

3 讨论

3.1 本方法的主要优点是通过对前处理方法的改进,克服了以前方法中化学试剂毒性大,方法检出限较高等缺点。文献^[5]用乙腈-磷酸缓冲液做流动相,我们观察到磷酸盐在实验结束后需用大量水冲洗,如果冲洗不干净,容易有晶体析出,对色谱系统产生不利影响。用甲醇-水-冰醋酸做流动相,组成简单,容易调配,一般对色谱系统无明显不良影响。另外乙腈的毒性较大,而甲醇-水-冰醋酸毒性低,用甲醇-水-冰醋酸做流动相可以在具体的操作过程中减轻对实验者的身体危害。

3.2 复方效应成分药动学假说(PK)^[7~11]认为复方进入体内成分能定性定量。本室曾应用建立的血样预处理方法——水浴法^[10]成功地测定了健康人口服川芎汤后经时变化的血清中阿魏酸浓度,并直接测定了健康人口服冠心II号(五味药分煎)后经沸水浴处理过的血清样品中的阿魏酸^[10]。本实验结果一方面进一步证明了“复方进入体内成分能定性定量”的科学性:其体内成分不但可以测,而且还可以根据具体的实际情况(经费、检测限要求等)而采用不同方法测定;另一方面由于本实验中测定健康人口服冠心II号(五味药合煎)后体内阿魏酸的浓度变化的条件和实际的临床应用冠心II号方时体内阿魏酸的浓度变化条件几乎完全一致,所以此次成功地测定人口服冠心II号合煎液后体内阿魏酸的浓度更为直接和有意义,为进一步研究冠心II号方剂体内成分

谱及治疗中的药物监测^[11]提供了依据。

3.3 作为新方法,本实验仅为初步实践。本法预处理复方血清成分,广泛适用性如何?不同动物血清中复方来源的阿魏酸,用本法提取的规律性如何?同水浴法相比,对色谱柱的污染如何?需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 常明向,徐莲英,陶建生.阿魏酸钠大鼠体内药动力学研究[J].西北药学杂志,1995,10(2):81-83.
- [2] 扬敏,林曙光,吴桐.阿魏酸钠药代动力学研究[J].中药药理与临床,1988,4(4):28.
- [3] Fujiwara S, Noumi K, Sugimoto I, *et al.* Mass fragmentographic determination of ferulic acid in plasma after oral administration of gamma-oryzanol [J]. Chem pharm Bull, 1982, 3: 973.
- [4] Fujiwara S, Hamada T, Sugimoto I, *et al.* High-performance liquid chromatographic determination of ferulic acid in plasma [J]. Chem pharm Bull, 1983, 31: 1079-1081.
- [5] Wen A D, Huang X, Jiang Y P, *et al.* High-performance liquid chromatographic determination of free ferulic acid in serum of rabbits with blood stasis [J]. Acta Pharm Sin, 1995, 30(10): 762-767.
- [6] 黄熙,任平,张莉,等. 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): 175-179.
- [7] 黄熙,陈可冀,任平. “复方效应成分药动力学”新假说的科学证据:要素、意义及前景 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 250-252.
- [8] Huang X, Jiang Y P, Wen A D, *et al.* Is it possible to study the pharmacokinetics of chemical component of decoction? [J]. CJIM, 1995, 1(4): 297.
- [9] 黄熙,蒋永培,臧益民,等. 方剂化学成分药代动力学的研究进展 [J]. 中草药, 1995, 26(10): 546-549.
- [10] 黄熙,陈可冀,任平,等. 高效液相色谱直接测定沸水浴处理人血清中冠心I号来源的阿魏酸 [J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 19(2): 71-73.
- [11] 任平,黄熙. 治法药理学突破口: 研究方剂体内成分谱、靶成分及其治疗药物监测 [J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(2): 4-6.

大孔树脂对栀子苷分离效果的研究

吕茂平,乔庆彬,庞春燕,王玥琦*

(北京中医药大学,北京 100029)

摘要:目的 优选分离栀子苷的大孔树脂。方法 将栀子粗提液置大孔树脂中吸附,并以水、70%乙醇分别洗脱,以HPLC法测定洗脱液中栀子苷含量。结果 D301R、D396、D296和AB-8四种型号大孔树脂效果差异较大。结论

D301R型大孔树脂用作栀子苷的分离效果较好。

关键词:栀子苷;大孔树脂;分离;高效液相色谱

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2002)09-0794-03

Effect of macroporous resin in separation of gardenoside

LU Mao-ping, QIAO Qing-bin, PANG Chun-yan, WANG Yue-qi

(Beijing University of TCM, Beijing 100029, China)

* 收稿日期:2001-12-28

基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究基金资助项目(国中医药科 00-01 KZ01号)

作者简介:吕茂平(1976-),男,江西广丰人,1998年毕业于江西中医学院,现在北京中医药大学攻读硕士学位,研究方向为中药成分及制剂技术的研究。Tel (010) 64286851 E-mail Lvmp@sina.com

Abstract Object To optimize the macroporous resin for separating gardenoside. **Methods** Putting the extract fluid of *Gardenia jasminoides* Ellis into pillar was adsorbed with macroporous resin, then washed by water, 70% alcohol in succession to determine the content of gardenoside by HPLC. **Results** D301R, D396, D296, and AB-8, the four macroporous resins' effects were different a lot. **Conclusion** D301R macroporous resin is effective to separate the gardenoside.

Key words gardenoside; macroporous resin; separation; HPLC

栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,性味苦寒,入心、肝、肺、胃、三焦,具有泻火除烦,清热利湿,凉血解毒,消肿止痛之功效。栀子的化学成分复杂,其中含有 11 种环烯醚萜苷类化合物,包括栀子苷、羟异栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷酸、京尼平等^[1]。栀子苷是主要的环烯醚萜苷化合物,是栀子的重要有效成分。文献报道^[2]用氧化铝柱层析和薄层色谱法能较理想地分离栀子苷,但其在制剂生产应用上有局限性。用大孔树脂分离纯化中药有效成分在中成药制剂研究中应用日益广泛,但目前尚无大孔树脂用于分离栀子苷的报道。本研究根据栀子苷的结构特点与理化性质,选用 4 种不同型号大孔树脂分离栀子苷,并用 HPLC 法测定栀子苷含量。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪(包括 600 泵,2487 双波长紫外检测器,Millinium 32 色谱处理软件),XZ-6A 旋转蒸发器

甲醇为分析纯(北京化工厂),乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司),水为双重蒸馏水(自制),D301R D296 D396 AB-8 四种型号大孔树脂均购于南开大学化工厂,栀子苷对照品购于中国药品生物制品检定所,栀子药材购于浙江温州医药公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:RP C₈柱(3.9 mm×150 mm, 5 μm);柱温:室温;流动相:乙腈-水(15:85),流速:1.0 mL/min;检测波长:238 nm

2.2 线性关系的考察:精密称取栀子苷对照品 7.1 mg,置 50 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。准确吸取 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μL 注入高效液相色谱仪,以栀子苷进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $Y = 1.538106X + 3.128$, $r = 0.9999$ 表明测定成分在 0.282~1.42 μg 呈良好线性关系。

2.3 精密度试验:准确吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,峰面积积分值 RSD 为 1.04%。

2.4 稳定性试验:取样品溶液,精密吸取 6 μL 进

样,每天测定 1 次,结果发现样品溶液放置 7 d 峰面积积分值基本无变化, RSD 为 1.31%。

2.5 树脂柱层析及含量测定

2.5.1 栀子的粗提:将栀子粉末 100 g 置容器中,按回流法以 70% 乙醇 500 mL 回流 1 h,过滤,滤渣再分别加入 70% 乙醇 250 mL 回流两次,每次 1 h,合并滤液,减压回收乙醇并浓缩至稠膏状,加 6 倍量 95% 乙醇,搅匀,静置,过滤,滤液减压回收乙醇并浓缩成流浸膏,加 4 倍量蒸馏水,并用稀盐酸调 pH 值至 3.5 左右,置水浴加热 1 h,冷置,过滤,滤液备用。

2.5.2 树脂预处理:市售树脂加 95% 乙醇浸泡处理后,湿法装柱,用 95% 乙醇冲洗至洗脱液加等量水不浑浊,用蒸馏水冲洗至无醇,备用。

2.5.3 树脂柱层析^[3]:精密移取备用液 10 mL,加入已经处理好的树脂柱(内径 3 cm,柱长 30 cm,树脂层高 20 cm)内吸附,先以蒸馏水洗至洗脱液无色,再以 500 mL 70% 乙醇洗脱,收集洗脱液并观察其颜色。

2.5.4 粗提液含量测定:取 2.5.1 项下备用液 10 mL,水浴蒸干,用甲醇稀释 500 倍后,用滤膜过滤,精密吸取滤液 10 μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积并计算含量,得栀子粗提液每毫升含栀子苷 11.5 mg(即过柱前药液共含栀子苷 115 mg)。

2.5.5 样品含量测定:各份树脂洗脱液回收乙醇并浓缩定容至 10 mL,吸取定容液 1 mL,水浴蒸干,用甲醇稀释并定容至 100 mL,滤膜过滤,分别精密吸取 10 μL 样液测定并计算栀子苷含量,结果见表 1。

表 1 各树脂柱洗脱液栀子苷含量测定结果

树脂类型	水洗液		醇洗液	
	栀子苷(mg)	得率(%)	栀子苷(mg)	得率(%)
AB-8	49.7	43.2	29.5	25.6
D301R	0	0	74.8	65.0
D296	46.2	40.2	37.0	32.2
D396	42.1	36.6	30.2	26.3

3 讨论

3.1 D296 D396 和 AB-8 3 种树脂柱的水洗液及醇洗液中都含有栀子苷,且水溶液中含量稍高于醇溶液,说明栀子苷在这 3 种树脂中洗脱时未能与一

些水溶性杂质(色素、糖等)很好分开,而 D301R树脂中栀子苷都集中在醇洗脱液中,水溶液中无栀子苷,因此 D301R树脂可用来分离栀子苷。

3.2 从洗脱液的颜色来看, D301R柱的醇洗液呈浅黄白色,其他三者则为黄色甚至深黄色, D301R柱明显比其他三柱浅,这一点对制剂生产的色泽控制也是非常有利的。

3.3 虽然有文献报道氧化铝柱层析法对栀子苷的

分离有较好的效果,但氧化铝价格较高,在生产上的应用有一定的局限性,而大孔树脂的应用在中成药制剂研究中日趋成熟,应用前景广泛

参考文献:

- [1] 王钢力,陈德昌,赵淑杰. 栀子属植物化学成分研究进展 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2): 67-72.
- [2] 李立荣. TLC及柱层析分离栀子苷的比较 [J]. 中成药, 1999, 21(12): 645-647.
- [3] 朱浩,侯世祥. 大孔吸附树脂吸附纯化不同中药有效部位特性研究 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(10): 607-609.

毛细管电泳法测定灯盏花及提取物中灯盏花乙素含量

饶毅¹,魏惠珍²,王义明¹,罗国安^{1*}

(1. 清华大学分析中心,北京 100084; 2. 南方电动工具厂医院,江西 南昌 330029)

摘要:目的 建立灯盏花药材和灯盏花提取物(灯盏花素)中灯盏花乙素的含量测定方法。方法 采用高效毛细管电泳法,缓冲液为 40 mmol/L 硼砂(pH 8.50,磷酸调节),未涂层石英毛细管(57 cm×50 μm),分离电压 20 kV,检测波长 280 nm。结果 灯盏花乙素线性范围 0.1~4.0 mg/mL($r=0.9985$),回收率大于 98.0%。结论 方法简便、快速、准确,可用于灯盏花药材和灯盏花素的质量控制。

关键词:毛细管电泳;灯盏花;灯盏花素;灯盏花乙素

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0796-03

Determination of scutellarin in *Erigeron breviscapus* and its extract by capillary electrophoresis

RAO Yi¹, WEI Hui-zhen², WANG Yi-ming¹, LUO Guo-an¹

(1. Analysis Center, Tsinghua University, Beijing, 100084, China; 2. Hospital of Nanfang Electric-tools Factory, Nanchang 330029, China)

Abstract Object To develop a method for the determination of scutellarin in *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz. and its extract (dengzhanhuasu) by capillary electrophoresis. **Methods** Separation was carried out in an uncoated fused silica capillary 57 cm×50 μm (ID). Meanwhile, a running voltage 20 kV, 40 mmol/L borax (pH 8.50 with H₃PO₄) buffer and a UV detector at 280 nm were adopted. **Results** The calibration curve showed good linearity over the range of 0.1-4.0 mg/mL ($r=0.9985$). The average recovery was higher than 98.0%. **Conclusion** The method is proved to be simple, rapid and accurate, and can be used for quality control of *E. breviscapus* and its extract (dengzhanhuasu).

Key words capillary electrophoresis; *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz.; dengzhanhuasu; scutellarin

灯盏花是菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* Hand.-Mazz.的全草,主要成分为黄酮类化合物,其中以灯盏花乙素含量最高^[1,2],具有降低脑血管阻力,增加脑血流量、溶解血栓、改善脑血液流变学及抗血小板凝集、抑制 PKC 过度激活、抑制 EAA 氨基酸胞外堆积和细胞内钙超载、防止氧自由基生

成增加等作用。临床上用于治疗高血压、脑血栓等心脑血管疾病^[3~5]。

对灯盏花的提取物的定量现行标准为紫外分光光度法^[6]。随着高效毛细管电泳法在药物分析中的应用越来越广泛,《中华人民共和国药典》2000年版已正式收载此方法。本实验首次采用毛细管电泳法

* 收稿日期: 2002-01-17

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973项目)(G1999054404)

作者简介: 饶毅(1964-),男,江西南昌人,副教授,生命分析化学专业博士研究生,研究方向为药物质量控制与新药开发。

Tel (010)62772265

* 通讯作者: Tel 010-62781688 E-mail GALUO@chem.tsinghua.edu.cn