

# HPLC 法测定香加皮中杠柳毒苷的含量

刘 虹, 潘桂湘, 高秀梅, 张伯礼\*

(天津中医学院中医药研究中心, 天津 300193)

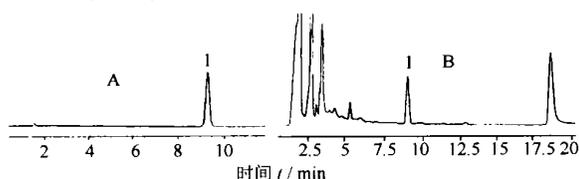
香加皮 *Periploca sepium* Bge 又名北五加皮、杠柳皮, 功效为祛风湿、强筋骨, 主要用于风寒湿痹、腰膝酸软、心悸气短、下肢浮肿等, 近年来常用于慢性充血性心力衰竭的治疗<sup>[1-4]</sup>。香加皮的主要化学成分为 10 余种杠柳苷, 其中杠柳毒苷又名杠柳苷 G、萝藦毒苷(periplocin, periploside G)为强心苷成分, 其作用与毒毛旋花子苷相似。《中华人民共和国药典》2000 年版中香加皮的含量测定项下采用 4-甲氧基水杨醛为指标成分。由于杠柳毒苷与香加皮临床应用的功效具有较好的对应关系, 本实验拟建立以杠柳毒苷为指标成分的 HPLC 含量测定方法, 作为香加皮的质量控制标准。

## 1 仪器和试剂

Agilent 1100 液相色谱系统(DAD 检测器), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 乙醇为分析纯; 杠柳毒苷对照品(自制, 经熔点、TLC、核磁及光谱分析确认, 纯度 98% 以上), 香加皮药材由亳州药材公司提供, 与其他来源样品一并经天津中医学院中药系张丽娟副教授鉴定为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bge 的干燥根皮。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil ODS 色谱柱为(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(27 : 73); 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 220 nm。色谱图见图 1。



1-杠柳毒苷  
1-periplocin

图 1 杠柳毒苷对照品(A)及香加皮药材(B)HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of periplocin (A) and *P. sepium* sample (B)

2.2 标准曲线的绘制: 精密称定杠柳毒苷对照品适

量, 用甲醇配成系列浓度的对照品溶液, 进样 20 μL。以杠柳毒苷量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 得回归方程为  $Y = 1159.51X - 2.85$ ,  $r = 0.9999$ 。杠柳毒苷的线性范围为 0.05~ 1.6 μg。

2.3 精密度试验: 取样品供试液重复进样 6 次, 测得杠柳毒苷峰面积的含量 RSD = 0.9%。

2.4 重现性试验: 取样品按测定方法平行操作 6 次, 测得杠柳毒苷的平均含量为 0.2044%, RSD = 1.6%。

2.5 稳定性试验: 取样品溶液在室温放置 0, 2, 4, 6, 8 h 分别测定, RSD = 0.7%。表明在本实验条件下样品溶液在 8 h 内稳定。

2.6 回收率试验: 取已知含量的香加皮药材 6 份, 加入已知量的杠柳毒苷对照品, 测定, 平均回收率为 101.5%, RSD = 3.0%。

2.7 样品测定: 分别取不同来源的 25 个市售香加皮药材粉末 500 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶内, 加 40 mL 50% 乙醇, 超声提取 40 min 后, 放冷至室温, 用 50% 乙醇定容至刻度, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 进样 20 μL, 以外标法计算杠柳毒苷的含量。测定结果见表 1。

表 1 不同来源香加皮中杠柳毒苷的含量

Table 1 Periplocin in *P. sepium* from different resources

来源	含量/%	来源	含量/%
安康医院	0.34	内蒙	0.19
安舜大药房	0.18	浙江	0.06
同辉药店	0.19	黑龙江	0.17
协和药店	0.18	陕西	0.072
华丰药房	0.43	华丰药房	0.43
山西 <sup>1</sup>	0.097	河北 <sup>2</sup>	0.11
湖北 <sup>1</sup>	0.14	江苏	0.12
重庆	0.22	安徽 <sup>2</sup>	0.084
河北 <sup>1</sup>	0.052	湖北 <sup>2</sup>	0.15
吉林	0.19	山东 <sup>2</sup>	0.11
山东 <sup>1</sup>	0.12	山西 <sup>2</sup>	0.11
河南	0.18	宁夏	0.076
安徽 <sup>1</sup>	0.14		

(下转第 596 页)

\* 收稿日期: 2003-09-11

作者简介: 刘 虹(1967—), 女, 主管技师, 天津中医学院 2001 级研究生(在职)在读, 研究方向为药物研发。  
Tel: (022) 23051114 E-mail: seajasmie2001@yahoo.com.cn

验发现血府逐瘀汤对平阳霉素引起小鼠肺纤维化有明显的防治作用, 并与目前应用较广泛的强的松进行了比较, 从肺羟脯氨酸含量、病变肺组织形态学观测, 结果都说明其对肺纤维化有明显的防治作用, 疗效优于强的松。刘卫敏等<sup>[9]</sup>观察了用 25% 当归注射液对大鼠肺纤维化发生、发展过程的影响及机制, 将模型组随机分为 3 组, 每天分别 ip 生理盐水 10 mL/kg, 25% 当归液 10 mL/kg, 氢化可的松 2.5 mg/kg, 第 2, 7, 15, 30 天分 4 批处死, 测算肺指数, 肺组织 HE 染色, Masson3 染色、纤维连接蛋白(Fn)、免疫组化及图像分析仪定量和电镜观察, 测血清及肺匀浆丙二醛、羟脯氨酸含量, 结果: 当归组急性肺炎阶段自由基损伤减轻, 炎性细胞渗出减少, 炎性介质如 Fn 含量显著下降, 病理上肺纤维化明显减轻, 电镜下胶原纤维减少, 且反应胶原纤维含量的羟脯氨酸明显减少, 肺纤维化过程受到阻遏, 疗效与激素无明显差异, 且长期应用副作用小。

### 2 结语

综上所述, 肺纤维化属于疑难重症, 现代医学对肺纤维化的治疗尚无良策, 因此寻求有效的中药治疗具有重要意义。目前开展的中药治疗肺纤维化药理研究已初步显示了中药在防治肺纤维化方面的良好前景, 但就目前国内研究现状而言, 尚属起步阶段, 中药治疗肺间质纤维化的实验研究开展的尚不够广泛, 程度不够深入, 且无统一的量化指标, 对药物使用的安全性缺乏系统研究观察, 今后随着研究的逐步深入, 中药在治疗肺纤维化方面必将发挥越来越重要的作用。

### References

[1] Gong J N, Yang J, Zhou K F. Preventing and treating effect on model of pulmonary fibrosis by Yangfeihuoxue Decoction

[J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础杂志), 2001, 7(6): 31-33.

[2] Song J P, Li W, Li R Q, et al. Effect of Wushe San on the levels of lam inin and procellgen III. in the Bronchio-alveolar fluid in rat with pulmonary fibrosis [J]. *J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2001, 8(10): 28-31.

[3] Song J P, Li R Q, Li W, et al. Study on the mechanism of Wushe San on the model of pulmonary fibrosis [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2001, 19(5): 515-517.

[4] Han L. Study on the influence of Buqitongfei Yin in the fluidity of red blood cell membrane of Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rat [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2001, 19(5): 441-442.

[5] Zhang S N, Wang X Q, Li L Q, et al. Preventing and treating effect on model of pulmonary fibrosis by Yangfeihuoxue Decoction [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 1999, 14(6): 22-25.

[6] Chen J, He B, Liu X M, et al. Experimental study on effect of *Folium Ginkgo Biloba* in treating pulmonary interstitial fibrosis in rat [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2002, 20(6): 441-443.

[7] Ma J, Zhang T G, Ouyang X H, et al. Effect of Buqitongfei Decoction on pathological changes of pulmonary fibrosis in rat and serum, HA, LN in BLAF [J]. *J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 1999, 6(11): 40-41.

[8] Xu J, Liu X K. Experimental study on effect of Xuefuzhuyu Decoction in Pinyang mycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息杂志), 2000, 1(1): 49-50.

[9] Liu W M, Xu Q Y, Lin Y H, et al. Study of influence of 25% *Angelica* Injection to Bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *J Wuhan Univ* (武汉大学学报), 2001, 2(4): 326-327.

(上接第 578 页)

### 3 讨论

3.1 本方法简便准确, 重现性好, 可作为香加皮中杠柳毒苷的含量测定方法。

3.2 提取条件的确定: 药材粉末分别采用回流、冷浸和超声的方法, 以 50%, 70%, 95% 乙醇及流动相(乙腈 水= 27 73)为溶剂进行提取, 结果以 50% 乙醇超声提取率为最高。

3.3 超声时间的选择: 分别超声提取 10, 20, 40, 50 min 后测定, 40 min 后测定结果不再增加, 因此本实验的超声时间为 40 min。

3.4 不同来源的香加皮中杠柳毒苷的含量差异较大, 保证临床用药安全有效, 有必要对该成分进行质量控制, 建议《中华人民共和国药典》增加香加皮

中杠柳毒苷的含量测定以严格控制药材质量。

3.5 曾试用甲醇-水、甲醇-乙腈-水、乙腈-水系统为流动相, 结果以乙腈-水系统的分离效果为好, 且杠柳毒苷的峰形好, 保留时间适宜。

### References

[1] Lu L B, Tian F H. Observation on 30 cases of CHF with compound Shengmai yin [J]. *Henan Med Inf* (河南医药信息), 2003, 24(1): 32.

[2] Luo Q. Observation on treating effects of self-modified Qiangxin Decoction on 40 cases of CHF [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2001, 17(2): 47-48.

[3] Zhou X J. Clinical observation on 25 cases of CHF treated with Qijia Granules [J]. *Hebei Tradit Chin Med* (河北中医), 2002, 22(10): 749.

[4] Xu L Q, Lu H Z, Zhang Y L. Clinical observation on 147 cases of CHF with Beiwujiapi Mistora [J]. *Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med* (云南中医中药杂志), 1998, 19(4): 29-30.