

异鼠李素、山柰素质量浓度分别为 44.8、353.2、94.9 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定。结果槲皮素、异鼠李素、山柰素的平均回收率分别为 98.0%、98.0%、100.9%,

RSD 分别为 1.70%、2.50%、2.19%。
2.9 样品的测定: 分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μL , 进样测定, 以峰面积按外标法计算, 结果见表 2, 色谱图见图 1。

表 2 蒲黄炭中槲皮素、异鼠李素和山柰素的测定结果 ($n=2$)
Table 2 Quercetin, isorhamnetin, and kaempferol in *Pollen Typhae Carbonisatus* ($n=2$)

产地	批号	质量分数/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)			产地	批号	质量分数/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)		
		槲皮素	异鼠李素	山柰素			槲皮素	异鼠李素	山柰素
内蒙	nm11	0.038 1	0.408 3	0.082 4	江苏	js10	0.127 2	0.715 2	0.172 0
内蒙	nm12	0.074 9	0.645 7	0.074 2	江苏	js20	0.133 1	0.719 0	0.173 0
内蒙	nm13	0.053 2	0.416 8	0.048 7	宁夏	nx10	0.081 1	0.474 1	0.127 2
内蒙	nm20	0.039 9	0.359 4	0.125 3	宁夏	nx20	0.072 8	0.502 3	0.152 7
内蒙	nm30	0.066 5	0.414 5	0.099 4	宁夏	nx30	0.117 2	0.664 8	0.171 1

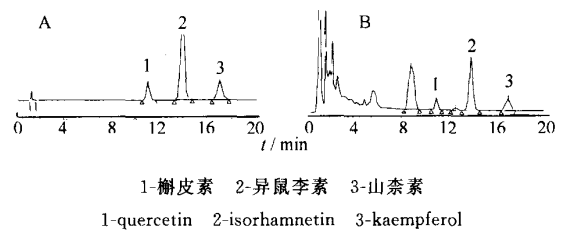


图 1 混合对照品(A)和蒲黄炭样品 nm11(B)HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC Chromatogram of mixed reference substances (A) and *Pollen Typhae Carbonisatus* sample nm11 (B)

3 讨论

3.1 对供试品溶液制备条件进行了考察。考察了取样量 1.0、1.5、2.0 g, 发现 1.0、1.5 g 取样量下黄酮水解都较完全, 但 1.0 g 取样量的峰面积较小, 不在线性范围内, 故确定取样量为 1.5 g。同时比较了不同加热温度 (80、90、100 $^{\circ}\text{C}$) 和不同水解时间 (30、60、90 min), 结果表明 100 $^{\circ}\text{C}$, 60 min 条件下可将蒲黄中黄酮水解完全, 故选择 100 $^{\circ}\text{C}$ 回流 1 h。另外对水解酸度的考察时, 对 CH_3OH -25% HCl 比较了

(7:1)、(5:1)、(4:1)、(3:1)、(2:1), 结果发现 (4:1)、(3:1)、(2:1) 对黄酮苷水解程度相当, 但高酸度对色谱柱和管路都有损害, 故选择了 CH_3OH -25% HCl (4:1) 比例。

3.2 本实验建立的 3 种黄酮苷元的 HPLC 测定方法, 可作为考察工艺的指标, 同时可作为控制炒蒲黄的内在质量。

3.3 通过药效学实验筛选发现炒蒲黄的总黄酮是其止血的主要活性部位, 10 批炒蒲黄的 HPLC 测定结果表明, 产自内蒙的黄酮苷元的量相对较高, 因此止血疗效较好。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[2] Liu B, Shi R B, Wang W. Study on the method for the quantitative determination of total flavone in *Pollen Typhae* [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2001, 24(4):23-25.
[3] Gao G Y, Liao M C, Feng Y X. Determination of flavonoids and quality evaluation of Chinese traditional drug "puhuang" [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(4):300-303.
[4] Liu B, Lu Y R. HPLC Determination of two flavonoids in *Pollen Typhae* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18(2):80-83.

HPLC 法测定舒筋活血片中杠柳毒苷

杨 虹, 刘 虹, 孙 巍 王 萌, 何 俊, 高秀梅

(天津中医药大学 中医药研究中心, 天津 300193)

舒筋活血片由红花、泽兰叶、香附、香加皮等 10 味药组成, 具有舒筋活络、活血散瘀之功效, 用于筋骨疼痛、肢体拘挛、腰背酸痛、跌打损伤。该药作为一

种治疗跌打损伤的内服药物, 在临床上有一定应用范围。本制剂中含有香加皮 *Periploca sepium* Bunge, 又名北五加皮、杠柳皮, 祛风湿、强筋骨, 主

收稿日期: 2006-04-03
基金项目: 天津市高等学校科技发展基金项目 (20050310); 天津市卫生局中医、中西医结合科研基金 (2005072); 天津市科委应用基础研究计划项目 (05YFJZJC01102)
作者简介: 杨 虹 (1981—), 女, 天津人, 天津中医药大学中医药研究中心硕士研究生, 毕业于天津医科大学药物制剂专业, 研究方向为中药化学。 Tel: (022) 23051114 E-mail: yangwawa811228@163.com

要用于风寒湿痹、腰膝酸软、心悸气短、下肢浮肿等。《中国药典》2005 年版记载香加皮“有毒”，临床上香加皮不良反应主要见恶心、呕吐、腹泻等胃肠道症状，以及心率减慢、早搏、房室传导阻滞等心律失常表现^[1]，因此有必要重视香加皮的不良反应。香加皮主要化学成分为强心苷类和 C₂₁甾体苷类，其中杠柳毒苷又名杠柳苷(periplocin)为强心苷成分，其作用与毒毛旋花子苷相似^[2]。鉴于舒筋活血片内服量大，长期服用有可能造成强心苷类成分的积聚。为有效的控制其中的毒性成分，同时也为制定质量标准提供依据，本实验对该片剂中的杠柳毒苷采用高效液相色谱法进行测定，为该制剂的质量控制提供了快速、简便、准确的测定方法。

1 仪器与试药

Waters 色谱系统(600 HPLC 泵, 2487 Dual λ Absorbance Detector), 超声波清洗器, 0.45 μ m 微孔滤膜。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 乙醇为医用乙醇。杠柳毒苷对照品(天津中医药大学中医药研究中心提供, 质量分数为 98% 以上), 舒筋活血片(市售)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为依利特 ODS 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水(24 : 76), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长 220 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取杠柳毒苷对照品 4.66 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取样品 20 片(规格: 0.3 mg/片), 研细, 精密称取 0.5 g, 置 25 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇约 20 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 加相同溶剂至刻度, 摇匀用微孔滤膜(0.45 μ m), 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 阴性空白试验: 按处方制备缺香加皮阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性溶液, 测定, 结果处方中其他药味无干扰。色谱图见图 1。

2.4 标准曲线的测定: 精密吸取杠柳毒苷对照品溶液 0.05、0.1、0.4、0.8、1.2、1.6、2 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 各取 20 μ L 分别注入色谱仪, 测定峰面积。以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线。得回归方程 $Y=1.0 \times 10^6 X-3.4 \times 10^3$, $r=0.9994$, 线性范围 0.004 66 ~ 0.186 40 μ g。

2.5 精密度试验: 精密吸取供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定杠柳毒苷峰面积, 计算得 RSD 为 1.6%。

2.6 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、

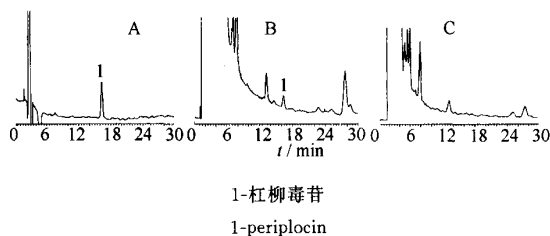


图 1 杠柳毒苷对照品(A)、舒筋活血片(B)和阴性样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of periplocin reference substance (A), Shujin Huoxue Tablets (B), and negative sample (C)

4、6、8 h 进样测定, 得杠柳毒苷峰面积积分值 RSD 为 2.3%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批号样品, 分别制备 6 份供试品溶液, 进样测定杠柳毒苷峰面积值, 计算得杠柳毒苷质量分数的 RSD 为 0.9%。

2.8 回收率试验: 取同一批号样品(含杠柳毒苷 0.103 2 mg/g) 6 份, 0.25 g, 精密称定, 精密加入 0.55 mL 杠柳毒苷对照品溶液(0.046 6 mg/mL), 制备供试品溶液, 测定, 结果平均回收率为 98.7%, RSD 为 1.9%。

2.9 样品测定: 精密吸取 1 mL 杠柳毒苷对照品溶液至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度得 4.66 μ g/mL 的杠柳毒苷对照品溶液; 吸取对照品溶液 10 μ L, 供试品溶液 15 μ L, 分别注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以外标法计算质量分数。结果见表 1。

表 1 舒筋活血片中杠柳毒苷的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of periplocin in Shujin Huoxue Tablets ($n=3$)

批号	杠柳毒苷/(mg $\cdot$ 片 ⁻¹)	批号	杠柳毒苷/(mg $\cdot$ 片 ⁻¹)
050601	0.03	050104	0.01
050401	0.05	4123010	0.07

3 讨论

曾参考测定香加皮药材中杠柳毒苷采用的流动相^[3], 由于该处方药味多, 成分复杂, 未实现本制剂中杠柳毒苷峰的基线分离, 使用现方法的条件, 分析时间短, 峰形良好, 阴性无干扰。

杠柳毒苷为强心苷, 其并不是该制剂发挥药效作用的有效成分。对其进行定量测定的意义在于杠柳毒苷有一定的毒性, 对其进行质量控制, 可以保证临床上的用药安全。此外, 香加皮药材中杠柳毒苷的量波动范围大^[3], 从 0.05% 到 0.43%, 有可能造成含香加皮制剂中杠柳毒苷有所差异, 本实验结果表明香加皮制剂中杠柳毒苷确实有所波动, 故针对方中的毒性成分杠柳毒苷进行质量控制具有实际意义。

References:

- [1] Chen Y P, Li G X, Wu P, et al. The reason and prevention for the adverse reaction of *Cortex Periplocae* [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2005, 25 (7): 689.
- [2] Wang S N. *The Manual of Drug Poison Remedy* (药物中毒救治手册) [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 1962.
- [3] Liu H, Pan G X, Gao X M, et al. Determination of periplocin in the *Cortex Periplocae* by high performance liquid chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (5): 578-579.

正交设计优选蔓荆子中总黄酮的提取工艺

尹文清¹, 陈柳生¹, 王力生², 张青松¹

(1. 广西师范大学化学化工学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

蔓荆子始载于《神农本草经》, 被列为上品, 为马鞭草科牡荆属多年生落叶小灌木单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或三叶蔓荆 *V. trifolia* L. 的干燥成熟果实, 主要产于山东、江西、浙江、福建、广东、广西及云南等地, 具有疏散风热、清利头目、止痛的功效^[1]。民间常用于治疗感冒、头痛、周期性头痛及眼痛等^[2]。其主要活性成分为黄酮类化合物, 具有抗炎、降低血压、抗癌、镇痛等多种药理活性^[3]。本实验通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优选出蔓荆子中黄酮类化合物的提取工艺条件, 为蔓荆子的综合利用提供了依据。

1 材料、试剂与仪器

蔓荆子由广西桂林市临桂县广益农业开发有限公司提供, 经广西师范大学生命科学学院教研室鉴定为单叶蔓荆 *V. trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 的干燥成熟果实。芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供, 其他试剂均为分析纯。

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), 电子天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司), B-220 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 蔓荆子中总黄酮的 UV 法测定^[4]

2.1.1 标准曲线的绘制: 准确称取干燥至恒重的芦丁对照品 10 mg, 用无水乙醇水浴微热溶解, 并完全转入 50 mL 量瓶中, 用无水乙醇定容, 得 0.200 0 mg/mL 的芦丁对照品溶液。精密吸取 0、0.25、1.00、2.00、3.00、4.00 mL 上述芦丁对照品溶液, 分

别置于 7 支 10 mL 刻度试管中, 加 5% NaNO_2 0.30 mL, 摇匀后放置 6 min, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0.30 mL, 摇匀后放置 6 min, 加 4% NaOH 2.00 mL, 再用无水乙醇稀释成刻度, 摇匀后放置 15 min, 于 510 nm 处测定吸光度(以第一管为测定空白)。芦丁质量浓度(C)与吸光度(A)进行线性回归, 得回归方程: $A = 0.0104C - 0.0071$, $r = 0.9998$ 。结果表明芦丁在 5~80 $\mu\text{g/mL}$ 与吸光度线性关系良好。

2.1.2 样品的测定: 精密地称取 10 g 干燥至恒重的蔓荆子 9 份, 回流提取。提取液减压浓缩后水沉, 滤过后备定容到 250 mL 量瓶中, 分别精密地吸取上述 2 mL 溶液, 按标准曲线的绘制项下方法操作, 测定吸光度, 根据回归方程计算样品中黄酮类化合物的量。

2.2 提取溶剂的选择: 蔓荆子中的主要黄酮类化合物是紫花牡荆素, 其他黄酮的量较少。紫花牡荆素不溶于水, 易溶于甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯、氯仿等有机溶剂。乙醇毒性小、渗透性强、易于回收、价格也比较便宜, 因此选定不同体积分数的乙醇为提取溶剂。

2.3 提取次数的选择: 称取 10 g 蔓荆子干燥粉末, 加入 50 mL 70% 乙醇, 在 85 $^{\circ}\text{C}$ 下提取 4 h, 然后将提取过的粉末分别在相同条件下进行第 2、3、4 次提取, 结果各次总黄酮的提取率分别为 0.639 2%、0.158 9%、0.126 6%、0.072%, 表明, 经过 3 次提取, 可以认为总黄酮基本提取完全。

2.4 正交试验设计: 根据已有的资料和实际情况, 选用乙醇体积分数、固液比、提取时间、提取温度作为考察因素, 以蔓荆子中总黄酮的提取率为考察指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表设计, 因素水平见表 1。正交

收稿日期: 2006-05-04

基金项目: 广西教育厅科研资助项目(桂教科研[2004]20 号)

作者简介: 尹文清(1968—), 女, 湖南省郴州市人, 副教授, 博士, 现在桂林三金药业股份有限公司博士后科研工作站从事科研工作, 主要从事天然产物化学的研究。E-mail: Yinwq0000@yahoo.com.cn