

解度也增大,但当萃取至一定程度,随着血竭中起协同作用的非极性组份的萃出,抑制活力也随之下降。同时随着萃取时间的延长,越来越多的物质被萃取出来,萃取率也随之下降。因此选择最佳萃取时间为 2 h。

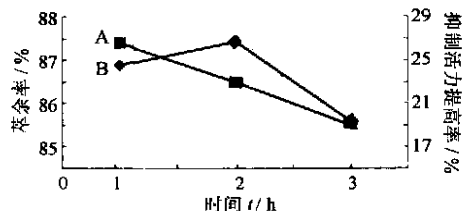


图 3 时间对萃取率(A)和抑制活力提高率(B)的影响

Fig 3 Effect of time on surplus extraction rate (A) and inhibitory activities (B)

2.8 CO₂ 流量的影响:见图 4。超临界 CO₂ 流体流量对提取率具有双重作用,增加流体流量一方面因减少超临界流体在物料中的传质接触时间而降低了萃取率,另一方面因增加了传质速率和浓度差而利于物质的萃取。随着流量的增大,浓度差也增大,但溶质在 CO₂ 中的溶解量减小,当流量增大到一定值时,提取效率不再随流量增大而有明显变化,再增加 CO₂ 流量,使血竭与 CO₂ 的接触时间缩短,血竭中成分来不及充分扩散到 CO₂ 中,同时过大的 CO₂ 流

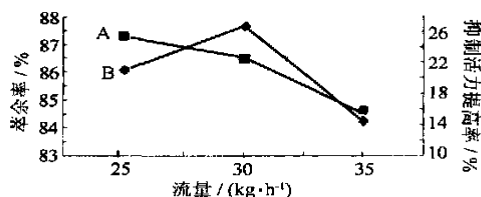


图 4 CO₂ 流量对萃取率(A)和抑制活力提高率(B)的影响

Fig 4 Effect of CO₂ flow on surplus extraction rate (A) and inhibitory activities (B)

量也会导致消耗增加,因此,流量存在一个最佳值。从本实验结果来看,流量取 30 kg/h 为宜。

2.9 SFE-CO₂ 法和索氏抽提法提取结果的比较:称取广西血竭细粉(过 60~80 目筛)100 g,加入石油醚 1 600 mL 进行索氏抽提,温度为 85 °C,提取时间为 30 h,回收溶剂,得血竭石油醚提取物。将血竭的超临界流体萃取法与石油醚索氏提取法作比较,各实验对比条件与结果见表 1。可见,用 SFE-CO₂ 法萃取血竭,与传统的索氏抽提法相比较,条件温和,生产工艺周期大大缩短,得率和 α-葡萄糖苷酶抑制活力均有较大提高。

表 1 SFE-CO₂ 法和索氏提取法萃取血竭中成分工艺比较

提取方法	温度 / °C	压力 / MPa	提取时间 / h	得率 / %	D ₅₀	抑制活力提高率 / %
SFE-CO ₂	40	15	2	98.2	3.13	27.9
索氏提取	85		30	95.0	3.85	11.3

3 讨论

超临界流体萃取技术作为一种新型的绿色化工技术,在中药有效成分的分离提取领域中具有广阔的应用前景。本实验采用超临界 CO₂ 流体萃取血竭中降血糖有效成分具有明显的优势,同时确立的工艺路线可作为工业化大生产的参考,具有较强的经济效益和社会效益。

References

- [1] Huang M H. The fingerprints establishment of Dragon's Blood and their inhibitive activity to α-glucosidase [A]. Dissertation of Master Degree of Shanghai University (上海大学硕士学位论文) [D]. Shanghai: School of Life Science, Shanghai University, 2002.
- [2] Ling A P, Tu P F, Zheng J H. Study on pharmacopoeia of Dragon's Blood [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1994, 19(11): 648-649.

GC-MS 法测定麻黄汤不同配伍对桂皮醛含量的影响

魏凤环, 罗佳波*, 陈飞龙, 贺 丰*

(第一军医大学 中药制剂重点实验室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 建立气相色谱-质谱法(GC-MS)测定麻黄汤中桂皮醛含量的方法, 研究配伍对桂皮醛含量的影响。方法 GC-MS 法测定桂皮醛的含量, 并用 MS 鉴定其他色谱峰。采用 L₈(2⁷) 正交设计安排试验, 统计软件

* 收稿日期: 2003-06-12

基金项目: 国家自然科学基金重点项目: 麻黄汤配伍规律的研究(30030150)

作者简介: 魏凤环(1976—), 女, 山东人, 中药药剂专业博士研究生, 2001 年获山东中医药大学中药药剂专业硕士学位, 研究方向为中药基础研究和中药新药的研究开发。Tel: (020) 61648265 E-mail: awag8486@sohu.com

* 通讯作者 Tel: (020) 61648266 E-mail: ljb@fjmmu.edu.cn

(SPSS10.0)分析麻黄、杏仁、甘草及两两交互作用对桂皮醛含量的影响。pH计测定各组合的pH值。结果 麻黄、杏仁对方中桂皮醛的含量影响差异具有显著性($P < 0.05$),甘草及两两交互作用对其影响不显著($P > 0.05$)。各组合pH值变化不明显。结论 麻黄、杏仁显著降低桂皮醛的含量,甘草及交互作用则对其含量的降低无统计学意义。

关键词:麻黄汤;配伍;桂皮醛;GC-MS

中图分类号:R283.3; R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2004)06-0635-04

Influence of compatibility on cinnamaldehyde in Mahuang Decoction by GC-MS

WEI Feng-huan, LUO Jia-bo, CHEN Fei-long, HE Feng

(Key Laboratory of Pharmaceutics of Materia Medica, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: **Object** To develop the quantitative method of cinnamaldehyde in Mahuang Decoction (MHD) by GC-MS and study the influence of various combinations of MHD on the contents of cinnamaldehyde in the decoctions. **Methods** By $L_8(2^7)$ orthogonal design and statistic analysis (SPSS 10.0), eight decoctions with *Ramulus Cinnamomi* were prepared and analyzed. Contents of cinnamaldehyde were determined by GC-MS. The pH value of decoctions was determined by pH meter. **Results** For *Herba Ephedrae* and *Semen Amelanchieris*, the influences on the contents of cinnamaldehyde were significant ($P < 0.05$). But for *Radix Glycyrrhizae* the interactions were insignificant ($P > 0.05$). The change of pH value not obvious. **Conclusion** The content of cinnamaldehyde is only reduced significantly by *Herba Ephedrae* and *Semen Amelanchieris*. But it is insignificant for *Radix Glycyrrhizae* and its combinations.

Key words: Mahuang Decoction (MHD); compatibility; cinnamaldehyde; GC-MS

“药有个性之特长,方有合群之妙用”,方剂配伍的内涵与意义亟待用科学的实验数据进行阐明。本课题以麻黄汤为工具方对其配伍进行研究。该方由君药麻黄、臣药桂枝、佐药杏仁、使药炙甘草组成。本实验从麻黄汤不同组合对桂皮醛含量的影响,研究了麻黄汤配伍的规律,为深入研究该方提供参考。

1 仪器与试剂

HP6980—MS5973 气相色谱-质谱仪(美国安捷伦),DB-17 弹性石英毛细管(30 m × 0.5 mm × 0.25 mm),定量移液器(德国 Eppendorf, 200 μL, 1 000 μL),410A 型 pH 计(美国 Orion)。

麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf. 的干燥草质茎,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus amniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。饮片购自广东省药材公司中药饮片厂,经本校中药鉴定学教研室鉴定。桂皮醛(中国药品生物制品检定所,批号:710-200011),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 麻黄汤中桂皮醛定量方法的建立

2.1.1 色谱/质谱条件:色谱柱:HP-5 弹性石英毛细管(30 mm × 0.5 mm × 0.25 mm),进样量:1 μL,无分流进样,进样口温度:220 °C,载气:He,载气为恒流模式,柱流量:1.0 mL/min。柱初温:120 °C,以

8 °C/min 升至 250 °C,接口温度:280 °C,离子源:EI,电离能量:70 eV,倍增电压:1 675 V。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密吸取桂皮醛对照品 60 μL,置 5 mL 量瓶中,加醋酸乙酯至刻度,即得。

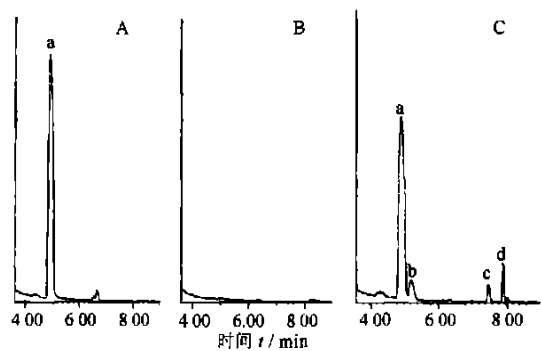
2.1.3 供试品溶液的制备:准确称取麻黄 9 g、桂枝 6 g、杏仁 6 g、甘草 3 g,加 240 mL 水,浸泡 30 min,加热回流 30 min,脱脂棉滤过,用 90 °C 水洗涤药渣 3 次,10 mL/次,加水至 250 mL。取 10 mL 全方煎液加 20 mL 醋酸乙酯,振摇萃取 30 min,取醋酸乙酯层即得麻黄汤供试品溶液。准确称取麻黄 9 g、杏仁 6 g、甘草 3 g,按照全方供试品溶液制备的方法操作,得缺桂枝的阴性对照溶液。

2.1.4 标准曲线的制备:取桂皮醛对照品溶液 100 μL 置 10 mL 量瓶中,加醋酸乙酯至刻度。取 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 mL 分别置 5 mL 量瓶中,加醋酸乙酯至刻度,按照上述色谱/质谱条件分析。以桂皮醛浓度(C)为横坐标,总离子丰度(A)为纵坐标进行线性回归,得桂皮醛回归方程 $A = 5.0 \times 10^8 C - 3.41 \times 10^5$, $r = 0.9999$ 。表明桂皮醛在 0.012~0.12 μL/mL 与总离子丰度有良好的线性关系。

2.1.5 干扰性考察:取缺桂枝的阴性对照溶液测定,结果 $t_R = (4.91 \pm 0.01)$ min 处无色谱峰,表明其他 3 味药对桂皮醛的定量无干扰。色谱图见图 1。

2.1.6 精密度试验:取桂皮醛对照品溶液连续进样 6 次,结果丰度的 RSD = 1.02%。

2.1.7 稳定性试验:取对照品溶液分别在 0, 4, 8,



a-桂皮醛 b-r-苯基丙烯醇 c-香豆素 d-p-甲氧基肉桂醛
a-cinnamaldehyde b-r-phenylallyl alcohol c-coumarin
d-p-methoxy cinnamicaldehyde

图 1 桂皮醛对照品(A)、阴性对照(B)和麻黄汤(C)的GC-MS 色谱图

Fig 1 GC-MS of cinnamaldehyde reference substance (A), sample without Ramulus Cinnamomi (B), and MHD (C)

12, 16, 24 h 测定, 结果所得丰度的 RSD 为 2.57%。表明桂皮醛溶液在 24 h 内稳定。

2.1.8 重现性试验: 取麻黄汤供试品溶液 10 mL 5 份, 进样测定, 结果所得桂皮醛含量的均值为 10.448 μL/剂, RSD 为 2.26%。

2.1.9 回收率试验: 取缺桂枝阴性供试品溶液 5 mL 12 份, 分为 3 组, 分别加入桂皮醛对照品 0.12, 0.36, 0.90 μL, 各加 10 mL 醋酸乙酯, 振摇萃取 30 min, 取醋酸乙酯层, 进样分析, 结果平均回收率为 101.30%, RSD 为 1.56%。

2.2 麻黄汤不同配伍对桂皮醛溶出量的影响

2.2.1 正交设计: 选麻黄(因素A)、杏仁(因素B)、甘草(因素C)作为 3 个因素, 选“有”和“无”为 2 个水平, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels			
水平	因 素		
	A 麻黄	B 杏仁	C 甘草
1	有	有	有
2	无	无	无

2.2.2 试验安排: 采用 L₈(2⁷) 正交设计安排试验, 结果见表 2。

2.2.3 统计分析: 采用 SPSS 10.0 分析软件进行处理, 结果表明麻黄、杏仁对桂皮醛的含量降低的影响差异具有显著性(P < 0.05), 甘草及两两交互作用的影响差异不具有显著性(P > 0.05)。结果见表 3。

2.3 pH 值的变化: 单味药麻黄 9g、杏仁 6g、甘草

表 2 L₈(2⁷) 正交设计及结果
Table 2 L₈(2⁷) orthogonal design and result

编号	A	B	A × B	C	A × C	B × C	空白	桂皮醛 /(μL · 剂 ⁻¹)
1	1	1	1	1	1	1	1	10.212
2	1	1	1	2	2	2	2	11.788
3	1	2	2	1	1	2	2	15.268
4	1	2	2	2	2	1	1	16.290
5	2	1	2	1	2	1	2	18.494
6	2	1	2	2	1	2	1	23.556
7	2	2	1	1	2	2	1	29.112
8	2	2	1	2	1	1	2	32.098

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis				
方差来源	立均差平方和	F 值	P 值	显著性
A	0.494 00	1 066.205	0.019	P < 0.05
B	0.165 00	355.971	0.034	P < 0.05
A × B	0.018 43	39.782	0.100	
C	0.022 67	48.919	0.090	
A × C	0.059 45	12.829	0.173	
B × C	0.013 83	2.985	0.334	
误差(空白)	0.046 34			

3 g 按 2.1.3 项下“加 240 mL 水……至 250 mL”操作, 30 °C 下测定 pH 值, 结果见表 4。可见各组合 pH 值变化不明显, 尤其是显著降低桂皮醛溶出量的麻黄、杏仁对桂枝水煎液 pH 值的影响不明显。

表 4 各组合的 pH 值测定结果

Table 4 Results of pH value of decoctions	
组 合	pH 值
麻黄+ 桂枝+ 杏仁+ 甘草	5.23
麻黄+ 桂枝+ 杏仁	5.23
麻黄+ 桂枝+ 甘草	5.16
麻黄+ 杏仁+ 甘草	5.31
麻黄+ 桂枝	5.16
桂枝+ 杏仁	5.23
桂枝+ 甘草	5.17
桂枝	5.08
麻黄	5.39
杏仁	5.04
甘草	5.44

3 讨论

3.1 麻黄能显著降低桂皮醛的溶出量, 究其原因: 从 pH 值变化的角度分析, 30 °C 下麻黄与桂枝合煎与桂枝单煎相比 pH 值的改变不明显, 提示麻黄对桂皮醛溶出量的影响可能与 pH 值无关。从产生新化合物的角度分析, 有报道麻黄汤中麻黄碱与桂皮醛反应生成新化合物, 该新化合物在热水中不稳定。但在本实验条件下未检测出该成分, 可能因为新化合物挥发性差, 不适于用 GC-MS 分析检测; 或在醋酸乙酯中不稳定或溶解度甚微。原因有待进一步研究。

3.2 杏仁显著降低桂皮醛溶出量。在 30 °C 下杏仁对桂枝汤液 pH 值影响不大, 提示杏仁对桂皮醛溶出量

的影响可能与pH值无关。原因有待进一步研究。

3.3 本实验条件下,检测出桂枝中的另3个成分,均达到较好的分离,经MS鉴定分别是 *r*-苯基丙烯酸($t_R = 5.21$ min)、香豆素($t_R = 7.50$ min)、*p*-甲氧基肉桂醛($t_R = 7.92$ min)。以丰度值对3种化合物定量,进行统计学分析,结果表明麻黄、杏仁、甘草及两两交互作用对三者含量的影响差异均不具有显著性。

3.4 本实验对麻黄汤进行拆方组合后,从臣药桂枝

主要效应成分桂皮醛含量的变化层面上阐述麻黄汤配伍的意义。麻黄降低桂皮醛的含量,相应桂枝亦降低麻黄碱、伪麻黄碱的含量^[1],提示桂枝可能通过自身效应成分与麻黄中成分反应降低麻黄的毒副作用。

Reference:

- [1] Li J L, Chen F L, Liu C M, et al. Determination of ephedrine and pseudoephedrine in MAHUANG TANG by GC-MS and effect of compatible medicinal herbs on concentration of components in decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 307-309.

RP-HPLC 法测定鹤草芽栓中鹤草酚的含量

陈晓辉¹, 毕开顺¹, 郭金华^{2*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 辽宁省疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110005)

摘要:目的 建立鹤草芽栓中鹤草酚的含量测定方法。方法 采用RP-HPLC法。使用Nova-Pak C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)分析柱, 甲醇-水-三乙胺(80:20:0.2)为流动相, 检测波长292 nm, 流速为0.8 mL/min, 进样量为20 μL。结果 鹤草酚在12.5~125 mg/L与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为98.2%, RSD为1.5% (n=9)。结论 该方法简便、快速、重现性好, 适用于鹤草芽栓中鹤草酚的定量分析。

关键词: 鹤草芽栓; 鹤草酚; 反相高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)06-0638-02

Quantitative determination of agrimophol in Hecaoya Suppository by RP-HPLC

CHEN Xiao-hui¹, BI Kai-shun¹, GUO Jin-hua²

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Liaoning Centre for Disease Control and Prevention, Shenyang 110005, China)

Key words: Hecaoya Suppository; agrimophol; RP-HPLC

鹤草芽栓是由鹤草芽提取物制成的栓剂, 具有消炎止痒、杀滴虫等作用, 为妇科外用。其有效成分为鹤草酚^[1,2]。目前采用薄层色谱法、比色法和重量法对鹤草芽所含酚类物质总量进行测定, 以控制产品质量^[3~5]。因操作烦琐、费时、专属性差等缺点, 使产品质量不能得到有效的控制。为完善和提高鹤草芽栓的质量标准, 使之达到科学化、标准化, 本实验探讨了采用RP-HPLC法测定鹤草芽栓中鹤草酚的含量, 并且收到了满意的效果。该方法快速、准确、简便、灵敏度高、重现性好。

1 仪器与试剂

TSP 高效液相色谱仪, Waters 515 输液泵, Waters 486 型紫外检测器, PC800 色谱数据工作站。甲醇(色谱纯), 三乙胺(优级纯), 氯仿(分析纯); 鹤草酚对照品由沈阳药科大学提供, 经归一化法测

定纯度为99.2%; 鹤草芽栓由抚顺制药厂生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Nova-Pak C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺(80:20:0.2); 检测波长: 292 nm; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL。

2.2 系统适用性试验: 取供试品溶液, 在上述色谱条件下进样, 以鹤草酚色谱峰计算, 理论塔板数为3500, 拖尾因子0.96, 分离度大于1.5, 且鹤草酚的峰与其他成分可获得基线分离。本法测得最低检测浓度(S/N > 3)按鹤草酚计为6 μg/mL, 最低定量浓度(S/N > 10)按鹤草酚计为15 μg/mL。

2.3 标准曲线的绘制: 称取鹤草酚对照品约25 mg, 精密称定, 置于100 mL量瓶中, 用少量氯仿溶解后, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀作为对照品储备液。

* 收稿日期: 2003-08-05

作者简介: 陈晓辉, 女, 2001年毕业于日本爱媛大学生物资源科学专业, 获理学博士学位, 主要从事天然植物药及药物分析研究。