

率偏小,故本实验采用直接读取体积的方法计算剩余药量,该方法误差小于2%。

由于口服姜黄素吸收进入体内存在生物转化(与葡萄糖醛酸、硫酸结合,还原为四氢姜黄素和六氢姜黄素),血中原型药物浓度极低(小于2 ng/mL)^[11],而其代谢产物种类较多,且许多代谢产物无法测定,故无法采用测定血药浓度的方法计算姜黄素的生物利用度。本实验通过测定胃肠道及粪便中未被吸收的姜黄素直接推算姜黄素的吸收量,方法直接、简单,结果较准确地反映了药物的吸收情况^[12]。

大鼠小肠吸收动力学试验比较了姜黄素微乳与胶束溶液的吸收特性,由表观吸收速率常数可知微乳与胶束相比能更好的促进药物的吸收。可能是由于微乳表面张力较低,更易通过胃肠壁的水化层,使药物能直接和胃肠上皮细胞接触,促进药物的吸收^[13]。小鼠体内吸收试验结果证明,姜黄素自微乳化浓缩液的吸收率比姜黄素提高了1.5倍,显著增加姜黄素的口服吸收,显示了微乳作为难溶性药物口服给药载体的优越性。

References:

- [1] Araujo C C, Leon L L. Biological activities of *Curcuma longa* L. [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2001, 96(5): 723-728.
- [2] Pan M H, Huang T M, Lin J K, et al. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(4): 486-494.
- [3] Kang B K, Lee J S, Chon S K, et al. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in Beagle dogs [J]. *Int J Pharm*, 2004, 274(1): 65-73.
- [4] Yang S, Gursoy R N, Lambert G, et al. Enhanced oral absorption of paclitaxel in a novel self-microemulsifying drug delivery system with or without concomitant use of P-glycoprotein inhibitors [J]. *Pharm Res*, 2004, 21(2): 261-270.
- [5] Cui J, Zhai G X, Lou H X. Study on preparation and characteristics of curcumin microemulsion [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2005, 40(24): 1877-1880.
- [6] Ren X Z, Zhang J S, Wang H B. Studies of absorption mechanism and the best absorption segment of erythromycin in situ [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1997, 28(1): 17-22.
- [7] Yuan Q, Li X R, Wang H J, et al. The absorption kinetics of silymarin microemulsion in rat intestine [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 2004, 39(8): 631-634.
- [8] Liao Z G, Ping Q N, Xiao W, et al. The study in situ on rat intestinal absorption of the active components in Guizhi Fuling Capsule [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2005, 3(5): 303-307.
- [9] Gao S, Zhong Y Q, Yin D F, et al. The absorption study on rat intestinal of famotidine [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2000, 21(10): 913-916.
- [10] Hu Y Q, Zheng L Y, Qian C Q, et al. Absorption of phenol red from rat intestine [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1996, 27(6): 355-359.
- [11] Asai A, Miyazawa. Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronidesulfate conjugates in rat plasma [J]. *Life Sci*, 2000, 67: 2785-2793.
- [12] Wahlstrom B, Blennow G. A study on the fate of curcumin in the rat [J]. *Acta Pharmacol Toxicol*, 1978, 43 (2): 86-92.
- [13] Zhang Z Q, Lu B. Advance in microemulsions as a vehicle of drug delivery system [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 32(3): 139-142.

决明子饮片的 HPLC 指纹图谱研究

张 萍, 陈建伟*

(南京中医药大学, 江苏 南京 210046)

摘要:目的 建立决明子饮片的 HPLC 指纹图谱鉴定方法。方法 采用 RP-HPLC 法, 梯度洗脱, 研究决明子饮片的指纹图谱, 并作相似度比较分析。结果 初步建立了决明子饮片的指纹图谱。结论 采用 HPLC 指纹图谱法可作为决明子饮片的一项质控指标。

关键词:决明子; 指纹图谱; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)03-0372-04

HPLC Fingerprint of *Semen Cassiae*

ZHANG Ping, CHEN Jian-wei

(Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

收稿日期: 2006-04-13

基金项目: 国家“十五”重大科技专项“创新药物和中药现代化”课题(2001BA701A55-41)

作者简介: 张萍(1983-), 女, 江苏如皋人, 南京中医药大学 2004 级硕士研究生, 研究方向为中药品质评价。

Email: Zhanpianzi2004@126.com

* 通讯作者 陈建伟

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint for the identification of *Semen Cassiae*. **Methods** Chromatographic fingerprint of *Semen Cassiae* was investigated by RP-HPLC and the gradient elution mode was applied to chromatographic separation. Data were analysed by fingerprint similarity evaluation software to compare the similarity of the samples. **Results** The HPLC fingerprint of *Semen Cassiae* was established preliminarily. **Conclusion** HPLC Fingerprint method is repeatable and can be used in quality control of *Semen Cassiae*.

Key words: *Semen Cassiae*; fingerprint; HPLC

决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子。具有清肝明目,润肠通便之效。用于目赤涩痛,羞明多泪,头痛眩晕,目暗不明,大便秘结。决明子中含蒽醌类、萘吡啉类、脂肪酸类、氨基酸和无机元素等,主要成分为蒽醌类,其中大黄酚为主要活性成分^[1,2]。本实验采用高效液相色谱法对决明子指纹图谱的构建进行了研究,为决明子的药材鉴别、质量评价以及质量标准的制定提供新的依据。

1 仪器与试药

Agilent 1100 液相色谱仪(自动进样器),DAD 检测器;KQ—500DE 型医用数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH—S 恒温水浴锅(江苏国胜实验仪器厂);FA—1004 电子分析天平(上海天平仪器厂);LIBROR AEL—40SM 电子分析天平(Shimadzu)。

甲醇(分析纯和色谱纯),丙酮、磷酸(分析纯),水为娃哈哈纯净水,大黄酚对照品(批号 110796-200309)、大黄素对照品(批号 110756-200110)、芦荟大黄素对照品(批号 795-9301)、大黄酸对照品(批号 0757-9703)、大黄素甲醚对照品(批号 758-9301)均由中国药品生物制品检定所提供。

共收集到了 10 个样品,经本校中药鉴定教研室陈建伟教授鉴定为决明 *C. obtusifolia* L. 的干燥成熟种子,分别产自河南洛阳、河南禹州、安徽太和、安徽亳州和陕西西安,见表 1。

表 1 样品来源

Table 1 Source of samples

编号	产地	批号	饮片炮制时间
1	河南洛阳	G200501070101	2005-06
2	河南洛阳	G200501070102	2005-06
3	河南洛阳	G200501070103	2005-06
4	河南禹州	G2004121506	2005-06
5	安徽太和	20041023	2005-06
6	安徽太和	20040925	2005-06
7	陕西西安	20041020	2005-06
8	安徽亳州	20041009	2005-06
9	安徽亳州	2005123111-2	2006-01
10	安徽亳州	2005123112-2	2006-01

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:取大黄酚、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸和大黄素甲醚对照品适量,分别用甲醇溶解制成 15 $\mu\text{g/mL}$ 的对照溶液和相应的混合溶液,作为参照物。

2.2 供试品溶液的制备:称取决明子饮片粉末(过 20 目筛)0.5 g,加入丙酮-水(1:1)超声提取 3 次(50 Hz、30 $^{\circ}\text{C}$),每次 50 mL、30 min,滤过,滤液蒸干溶剂,残渣用甲醇-水(1:1)定容至 10 mL,0.45 μm 滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件:色谱柱为 Lichrospher C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm)(江苏汉邦科技有限公司);流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B)梯度洗脱,0~10 min,15%A,10~25 min,35%A,25~35 min,50%A,35~50 min,55%A,50~70 min,65%A,70 min 以后,95%A;体积流量:0.8 mL/min;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:280 nm;分析时间:85 min;参照物及供试品溶液进样量均为 20 μL 。

2.4 方法学考察

2.4.1 稳定性试验:取决明子饮片(jmz-ly-1,河南洛阳产)供试品溶液,分别于 0、1.5、3、5、6.5、13、18、24 h 进行检测,考察色谱峰相对峰面积的一致性。结果表明各共有峰相对峰面积基本一致,RSD 为 0.63%~1.47%,供试品溶液 24 h 内稳定,符合指纹图谱的要求。

2.4.2 精密度试验:取决明子饮片(jmz-ly-1,河南洛阳产)供试品溶液,连续进样 5 次,检测指纹图谱。结果表明各共有峰相对峰面积基本一致,RSD 为 0.56%~1.37%,符合指纹图谱的要求。

2.4.3 重现性试验:取决明子饮片(jmz-ly-1,河南洛阳产)按供试品溶液的制备方法分别制备 5 份供试品溶液,检测指纹图谱。结果各共有峰相对峰面积基本一致,RSD 为 0.42%~1.70%,符合指纹图谱的要求。

2.5 指纹图谱的建立:取供试品溶液适量注入液相色谱仪,按选定的测定条件进行检测。同一上述实验条件下测定所有样品的 HPLC 色谱图,见图 1。

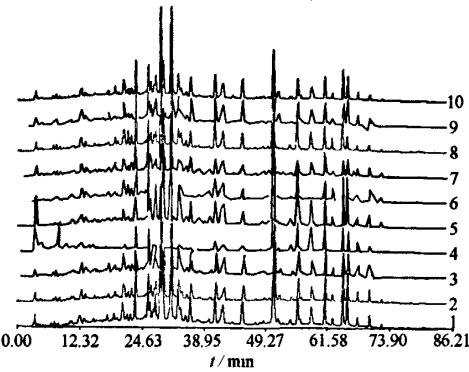


图 1 10 批样品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprints for ten batches of samples

2.6 指纹图谱分析与评价

2.6.1 共有指纹峰的标定: 对 10 批样品进行测定, 经比较样品的色谱图和计算相对保留时间, 其中有 16 个峰是共有的, 确定为共有指纹峰。研究中发现, 芦荟大黄素在 55 min 出峰, 大黄酸在 61 min 出峰, 大黄素在 67 min 出峰, 大黄酚在 69 min 出峰, 大黄素甲醚在 72 min 出峰。以 30 min 处的色谱峰为自身参照峰, 计算各共有指纹峰相对保留时间的比值, 计算结果见表 2。

表 2 10 批样品共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention times of common peaks for ten batches of samples

峰号	相对保留时间									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.765	0.767	0.766	0.767	0.766	0.766	0.766	0.767	0.766	0.766
2(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
3	1.128	1.129	1.128	1.127	1.128	1.127	1.128	1.126	1.127	1.127
4	1.293	1.293	1.294	1.292	1.292	1.292	1.293	1.289	1.290	1.291
5	1.345	1.346	1.347	1.344	1.344	1.344	1.337	1.342	1.341	1.343
6	1.476	1.475	1.477	1.474	1.474	1.475	1.476	1.472	1.472	1.474
7	1.680	1.678	1.681	1.677	1.675	1.678	1.678	1.673	1.674	1.678
8	1.842	1.837	1.840	1.840	1.837	1.840	1.841	1.835	1.834	1.840
9	1.930	1.922	1.926	1.928	1.926	1.929	1.930	1.924	1.922	1.930
10	2.019	2.010	2.015	2.019	2.016	2.019	2.020	2.015	2.011	2.019
11	2.069	2.057	2.062	2.068	2.066	2.071	2.071	2.064	2.061	2.068
12	2.103	2.125	2.130	2.137	2.134	2.138	2.139	2.132	2.129	2.137
13	2.165	2.154	2.159	2.165	2.164	2.168	2.169	2.162	2.159	2.167
14	2.232	2.221	2.227	2.234	2.230	2.230	2.234	2.228	2.227	2.234
15	2.309	2.296	2.303	2.312	2.303	2.307	2.310	2.303	2.304	2.310
16	2.390	2.375	2.382	2.391	2.381	2.385	2.389	2.384	2.385	2.390

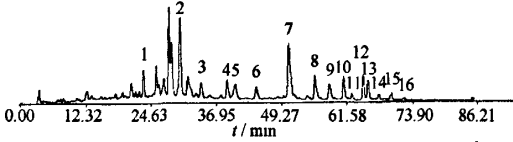
表 3 10 批样品共有峰相对峰面积

Table 3 Relative areas of common peaks for ten batches of samples

峰号	相对峰面积									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.302	0.430	0.361	0.607	0.271	0.322	0.320	0.469	0.298	0.358
2(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
3	0.291	0.332	0.325	0.252	0.292	0.267	0.278	0.255	0.336	0.337
4	0.289	0.348	0.296	0.436	0.296	0.263	0.260	0.371	0.344	0.331
5	0.337	0.403	0.362	0.439	0.478	0.362	0.207	0.380	0.355	0.352
6	0.295	0.338	0.240	0.283	0.187	0.182	0.172	0.277	0.331	0.325
7	0.670	0.888	0.806	1.941	1.233	1.026	0.634	0.801	0.644	0.632
8	0.301	0.330	0.242	1.018	0.553	0.492	0.271	0.394	0.235	0.246
9	0.270	0.292	0.221	0.829	0.327	0.292	0.204	0.255	0.268	0.229
10	0.222	0.329	0.223	0.873	0.358	0.308	0.322	0.223	0.208	0.226
11	0.118	0.169	0.126	0.144	0.126	0.125	0.103	0.148	0.119	0.124
12	0.260	0.393	0.360	0.165	0.285	0.298	0.181	0.330	0.214	0.279
13	0.292	0.345	0.362	0.176	0.285	0.260	0.190	0.171	0.274	0.262
14	0.073	0.104	0.090	0.236	0.085	0.053	0.075	0.049	0.079	0.071
15	0.107	0.116	0.096	0.137	0.100	0.080	0.092	0.056	0.060	0.056
16	0.036	0.054	0.042	0.117	0.057	0.051	0.056	0.035	0.031	0.033

2.6.2 共有指纹峰面积比: 以 30 min 处的色谱峰为自身参照峰, 计算各共有指纹峰峰面积的相对比值, 计算结果见表 3。按照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》要求, 对单峰面积超过总峰面积 10% 以上的峰进行面积标定, 超过总峰面积 10% 的是 S 峰(t_R 为 1 min)。另外 15 号峰为大黄酚峰(t_R 为 2.306 min)。

2.6.3 相似度评价: 将数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A 版), 经选峰, 设定匹配模板, 将谱峰自动匹配; 然后设定标准模板, 进行谱峰差异性评价和整体相似性评价, 得出决明子指纹图谱的共有模式见图 2, 相似度计算结果见表 4。



8-芦荟大黄素 10-大黄酸 14-大黄素
15-大黄酚 16-大黄素甲醚
8-aloeemodin 10-rhein 14-emodin
15-chrysophanol 16-phycion

图 2 对照指纹图谱

Fig. 2 Reference fingerprint

表4 10批样品相似度评价结果
Table 4 Similarities for ten batches of samples

样品	相似度	样品	相似度
1	0.994	6	0.992
2	0.995	7	0.986
3	0.992	8	0.992
4	0.908	9	0.987
5	0.980	10	0.988

3 讨论

本实验对供试品溶液的制备、色谱条件进行了优化选择。通过对不同提取溶剂、提取方法进行实验比较,拟定上述供试品的制备方法,所得指纹图谱出峰数较多。经比较,甲醇和0.1%磷酸水溶液一起组成流动相进行梯度洗脱分离效果较好,能较好地使样品中各色谱峰分离且出峰最多。分析时间85 min,样品170 min图谱显示85 min后无特征峰出现,故定分析时间为85 min。取决明子各供试品溶液,进样20 μ L,进行200~800 nm的全波长全梯度扫描,并对各波长下的色谱图进行分析比较。结果表

明,在280 nm下,各峰分离良好,特征峰明显且峰型较好,因此选定280 nm为指纹图谱测定波长。

不同产地决明子饮片的比较 10批决明子样品指纹图谱中主要峰群的整体图貌基本一致,虽然不同产地样品中各成分含量的相对比值有较大的差别,但相似度计算结果表明,10批样品种内相似度除河南禹州决明子(相似度0.908)外,其余均在0.98以上。比较河南禹州决明子与10批决明子样品对照模式的指纹图谱可知,前者大黄酚(15号峰)的色谱峰面积明显低于后者,而后者11、12、13号峰的峰面积明显大于前者,导致了它们相似度的差别。

本实验对决明子HPLC指纹图谱的构建进行了探讨,可为决明子饮片的品质评价、质量标准的制定提供科学依据。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Xiao P G. *Modern Chinese Materia Medica* (新编中药志) [M]. Vol 2. Beijing: Chemical Industry Press, 2002.

定量测定与特定指纹图谱分析相结合方法 用于抗脑衰胶囊制剂质量评价

王凤玲, 韩淑珍, 王 勇, 袁 博, 冯 莉

(天津商学院生物技术与食品科学学院 测试中心, 天津 300134)

摘要:目的 建立抗脑衰胶囊色谱指纹图谱,并对关键成分进行测定,作为抗脑衰胶囊制剂质量评价的依据。方法 采用HPLC法。色谱条件: Kromasil ODS C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 甲醇-0.6%醋酸水溶液系统梯度洗脱, 体积流量0.9 mL/min, 检测波长280 nm, 柱温25 $^{\circ}$ C。采用标准曲线法对其中葛根素、黄芩苷、芍药苷进行测定。结果 指纹图谱中28个共有吸收峰为抗脑衰胶囊内在物质的指纹特征, 方法学考察的精密度、稳定性、重现性试验较好。不同批次抗脑衰胶囊指纹图谱的相似度评价和指标成分有差异。结论 定量测定与特定指纹图谱分析相结合方法可作为评价抗脑衰胶囊制剂质量的标准。

关键词: 抗脑衰胶囊; 指纹图谱; 质量标准; 相似度

中图分类号: R284.4; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2007)03-0375-05

Combination of quantitative analysis with fingerprint study used for quality evaluating of Kangnaoshuai Capsula

WANG Feng-ling, HAN Shu-zhen, WANG Yong, YUAN Bo, FENG Li

(Test Center, College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: **Objective** To establish chromatographic fingerprint and quantitative analysis of Kangnaoshuai Capsula by HPLC method for evaluating the quality of the preparation. **Methods** The optimal HPLC condition for Kangnaoshuai Capsula: ODS C_{18} column (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), the mobile phase was composed of methanol and 0.6% acetic acid with a linear gradient elution, the flow rate was 0.9 mL/min with DAD detected at 280 nm, the column temperature was maintained at 25 $^{\circ}$ C.

收稿日期: 2006-06-10

作者简介: 王凤玲(1965-), 女, 硕士, 天津人, 高级实验师, 研究方向为分析检测。

Tel: (022)81720727 E-mail: wfiling@tjcu.edu.cn