

素的含量较高则该批号的药材以南五味子为主。

3.3 文献选用乙腈-水(68:32)含0.2%的磷酸,用三乙胺调pH5^[4],我们改用乙腈-甲醇-水为15:15:10,各峰良好分离,该溶剂系统经济实用。

参考文献:

[1] 吴健敏,张启明,严克东. HPLC 测定生脉粉针中五味子有效成分五味子醇甲的含量[J]. 药物分析杂志, 1993, 13(5): 328-330.

[2] 何燕萍,蔡阳,朱珍燕. 复方中成药慢肝宝冲剂中五味子乙素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(9): 541-543.
[3] 王慕邹,李白龙. 北五味子有效成分的高效液相层析测定[J]. 药理学学报, 1983, 18(3): 209.
[4] 谭生建,屈雪莲,杨成勇,等. 肝复康中五味子甲素和五味子乙素含量测定方法研究[J]. 解放军药理学学报, 2000, 16(5): 270-272.
[5] 张勇煜,郭允珍,中岛薰,等. 不同产地五味子木质素成分的高效液相色谱法测定[J]. 药物分析杂志, 1990, 10(3): 146-149.

不同煎煮方法和配伍因素对汤剂中阿魏酸含量的影响

黄 熙¹, 任 平², 王骊丽², 张 莉^{2*}

(1. 北京大学 中医药现代研究中心, 北京 100083; 2. 第四军医大学西京医院, 陕西 西安 710032)

摘 要: 目的 测定用不同煎煮方法所得川芎单煎液和川芎配伍赤芍的合煎液对阿魏酸含量的影响。方法 用液相色谱-质谱联用仪和高效液相色谱仪测定煎液中阿魏酸。结果 川芎单煎液中阿魏酸的溶出量较芍药合煎液中显著增多, 不同煎煮方法的川芎单煎液中阿魏酸含量无显著差异。结论 以此可作为川芎方剂药动力学的质控标准和方剂治疗药物进一步监测的质控标准。

关键词: 阿魏酸; 煎剂; 川芎; 赤芍

中图分类号: R927. 11

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)05-0411-03

Effect of different decocting methods and compatible medicinal herbs on concentration of ferulic acid in decoctions

HUANG Xi¹, REN Ping², WANG Li-li², ZHANG Li²

(1. Modernization Institute Center of TCM, Beijing University, Beijing 100083, China; 2. Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an Shanxi 710032, China)

Key words: ferulic acid (FA); decoction; *Ligusticum wachilli* France; *Paeonia veitchii* Lynch

阿魏酸(FA)是川芎的主要成分之一,具有抗氧化和自由基清除作用,保护膜脂质不受氧化,抑制血小板聚集和血小板血栓形成,经临床应用证明可对抗动脉粥样硬化^[1]。目前大量的研究集中在测定成药中FA的含量^[2,3],而研究汤剂不同配伍及煎煮条件对FA含量影响的文献并不多见^[4]。本实验对不同煎煮时间和加水量条件下的川芎、赤芍单煎液及二者不同比例(1:1, 2:1)配伍合煎液中的FA进行定性和定量测定,来寻找二者伍用的较好方法。并以此作为川芎方剂药动力学研究^[5]的质量控制标准和方剂治疗药物进一步监测^[6]的质量控制标准。

1 仪器和药品

英国VG公司的液相色谱-质谱(LC-MS)联用仪(中国科学院生态检测中心)。贝克曼高效液相

色谱仪, 165 可变波长双通道紫外-可见检测器。

样品: 川芎购于都江堰市医药公司石羊镇医药批发站, 赤芍购于四川省中江县, 人工种植品的刮皮赤芍, 由西北大学生物解剖学教研室检定为准形科植物川芎 *Ligusticum wallichii* Hort; 毛茛科芍药属 *Paeonia* 植物的干燥根, 属于川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch。

FA 对照品(批号: 773-9203), 中国药品生物制品检定所提供。醋酸、甲醇均为AR级, 水为3 蒸水。

2 色谱条件

定性: C₁₈(SYBERSIL 填料, DDS₂) 色谱柱 150 mm × 4.6 mm, 5 μm(大连依利特科学仪器有限公司)为固定相, 流动相: 甲醇-乙酸-水 = 38: 0.3: 61.7。

* 收稿日期: 2000-09-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(No: 39870932, 39570870), 北京大学 985 计划资助项目

作者简介: 黄 熙, 男 42 岁, 湖南人, 博士后, 教授, 主任医师, 博士生导师。现为北京大学中医药现代研究中心副主任。研究方向: 中药复方药理、证本质。Tel: 010-62091404

定量: 色谱条件同文献 4。AUFs 为 0.01; 流速 1 mL/min。

3 标准曲线

精称 FA 5.11 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 浓度 51.1 μg/mL。取上述母液 100, 200, 300, 400 和 500 μL 置 10 mL 棕色容量瓶中, 用流动相稀释至刻度成 A~E 管。将上述各管 FA 标准液分别在不同时间进样 5 次, 得标准曲线: $Y = 0.212 X + 7.2679$ (在 0.511 μg/mL 至 4.088 μg/mL 内, $r = 0.9992$) 和日间精密度 (在 1 个月的 3 d 内测定, 平均 $RSD = 7.46\% \pm 1.53\%$)。将 A, C, E 3 管 FA 液在 1 d 内进样 4~5 次得日内精密度 ($RSD = 2.52\% \pm 0.9\%$)。精密称取 FA 对照品适量, 加到样品制剂中混匀, 同时取样品制剂作空白, 取 200 μL 样进行 HPLC 测定, 计算回收率为 89.92% ($n = 5$)。中等浓度以下的回收率好, 所测试样品均在中至低浓度范围以内。

4 样品制备及测定

临床常用汤剂的制备: A-川芎单煎剂: 川芎 500 g, 常水洗净 2 遍后, 用沸水 3 000 mL 浸泡 30 min, 不锈钢刀切成 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 放入不锈钢锅中煮沸 30 min, 5 层纱布过滤, 再用沸水覆过药面煮 30 min, 合并两次煎液文火浓缩成 0.5 g/mL。B-赤芍单煎液: 同上。C-芍药合煎液: 取川芎和赤芍各 300 g 用 6 倍沸水浸泡 30 min 后, 方法同 A, 合并两次汤液浓缩至川芎含量为 0.5 g/mL。D-芍药合煎液: 取川芎 300 g、赤芍 150 g, 余同 A, 最后川芎含量 0.667 g/mL。E-川芎单煎液: 取 200 g 川芎, 6 倍沸水浸泡, 第一次煎煮 15 min, 第二次煎煮 45 min; 最后川芎含量 0.2 g/mL。F-川芎单煎液: 取川芎 20 g, 12 倍沸水浸泡 30 min 后, 取出切成 0.5~1 cm, 煮沸 15 min, 用 12 倍沸水再煮沸 15 min, 两次药液合并, 双蒸水定容至 1 000 mL, 川芎最终含量 0.02 g/mL。G-芍药合煎汤: 除各取 15 g 加 6 倍沸水外余同 A, 最后川芎含量 0.25 g/mL。H-芍药合煎液: 除加 10 倍水外, 余同 G, 最后川芎含量 0.25 g/mL。样品经稀释后直接进样。结果见表 1。

5 结果与讨论

比较对照品及样品测定组分的质谱图, 根据一致性或相关性作出鉴定。川芎单煎汤剂中待测组分的 LC-MS 图中的分子离子峰的质/荷值与对照品和文献值基本一致, 在 193.2~194 之间, 其碎片值也非常相似, 支持二维 HPLC 测试结果对 FA 的初步定性, 可以肯定待测组分是 FA。按常规中药复方

表 1 几种临床常用汤剂中 FA 含量测定
($n = 3, \mu\text{g/mL}$)

方剂类型	FA	含	量	$\bar{x} \pm s$	t 值
A	288.78	299.64	261.53	283.32±16.03	
B					
C	175.40	176.18	180.33	177.30±2.16	11.35 [#]
D	174.44	174.48	190.26	179.73±7.45	10.15 [#]
E	288.96	271.58	278.81	279.78±7.13	0.8544 [*]
F	298.80	282.88	340.80	307.49±24.43	1.1696 [*] , 1.5398 ^{**}
G	163.55	164.43	169.92	165.97±2.82	4.5095 ^{##}
H	231.60	215.16	223.98	223.58±6.72	11.184 [△]

与 A 组比 $P < 0.01$; * 与 A 组比 $P > 0.05$; ** 与 E 组比 $P < 0.01$;
与 C 组比 $P < 0.01$; △与 G 组比 $P < 0.01$

制剂植化质量控制研究方法, 一般仅根据薄层色谱的 R_f 值、HPLC 的保留时间定性后进行定量。HPLC 等并未提供丰富的药物分子结构信息, 如相对分子量、分子结构与组分峰纯度等。在 1 个保留时间的组分有可能仅是 1 个单体, 也有可能是不易分离的两个单体物质。为避免定性错误的发生, 使用 LC-MS 联用仪进行精确定性, 作为下一步定量工作的基础^[7]。表 1 中 A~E 组分为大剂量煎煮汤剂, 多用于临床治疗, F~H 组为小剂量煎煮汤剂, 多用于实验研究。结果表明川芎单煎汤剂中 FA 的溶出量足够多^[8], 适用于川芎方剂的临床 PK 及治疗等研究。当川芎伍用赤芍合煎时(C, D 组), FA 的含量明显下降(与 A 相比 $P < 0.01$), 与文献中提及的情况类似^[7]。芍药比 1:1 和 2:1(C 组和 D 组)对 FA 的溶出量影响无统计学意义上的差异 ($P > 0.05$), 川芎单煎液(A, E, F 组)中的 FA 含量无统计学意义上的差异 ($P > 0.05$)。芍药合煎剂的临床(C)组与实验(G)组之间、加水量不同组(G, H 组)之间的 FA 含量都有统计学意义上的差异 ($P < 0.01$)。故从本实验中我们可以得出在复方汤剂中赤芍与川芎合煎时使 FA 的溶出量减少, 如果预计方剂中的靶成分是 FA, 最好将两种生药分煎。此外, 二者合煎时会受到加水量和煎煮量等诸多因素的影响。

参考文献:

[1] 张明发. 阿魏酸抗动脉粥样硬化研究进展[J]. 中草药, 1990, 21(1): 41-43.
[2] 施顺清. 中药制剂释放度和药动学研究概况及意义[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(12): 731-734.
[3] 赵陆华. 高效液相色谱法分析中药成分手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994.
[4] 尚刚伟, 黄 熙. 配伍熟地可增加汤剂中阿魏酸的煎出率[J]. 中草药, 1998, 29(3): 160-162.
[5] 黄 熙, 任 平, 张 莉. HPLC 直接测定血清阿魏酸——方剂血样预处理新方法(I) [J]. 中草药, 1999, 30(3): 175-178.
[6] 黄 熙, 任 平. 防治高血压病及冠心病的难点与突破口——方剂的治疗药物监测[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(9):

515-518.

力学的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(5): 288-291.

[7] 黄 熙, 夏 天, 任 平. 川芎伍用丹参煎剂对川芎嗪药物动

黄芪毛状根与栽培黄芪中多糖的比较

单俊杰, 王顺春, 刘 涤, 胡之璧*
(上海中医药大学 中药研究所, 上海 200032)

摘 要: 目的 比较栽培黄芪和生物技术培养的黄芪毛状根总多糖的组成与含量。方法 采用脱脂、水煎、醇沉、脱蛋白、透析、冷冻干燥的方法, 用硫酸-苯酚法进行了二者中多糖的含量比较, 采用高效液相凝胶渗透色谱法对黄芪毛状根和黄芪多糖的指纹图谱进行分析、比较多糖的组成和相对分子量的同异。结果 黄芪多糖为 2.61%, 黄芪毛状根多糖为 1.85%。结论 黄芪毛状根多糖低于栽培黄芪中多糖含量。

关键词: 黄芪毛状根; 栽培黄芪; 多糖; 高效凝胶渗透色谱法

中图分类号: R 927.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)05-0413-02

Comparison of polysaccharides between hairy root of *Astragalus membranaceus* and its cultivation

SHAN Jun-jie, WANG Shun-chun, LIU Di, HU Zhi-bi

(Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

Key words: hairy root of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.; cultivated *A. membranaceus*; polysaccharides; high efficiency gel permeation chromatography

由于中药野生资源日益短缺, 栽培品种又面临品质退化、农药污染和种子带病等问题, 严重影响了我国中药材的质量和数量, 给中医临床、中成药加工带来很大的影响。因此, 80 年代以来, 采用生物技术手段生产中药材已日益受到人们的重视。因为毛状根具有遗传性状稳定、生长迅速、易于遗传操作等特点而成为药用植物大量生产的新方法。本实验室已建立了黄芪毛状根诱导、培养的技术^[1,2], 测定了其中黄芪甲苷和异黄酮的含量, 与栽培的黄芪相比, 二者成分相差不多^[3]。为了全面评价黄芪毛状根的质量, 我们又对黄芪毛状根中多糖的组成和含量进行了研究, 发现与栽培黄芪存在一定的差异。我们将比较的结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料: 山西膜荚黄芪, 由上海药材有限公司购进; 黄芪毛状根由本实验室培养; dextran 系列标准品, 购自 Sigma 公司。

1.2 多糖的提取流程: 见图 1。其中黄芪的多糖得率为 2.61%, 黄芪毛状根的多糖为 1.85%。

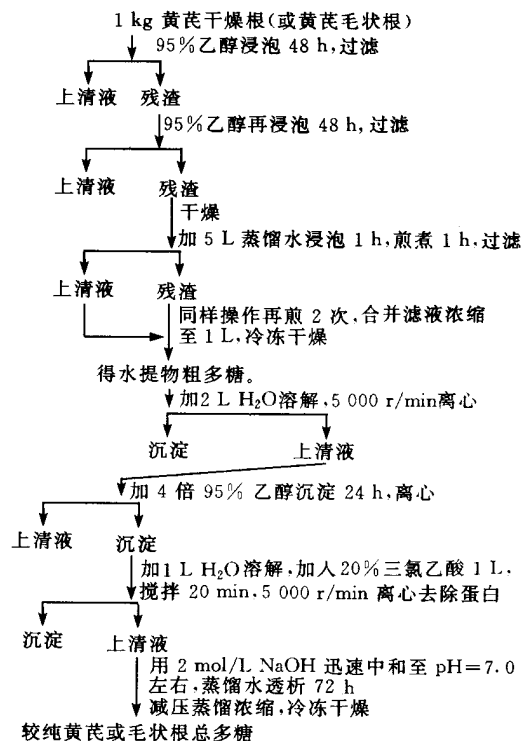


图 1 多糖的提取流程

* 收稿日期: 2000-07-14

基金项目: 国家“九·五”攻关和上海市科委科学技术发展基金支持。

作者简介: 单俊杰(1966-), 女, 山东烟台人, 工程师。1988 年获南开大学化学系理学学士, 1997 年获哈尔滨工业大学化学系工学硕士, 1998 年于上海中医药大学中药研究所攻读博士学位, 主要研究方向: 多糖化学和免疫药理学。