HPLC-ELSD 法测定穿心莲片中穿心莲内酯

韩 光[1,2]，许笑笑[1]，杨松松[2]

(1. 河南大学药学院，河南 开封 475001；2. 辽宁中医学院，辽宁 沈阳 110032)

穿心莲片是穿心莲提取浸膏制得薄膜衣片，具有清热解毒、凉血消肿之功效，临床用于感冒发热、咽喉肿痛、口舌生疮等。其活性成分主要是以穿心莲内酯为代表的二萜内酯类化合物及其葡萄糖衍生物[1,2]。穿心莲内酯的测定方法有分光光度法、薄层扫描法、HPLC-UV 法[3~5]等。本实验采用 HPLC-ELSD 法测定穿心莲片中穿心莲内酯，结果表明该法简便、精确，是一种检测穿心莲制剂中穿心莲内酯的有效方法。

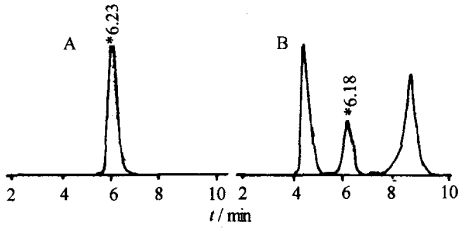
1 仪器与试药

日本岛津 LC—2010 高效液相色谱仪、SEDEX 蒸发光散射检测器、CLASS—VP 色谱工作站。

甲醇为色谱纯，水为二次蒸馏水，穿心莲内酯对照品(中国药品生物制品检定所)，穿心莲片(广西嘉进药业有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验：色谱柱：Aglient Zorbax Extent-C_{18}柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇-水(60∶40)；体积流量：1.0 mL/min；柱温：室温。理论塔板数以穿心莲内酯计不低于 6 000。在此色谱条件下，色谱图见图 1。



*-穿心莲内酯

*-andrographolide

图 1 穿心莲内酯对照品(A)和穿心莲片(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of andrographolide reference substance (A) and Chuanxinlian Tablet (B)

2.2 对照品溶液的制备：精密称取穿心莲内酯对照品 10.75 mg，置 25 mL 量瓶中，加甲醇适量，超声使溶解，加至刻度，即得。

2.3 供试品溶液的制备：取穿心莲片 20 片，除去薄膜衣，精密称定，研成细粉，精密称取 0.309 g，置于 50 mL 量瓶中，加甲醇适量，超声提取 30 min，并加甲醇至刻度，摇匀，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.4 标准曲线的建立：取穿心莲内酯对照品溶液，分别进样 8、10、12、14、16、18 μL。以峰面积自然对数为横坐标，进样量的自然对数为纵坐标作标准曲线，得回归方程 $Y=0.702\ 3\ X-9.502\ 0$，$r=0.999\ 6$。结果表明：穿心莲内酯在 3.34～7.74 μg 线性关系良好。

2.5 稳定性试验：取穿心莲片供试品溶液，分别于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样 10 μL，测定，结果峰面积的 RSD 为 1.1%，表明溶液在 24 h 内稳定。

2.6 精密度试验：取穿心莲内酯对照品溶液 10 μL，连续进样 6 次，记录峰面积，计算得其 RSD 为 0.9%。

2.7 重现性试验：取同一批穿心莲片样品 0.3 g，5 份，制备供试品溶液，分别进样 10 μL，记录峰面积，计算穿心莲内酯的质量分数，结果其 RSD 为 1.1%。

2.8 回收率试验：取含穿心莲内酯 19.83 mg/片的穿心莲片(片重 0.3 g)细粉，精密称取约 0.15 g，分别置于 50 mL 量瓶中，各加入穿心莲内酯对照品 10 mg，制备供试品溶液，进样 10 μL，计算得平均回收率为 99.21%，RSD 为 1.1% ($n=3$)。

2.9 样品测定：取样品，制备供试品溶液，进样 10 μL，记录色谱图峰面积，按回归方程计算，结果见表 1。

表 1 穿心莲片中穿心莲内酯的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Andrographolide in Chuanxinlian Tablet ($n=3$)

批号	穿心莲内酯/(mg·片$^{-1}$)	RSD/%
031102	19.03	0.8
031108	19.83	1.1
031114	18.08	0.9

3 讨论

ELSD 检测器为质量型通用检测器，可用于检测任何挥发性低于流动相的化合物，且化合物的响

(下转第 796 页)

收稿日期：2004-11-09

雄黄、砒霜可抑制癌细胞核酸代谢，干扰 DNA、RNA 合成，抑制蛋白质合成，阻止细胞的有丝分裂，从而使癌细胞的形态和功能发生变化，杀伤癌细胞。另外，生半夏、生天南星、长春花、蓖麻子、大戟、泽漆、全蝎、蜈蚣等也有明显的抑杀癌细胞的作用。

3.2 诱导凋亡：诱导肿瘤凋亡是近年来肿瘤治疗研究的一个热点，也是治疗肿瘤的重要途径。去甲斑蝥素对 K_{562} 细胞有较强的增殖抑制作用，24 h 后达到凋亡高峰。各浓度去甲斑蝥素作用 24 h 后，G_1 期细胞百分数均减少，S 期与 G_2+M 期细胞百分数增加，呈现 G_2+M 期阻滞现象，且有明显的时间和剂量效应[4]。砒霜可促进急性早幼粒细胞白血病(APC)细胞株 NB_4 细胞凋亡，表现为核碎裂，出现凋亡小体。雷公藤红素可有效地诱导人肥大细胞白血病细胞素 HMU-1 细胞凋亡，主要发生在细胞 S 期。细胞凋亡的发生与药物上调促凋亡基因 bax、c-MYC 和下调抑凋亡基因 bcl-2 的表达有关[5]。雄黄对 HL-60、NB_4、K_{562}/ADM 细胞均有促凋亡作用。且作用的早期主要以细胞凋亡为主，临床用雄黄治疗慢性粒细胞性白血病效果明显[6,7]。

3.3 诱导分化：是诱导癌细胞向正常细胞逆转的重要方法。砒石能明显诱导 HL-60 细胞向粒细胞系统分化，使 G_1 期细胞比例明显增加，并通过诱导分化达到缓解白血病的目的[8]。另外，巴豆、雄黄等也都有类似作用。

4 合理应用

4.1 炮制减毒：对毒性成分本身就是有效成分的中药，可根据其所含成分的性质，选择适当炮制减毒方法。如马钱子所含士的宁小剂量有兴奋脊髓作用，但毒性极大，成人口服 5～10 mg就会中毒，炮制时用砂烫或油炸，破坏其中部分毒性成分；巴豆是剧烈的泻下药，其巴豆油口服 20 滴可致人死亡，炮制时通过压榨去油制霜，除去大量油质，以降低毒性、缓和峻泻作用。对毒性成分与药效成分无关的中毒，应尽量降低或除去毒性成分。如生川乌所含的乌头碱是毒性极强的双酯型生物碱，经加热水解的炮制处理，生成了几乎无毒性的生物碱乌头胺；附子的炮制是用卤水或矾水长时间泡漂，使有毒成分乌头碱溶于水除去。

4.2 配伍减毒：临床应用有毒药物时，可通过适当配伍减轻或消除其毒性或副作用。如张仲景在运用附子时，多与干姜、甘草、生姜等配伍。现代研究证明，干姜、甘草均可影响附子生物碱而大大降低其毒性。有学者对乌头配甘草的水煎液进行了定量、定性分析，结果显示，乌头配甘草同煎较乌头单煎，其乌头碱的溶出率降低 22%，初步说明甘草解乌头毒，可能是由于降低了乌头中乌头碱的溶出率。临床研究证实，复方马钱子汤中对马钱子起减毒作用的主要成分是甘草；全蝎配玄明粉内服，可促进全蝎毒素的排出，以降低毒性。另外，严格控制有毒中药的用药剂量、疗程，也是合理应用有毒中药的重要措施。一般应用有毒中药应从小剂量开始，在仔细观察中逐渐增加剂量，不要超过极量；疗程应中病即止，以免造成累积性中毒。

5 结语

有毒中药既能致毒也能抗癌。只要能合理应用，就能趋利避害，使有毒中药在癌症的治疗中发挥重要作用。

References:

[1] Li X G, Nan X Y, Dang J G, *et al*. Experiment research of the effects of *Brucea* fruit oil intravenous emulsion on kidney cancer [J]. *J Clin Urol* (临床泌尿外科杂志), 1998, 13(2): 82.

[2] Liu X D, Sui Z Y. Influences of croton alkaloid on cancer cell plasma membrane fluidness and cytoplasmic matrix structure made [J]. *J Shandong Coll Tradit Chin Med* (山东中医学院学报), 1995, 19(3): 192.

[3] Xu J Y, Yang J, Li L Z, *et al*. Experiment research on antitumer activity of *Triperygium wilfordii* [J]. *Chin J Intergrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1992, 12(3): 161.

[4] Chen J X, Liu X L, Liu Y, *et al*. Influence of norcantharidin on apoptosis of K_{562} [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 2000, 15(2): 21.

[5] Bao Y X, Yu R Q, Zhang D H, *et al*. *In vitro* study on cellular and molecular mechanism of tripterine treating leukemic mast cells [J]. *Chin J Haematol* (中华血液学杂志), 1999, 20(3): 146-148.

[6] Zhang C, Huang S L, Lu B F, *et al*. Realgar induces apoptosis in K_{562} cells [J]. *Chin Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 1999, 165(3): 30-31.

[7] Zhang C, Huang S L, Zou L J, *et al*. Realgar induces apoptosis of K_{562}/ADM cells [J]. *J Dalian Med Univ* (大连医科大学学报), 1999, 21(1): 11-12.

[8] Tao R F, Zeng H L, Kong A N, *et al*. Clinical observation of the treatment by using arsenic trioxide in curing on recurrence acute promyelocytic leukemia [J]. *Jiangsu Med Pharm J* (江苏医药), 1998, 24(4): 234.

(上接第 705 页)

应值接近，因而峰面积比和各组分的质量比极其接近，同时灵敏度和稳定性亦能符合测定的要求，是一应用广泛的新型检测器。

本实验以 HPLC-ELSD 法用于测定穿心莲片中穿心莲内酯，准确、可靠，为穿心莲药材及制剂中穿心莲内酯的测定提供了参考方法。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.

[2] Madar S, Tripathi H, Tandan C, *et al*. Antipyretic and antialcerogenic effects of andrographolide [J]. *Indian J Pharm Sci*, 1995, 57 (3): 121-125.

[3] Wang H, Zhang X D, Guo X F. Studies on quality standerd of *Andrographis paniculata* herbs and Chuanxinlian Talbets [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2002, 17 (2): 63-64.

[4] Wu F H, Li G X, Liang H M, *et al*. Determination of andrographolide and 14-deoxy-11, 12-didehydroan- drogra- pholide in Compound Chuanxinlian Tablets by HPLC [J]. *Northwest Pharm J* (华西药学杂志), 2004, 19 (2): 133-135.

[5] Dong H R, Lu J. Determination of andrographolides in *Andrographis paniculata* herbs and Xiaoyanlidan Tablets [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21 (1): 11-13.