.0594 g · L⁻¹, RSD 为 2.4%。

2.6 重复性试验 取同一批 (20050401) 样品溶液共 5 份, 按“样品测定”项下方法处理, 测定并计算番泻苷 A 含量, 平均值为 0.323%, RSD 为 1.1%。

2.7 样品测定 取药材样品粉末 0.5 g, 精密称定, 精密加入 80% 甲醇 25 mL, 称重, 超声 15 min, 补加溶剂至原重, 滤过, 取续滤液 20 mL 于 25 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇定容, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 滤液进样 20 μL。测得番泻苷 A 的峰面积, 计算番泻苷 A 相对百分含量, 结果见表 1。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品 (20050401) 共 5 份, 每份 0.25 g, 精密称定。分别精密加入对

表 1 样品测定结果

Tab 1 The results of sample determination		
批号	样品类型	相对含量/ %
20010101	番泻叶	0.252
20010101	配方颗粒	无吸收峰
20020913	番泻叶	0.246
20020913	配方颗粒	无吸收峰
20050401	番泻叶	0.323
20050401	配方颗粒	0.266

照品溶液,按“样品测定”项下方法制备供试品溶液,测定,并计算番泻苷 A 的含量,结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

Tab 2 The results of recovery test					
样品中 含量/ mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回 收率/ %	RSD / %
0.828	0.500	1.326	99.6		
0.835	0.500	1.332	99.4		
0.870	0.500	1.354	96.8	99.04	1.27
0.816	0.500	1.315	99.8		
0.862	0.500	1.360	99.6		

3 讨论

番泻苷 A 在紫外 200~ 400 nm 波长范围内进行扫描,在 365,280 nm 处均有较强吸收,但番泻叶中多种成分在 280 nm 处均有吸收,且干扰较大,所以选择 365 nm 作为检测波长。

提取液中含有番泻苷 A、B 等相似结构的蒽醌衍生物,用乙腈、甲醇等溶剂作流动相进行实验,发现不能有效分离。用四氢呋喃-水-醋酸(15:85:1.5, pH 小于 4)做流动相,番泻苷 A 的保留时间为 21 min,能与其他成分较好分离。而番泻苷 A 不溶于水,微溶于甲醇,在对照品溶液的配制过程中加入少量的碱,使其溶解完全。

番泻苷 A 结构中含有羧基,在植物中大量以钙盐形式存在,可用水提取,加醇^[2]或超声处理^[3]有利于番泻苷 A 的溶出,但患者在实际应用中不可能用这两种方法。模拟药物的临床使用过程,升高温度,增加浸泡次数和浸泡时间均有助于番泻苷 A 溶出^[4]。因此向患者交代医嘱时应注意这点。

由于番泻苷 A 不稳定,原工艺的配方颗粒(批号 20020913, 20010101)可能由于生产过程中温度偏高、时间偏长,致其含量降低,加之样品放置时间较长,使其在含量测定时出现无吸收峰现象。这一结果与其在临床应用过程中出现治疗量时无泻下作用相吻合。

工艺改进后(指据厂方介绍)的番泻叶配方颗粒(批号 20050401, 番泻苷 A 含量 0.266%)在临床应用中泻下作用与同等剂量的原药材(批号 20050401, 番泻苷 A 含量 0.323%)相当,提示其所含的番泻苷类成分较少被破坏,同时也说明其生产工艺更加成熟、合理。

参考文献:

[1] 中国药典.一部[S]. 2005: 242.
[2] 刘圣, 田莉, 陈象清, 等. 正交试验优选番泻叶提取工艺研究[J]. 基层中药杂志, 1998, 12(1): 43-44.
[3] 王文莉, 俞作仁, 汤浩, 等. 用正交试验研究番泻叶中总番泻苷的超声提取工艺[J]. 中南药学, 2003, 1(3): 152-153.
[4] 林观样, 潘晓军, 蔡进章, 等. 不同浸泡方法对番泻叶中番泻苷

A 浸出率的影响比较[J]. 医药导报, 2006, 25(8): 816-817.
[收稿日期] 2006-06-21

高效液相色谱法测定妇康宝口服液中芍药苷的含量

巫华¹, 谢升阳², 丁³ (1. 浙江缙云县人民医院药剂科 321400; 2. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310006; 3. 丽水市人民医院, 浙江 丽水 323000)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定妇康宝口服液中芍药苷含量的方法。方法: 采用高效色谱法, 色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS, 乙腈-水-冰醋酸(30:70:0.6)为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 230 nm。结果: 芍药苷的含量测定线性范围为 9.94~99.40 mg·L⁻¹, 平均回收率为 98.53%, RSD 分别为 0.63%。结论: 本方法简便、可靠、准确。

[关键词] 芍药苷; 高效液相色谱; 妇康宝口服液
[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1004-5213(2007)05-0697-02

妇康宝口服液收载于 1996 年版卫生部颁标准十一册^[1]。其处方源于我国中医经典名著《金匱要略》中所收载的“胶艾汤”。方中药物组成为阿胶、艾叶、甘草、当归、川芎、白芍、熟地黄等。本品具有补血调经, 止血安胎之功效, 用于失血过多, 面色萎黄, 月经不调, 小腹冷痛, 胎漏胎动, 痔漏下血等。在部颁标准中没有关于妇康宝口服液的含量测定项, 本实验制定了以芍药苷的含量测定法, 其方法稳定可靠, 重复性好。

1 材料

LC-10AT 高效液相色谱仪, LC-10Avp 紫外检测仪(日本岛津公司); 6010 型紫外-可见分光光度计(安捷伦上海分析仪器公司); Shim-pack CLC-ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱(日本岛津公司); 妇康宝口服液(通化茂祥制药有限公司, 批号 20030807, 20030808, 20030809); 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110736-200423); 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 精密量取本品 5.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加入甲醇至刻度, 超声处理 40 min, 放冷, 补充甲醇至刻度, 滤过, 精密量取续滤液 10.0 mL, 置已处理好的中性氧化铝柱(200~300 目, 5 g, 内径 1.5 cm, 干法装柱)上, 用 80% 甲醇 100 mL 洗脱。收集洗脱液, 蒸干, 残渣加流动相使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。

2.1.2 阴性供试溶液 采用量取缺味白芍样品 5 mL, 按上述操作制备阴性对照溶液, 缺味对芍药苷含量测定无干扰, 芍药苷峰的理论塔板数不小于 2 000。

2.2 色谱条件与系统适用性试验 固定相: 十八烷基硅烷

[作者简介] 丁以华, 学士, 副主任药师, 电话: 0578-3148071 [通讯作者] 丁汀, 学士, 副主任药师, 电话: 0578-2780158, E-mail: dtcjcm@163.com