

含量/最大淫羊藿苷含量) × 60%

数据统计分析用正交设计助手 II V3.1, 方差分析结果见表 3。

从正交结果可知: 各因素对综合评分的影响大小顺序为 B(乙醇浓度) > C(提取时间) > D(提取温度) > A(料液比)。每个因素三个水平之间的趋势为 $A_3 > A_1 > A_2$, $B_3 > B_2 > B_1$, $C_1 > C_2 > C_3$, $D_3 > D_2 > D_1$, 直观分析得提取工艺为 $A_3B_3C_1D_3$ 。从方差分析结果可知: B 因素影响有显著性差异 ($P < 0.05$), C、D 因素影响有一定显著性差异 ($P < 0.1$), A 因素影响无显著性差异 ($P > 0.1$)。故优选提取工艺为 $A_3B_3C_1D_3$, 即料液比为 1:12, 乙醇浓度为 70%, 提取时间为 20 min, 提取温度为 55 °C。

表 3 方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
料液比(误差)	15.860	2	1.000	19.00	
浓度	433.543	2	27.336	19.00	$P < 0.05$
时间	218.408	2	13.771	19.00	$P < 0.1$
温度	197.856	2	12.475	19.00	$P < 0.1$

注: $F_{0.1}(2, 2) = 9.00$, $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$, $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ 。

2.6 验证试验

根据所筛选的最佳提取条件提取 3 批淫羊藿药材, 依次测得各批药材的淫羊藿苷含量, 结果见表 4, 验证结果与正交试验结果相近, 证明该工艺稳定可行。

表 4 验证试验结果

序号	淫羊藿苷含量/(mg/g)	RSD/%
1	42.75	
2	43.13	0.77
3	42.47	

2.7 动态逆流提取与常规热回流提取工艺的比较

各取 500 g 淫羊藿药材, 分别按回流提取工艺^[5](将药

材浸泡 2 h, 过滤, 加入 10 倍量的 70% 乙醇回流 3 次, 前 2 次各 2 h, 后 1 次回流 1 h) 和动态逆流提取工艺(本文实验方法)进行比较, 结果见表 5。

从表 5 可知, 动态逆流提取工艺与热回流提取工艺相比, 淫羊藿苷的提取率提高了 20% 以上, 效果显著, 溶剂消耗量明显下降, 提取时间也大大缩短, 生产效率大幅度提高。

表 5 两种工艺各指标结果比较 ($n = 4$)

提取方法	提取温度/°C	溶剂用量/倍	提取时间/h	淫羊藿苷提取率/%
热回流提取	85	28	5	66.35
动态逆流提取	55	13.3	3.5	87.43

3 结论

由于使用了动态逆流提取工艺, 最大程度提高了乙醇利用率, 因而乙醇用量从热回流工艺的 28 倍减少到动态逆流提取工艺的 13 倍, 使得生产过程中乙醇周转量和实际消耗量大大下降, 而且本工艺使有效成分的转移率达到 87% 以上, 较热回流提取工艺有较大提高。

参考文献:

- [1] 谢志鹏, 刘雪松, 陈勇等. 动态罐组式逆流提取技术在中药生产中的应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10): 884-887.
- [2] 季艳艳, 常新全, 赵润怀. 组罐式动态逆流提取技术及其在中药提取中的应用[J]. 中国现代中药, 2006, 8(12): 27-30.
- [3] 孙成贺, 王英平, 赵景辉等. 正交设计法优化淫羊藿提取工艺研究[J]. 特产研究, 2007(1): 49-50.
- [4] 中国药典[S]. 一部 2005: 附录 56 X A.
- [5] 卢泓, 庄珂. 正交设计优选淫羊藿提取工艺研究[J]. 长春中医学院学报, 2004, 20(3): 36-37.

LC-MS/MS 方法测定中成药麻仁丸中添加伪品大黄的研究

孙爱萍¹, 张西如^{2*}, 谷菲菲¹

(1. 河北化工医药职业技术学院机电工程系, 河北 石家庄 050026; 2. 河北省药品检验所, 河北 石家庄 050011)

关键词: 麻仁丸; 大黄; 伪品大黄; 土大黄苷; 液相色谱-质谱联用法

摘要: 目的: 建立检测中成药麻仁丸中使用伪品大黄充当正品大黄的专属方法。方法: 采用液相色谱-串联四级杆质谱联用法。通过相对分子质量、二级质谱碎片信息、液相色谱保留时间和紫外光谱四方面信息, 对麻仁丸提取液进行液相色谱-质谱分析, 通过与土大黄苷对照品的光谱、色谱及质谱行为的比较, 对麻仁丸中是否含有土大黄苷进行定性分析鉴别, 从而判断用伪品大黄充当正品大黄药用的情况。结果: 在 14 批受试麻仁丸中检出 10 批中含有土大黄苷。结论: 该

收稿日期: 2010-06-02

作者简介: 孙爱萍(1963-), 女, 副教授, 硕士, 研究方向: 仪器检验及维护。

* 通讯作者: 张西如(1965-), 女, 主任药师, 研究方向: 药物分析。Tel: (0311) 85212004-8035 E-mail: zxxr3487@126.com

方法选择性强,灵敏度高,可作为分析检测麻仁丸中非法使用伪品大黄的情况。

中图分类号:R 927

文献标识码:B

文章编号:1001-1528(2011)02-0357-03

中成药“麻仁丸”的化学成分为白芍、大黄、厚朴、火麻仁、苦杏仁、枳实。具有泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经的功能。用于实热便秘,积滞腹痛,泻痢不爽,湿热黄疸等症^[1]。其中大黄为常用中药,来源于蓼科植物掌叶大黄(*R. palmatum* L.)、唐古特大黄(*R. tanguticum*)或药用大黄(*R. officinale* Baill.)的干燥根及根茎^[2]。正品大黄和伪品大黄同为蓼科植物,含有相同的大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚^[3-5]。正品大黄含有番泻苷A和番泻苷B的泻下成分,而不含土大黄苷。伪品大黄因不含番泻苷A和番泻苷B,含土大黄苷而无泻下作用^[6]。土大黄苷具有抗菌、改善微循环、降血脂、降血糖、抗肿瘤、抑制过敏反应、调控机体免疫防御系统、抗血栓以及抗氧化等作用。长期以来大黄药材混乱现象比较严重,伪品大黄充当正品大黄药用的情况常有发生,于是就导致了“病准方对药不灵,成药效果又不佳”的现象发生,加之含大黄的成药标准中存在着未完善的地方,从而不能完全保证用药安全有效。因此,有必要建立灵敏、可靠的分析方法对中成药麻仁丸制剂中掺入的伪品大黄进行鉴定。作者建立了液相色谱及直接电喷雾串联四级杆质谱法^[7-10],可以快速、准确地对麻仁丸中是否含有土大黄苷作出判断,进一步判断是否有用伪品大黄充当正品大黄药用的情况。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津 LC-20AD 液相色谱仪-AP13200 质谱联用仪;赛多利斯 BP211D 型电子天平。

1.2 试剂 土大黄苷对照品(批号 794-200103,中国药品生物制品检定所);麻仁丸样品均为市售样品。所用试剂乙腈为色谱纯,水为超纯水,其它试剂均为分析纯。

2 色谱条件

2.1 HPLC 条件 色谱柱:资生堂 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:以水-乙腈(45:55);紫外波长:200~400 nm;柱温:35℃;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL。

2.2 LC-MS 条件

HPLC 条件:0.01 mol/L 醋酸铵-乙腈(40:60);流速:1.0 mL/min;进样量:5 μL。

MS 条件:电喷雾离子化负离子检测方式(ESI⁻);质核比范围:100~600;离子源电压:-5 000 V;雾化气:10 L/min(高纯氮气);加热辅助气:10 L/min(高纯氮气);气帘气:10 L/min(压缩空气);离子源温度:500℃;锥孔电压:-10 V;去簇电压:-65 V;碰撞能量:-20 V。

3 溶液的配制

3.1 对照品溶液的制备 精密称取土大黄苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液,即得。

3.2 供试品溶液的制备 取本品蜜丸适量,剪碎,精密称取 4 g,加甲醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,精密量取滤液 5 mL,至 100 mL 的量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45

μm 的滤膜过滤,即得。

4 土大黄苷对照品的色谱、光谱及质谱行为

采用负离子检测方式对土大黄苷对照品进行 HPLC、MS 和 MRM 分析,保留时间为 26 min。土大黄苷的准分子离子[M-H]⁻峰为 m/z 419;对 m/z 419 进行离子扫描,产生的主要碎片离子 m/z 为 257 和 241,相应的图谱见图 1,推测其质谱裂解途径如图 2 所示。

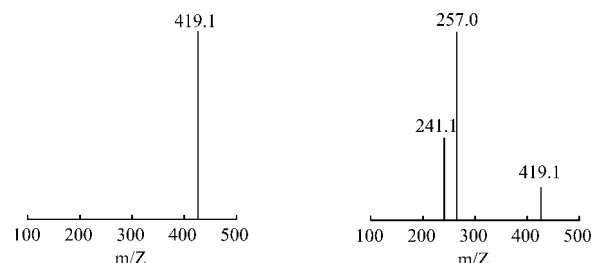


图 1 土大黄苷的一级(A)和二级(B)质谱图

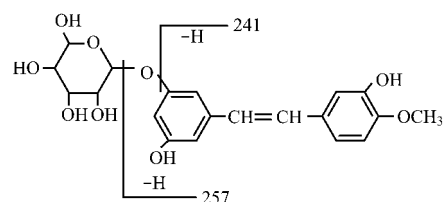


图 2 土大黄苷对照品在 ESI(-) 方式下的质谱裂解

5 供试品溶液的定性检测

在相同的色谱及质谱条件下对麻仁丸的供试品溶液进行 HPLC、MS 和 MS-MS 分析,在样品中检测到土大黄苷的准分子离子即 m/z 419,对 m/z 419 进行二级全扫描质谱分析,产生与土大黄苷对照品完全一致的碎片离子,且紫外光谱、保留时间分别与土大黄苷对照品相同。

结合紫外光谱、液相色谱保留时间、准分子离子和二级质谱裂解碎片四方面的信息,可以证明所检查的麻仁丸样品中有土大黄苷存在,既可以判断麻仁丸中被非法掺入了伪品大黄。

6 讨论

对液质联用的条件进行了优化,结果表明,采用 0.01 mol/L 醋酸铵-乙腈为流动相离子化好,峰响应值高,色谱峰峰对称,色谱分离结果较为理想。考察了不同离子化模式对分析结果的影响,结果发现,在负离子模式下可获得较好的质谱信号。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 焦东海,杜上鉴.大黄研究[M].上海:上海科学技术出版社,

- 2000.
- [3] 卢 静. 大黄真伪品的鉴别[J]. 海峡药学, 2008, 20(1): 36.
- [4] 薛庆海. 大黄的鉴别及不同炮制品的运用[J]. 首都医药, 2009, 16(14): 56-57.
- [5] 杨成英. 大黄及其混伪品的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(12): 747.
- [6] 楼之岑. 大黄研究的回顾与前瞻[J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(增刊): 1-3.
- [7] 孙 佩. 大黄药材及饮片的土大黄新检验方法[J]. 四川中医, 2008, 26(12): 59-60.
- [8] 王秀冬, 毕建进, 黄丽华, 等. HPLC 测定河套大黄中土大黄苷的含量[J]. 军事医学科学院院刊, 2007, 31(5): 28-29.
- [9] 沈于兰, 杨 敏, 栾 洁, 等. 对大黄中土大黄苷检测方法的改进[J]. 中国药事, 2010, 24(5): 493-495.
- [10] 孙 慧, 朱 超, 章弘扬. 大黄及其炮制品的液质联用分析及物质基础比较[J]. 中成药, 2009, 31(3): 420-421.

正交法优选炒菟丝子的最佳炮制工艺

徐 鑫, 张学兰, 唐 超

(山东中医药大学, 山东 济南 250355)

关键词: 菟丝子; 炒制; 炮制工艺; 正交设计; 金丝桃苷

摘要: 目的: 多指标正交实验法优选炒菟丝子的最佳炮制工艺。方法: 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表安排实验, 以金丝桃苷和水溶性浸出物含量为指标, 对炒制温度和炒制时间进行考察。结果: 炒菟丝子的最佳炮制工艺为 170 °C, 炒制 5min。结论: 此法优选的炒菟丝子工艺合理可行。

中图分类号: R 284.1

文献标识码: B

文章编号: 1001-4528(2011)02-0359-03

菟丝子为旋花科植物菟丝子南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br. 或菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子, 具有滋补肝肾, 固精缩尿, 安胎, 明目, 止泻等作用, 临床上常用于肝肾不足, 腰膝酸软, 阳痿遗精, 遗尿尿频, 肾虚胎漏等的治疗^[1]。现代文献研究表明, 菟丝子的化学成分主要含有黄酮类、甾类化合物、多糖、微量元素及氨基酸等^[2-4]。药理实验研究表明, 菟丝子中黄酮类特征成分金丝桃苷是菟丝子的主要活性成分, 具有保护肝组织和增强免疫等作用^[5]。目前中国药典收载的菟丝子规格为菟丝子和盐菟丝子, 炒菟丝子作为传统的炮制规格, 目前还缺乏深入而系统的研究, 本实验研究了清炒菟丝子的客观工艺技术参数, 为炒菟丝子饮片的质量标准和炮制机理研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

菟丝子药材, 产地山东, 购自亳州成源中药饮片有限公司(批号: 20090501), 经周凤琴教授鉴定为旋花科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子。

多星电炒锅(淄博多星电器集团有限责任公司); PM PLUS 型红外测温仪(美国 Raytek 公司); KQ-250E 型医用超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司); LDZ4-0.8 型离心机(北京医用离心机厂); 1100 型高效液相色谱仪、工作站及紫外检测器(美国 Agilent 公司)。

金丝桃苷对照品(批号: 111521-200303) 购自中国药品生物制品检定所; 高效液相用乙腈为色谱纯; 潍坊娃哈哈饮

料有限公司纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 清炒工艺的设计 炒制温度和炒制时间对药材质量影响较大, 采用正交实验设计法, 因素与水平见表 1, 正交试验安排见表 2, 进行工艺优选。

表 1 因素与水平

水平	因素	
	炒制温度 A/°C	炒制时间 B/min
1	140	5
2	170	7
3	200	9

2.2 样品的制备 药材的投药量为 50 g, 取 9 份, 按正交设计表的组合, 用红外测温仪测定锅底温度, 进行炒制, 各样品性状及成品得率见表 3。

2.3 含水量的测定 取 2.2 项下的各样品(过 2 号筛)约 2.5 g, 精密称定, 按《中国药典》2010 版一部附录项下的烘干法测定, 9 份样品的含水量为 1.42% ~ 4.76%, 样品中各指标成分的含量以干燥品计算。

2.4 HPLC 法测定金丝桃苷含量^[1]

2.4.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱; 以乙腈-0.1% 磷酸水(17: 83)为流动相, 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C; 检测波长为 360 nm; 参比波长为 400 nm; 进样量为 20 μL。

收稿日期: 2010-07-27

作者简介: 徐 鑫(1986-), 男, 山东中医药大学 2008 级硕士研究生, 从事中药新药研发与中药炮制原理研究。Tel: 13583169579 E-mail: bohan_0427@163.com