

某些中药用酶法提取时收率明显提高,具有较大的应用潜力,但该技术同时也存在着一定的局限性。酶法提取对实验条件要求较高,为使酶发挥最大作用,需先通过实验确定通过最适温度、pH 及最适作用时间等。能否将其用于工业化的中药提取中,还需综合考虑酶的浓度、底物的浓度、抑制剂和激动剂等对提取物有何影响,故有待进一步深入研究探讨。

References:

- [1] Jiang S T, Pan L J, Zhang Z, *et al.* Experimental study on the extraction of instant green tea with enzymes [J]. *Transact Chin Soci Agric Eng* (农业工程学报), 1998, 14 (4): 234-238.
- [2] Jia X B, Chen Y, Cai B C, *et al.* Study on the method of purifying astragaloside [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25 (11): 866-868.
- [3] Liu Z F, Liu X P, Liang X Y, *et al.* Extraction and separation of general flavones and general saponins in *Astragalus* [J]. *Acta Univ Nankai; Nat Sci* (南开大学学报:自然科学版), 2003, 36 (3): 22-25.
- [4] Han L J, Yan Q J, Jian Z Q, *et al.* Study on extracting technology of astragalin polysaccharide and astragaloside [J]. *Transact Chin Soci Agric Eng.* (农业工程学报), 2000, 16 (5): 118-121.
- [5] Wu Y P, Cao Y, Cao Z Z, *et al.* Technology optimization of extracting activity components from *Astragalus membranaceus* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12 (10): 876-877.

茵陈蒿汤颗粒的质量标准研究

刘 晟, 徐 宇*, 李 芳, 边 原, 王 谦

(四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

茵陈蒿汤出自于《伤寒论》,以茵陈蒿、大黄、山栀子3味药材组成,具有清热、利湿等作用,主治湿热黄疸、面目俱黄、口中渴以及各种肝胆疾患^[1]。番泻苷A为大黄中所含的具有泻下作用的有效成分。为了更简便、快速、准确地控制产品质量,本实验对该制剂中的茵陈蒿、大黄、山栀子进行了定性鉴别,并采用HPLC法对该制剂中的有效成分番泻苷A进行测定。

1 仪器和材料

日本岛津LC-9A高效液相色谱仪;SPD-6AV紫外可见光检测器;SIL-6B自动进样器;C-R4A数据处理机;瑞士Buchi旋转薄膜蒸发器;SB3200超声波仪。

硅胶G预制板(20 cm×10 cm);番泻苷A对照品(日本松浦药业股份公司,04Q4);乙腈(色谱纯);高纯水;茵陈蒿、大黄、山栀子对照药材均由四川大学华西药学院生药教研室王天志教授鉴定,茵陈蒿为茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分,大黄为药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎,山栀子为栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实;茵陈蒿汤颗粒(贵州省宏宇药业有限公司);其他试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 供试品溶液的制备:取茵陈蒿汤颗粒2.0 g,加甲醇20 mL,超声提取30 min,滤过,滤液减压浓缩至干,残留物用甲醇5 mL溶解,即得供试品溶液I。取本品5.5 g,按供试品溶液I的制备方法同样操作,得供试品溶液II。

2.2 对照药材溶液的制备:分别称取各味对照药材,加10倍量水提取2次(0.5、1 h),浓缩,喷雾干燥,得各味药材的浸膏粉。分别取茵陈蒿浸膏粉1.0 g、大黄浸膏粉0.5 g、山栀子浸膏粉1.0 g,按供试品溶液I的制备方法同样操作,分别得茵陈蒿、大黄、山栀子的对照药材溶液。

2.3 空白对照溶液的制备:按处方比例称取生药,并依次去掉其中一味生药提取,加10倍量水提取,浓缩,喷雾干燥,得各味生药的空白对照干浸膏粉。分别取茵陈蒿空白干浸膏粉1.0 g、大黄空白干浸膏粉6.5 g、山栀子空白干浸膏粉1.2 g,按供试品溶液I的制备方法同样操作,分别得茵陈蒿、大黄、山栀子的空白对照溶液。

2.4 TLC鉴别

2.4.1 茵陈蒿的鉴别:取供试品溶液I、茵陈蒿对照药材溶液和茵陈蒿空白对照溶液各5 μL,点样于

收稿日期:2005-02-11

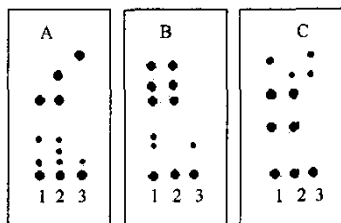
作者简介:刘 晟(1980—),男,四川绵阳三台县人,正攻读药物分析专业的硕士学位,研究方向为中药质量标准化和中药新药研究。
Tel: (028) 85434102 E-mail: liusheng-liusheng@tom.com

* 通讯作者 徐 宇 Tel: (028) 85503028

硅胶 G_{60} 板上,用氯仿-醋酸乙酯-甲酸(4:4:2)混合液为展开剂,展开约 10 cm 后,晾干。喷氢氧化钠乙醇液(5→100),置紫外灯 365 nm 下观察。供试品溶液 I 和茵陈蒿对照药材溶液中有 Rf 值为 0.48 的蓝色荧光斑点,而对应的茵陈蒿空白对照溶液无此斑点,以此确认茵陈蒿的存在(图 1-A)。

2.4.2 大黄鉴别:取供试品溶液 I、大黄对照药材溶液和大黄空白对照溶液各 3 μ L,点样于硅胶 G_{60} 板上,用石油醚-醋酸乙酯-丙酮(6:4:1)混合液为展开剂,展开约 10 cm 后,晾干,置紫外灯 365 nm 下观察,供试品溶液 I 和大黄对照药材溶液中都有 Rf 值为 0.54 的橙红色荧光斑点,而对应的大黄空白对照溶液中无相应的斑点,以此确认大黄的存在(图 1-B)。

2.4.3 山栀子鉴别:取供试品溶液 I、山栀子对照药材溶液和山栀子空白对照溶液各 3 μ L,点样于硅胶 GF_{254} 板上,用醋酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)混合液为展开剂,展开约 10 cm 后,晾干,用硫酸乙醇液(10→100)显色,105 $^{\circ}$ C 加热数分钟至斑点显色。供试品溶液 I 和山栀子对照药材液中有 Rf 值为 0.35 绿色斑点及 0.50 棕色斑点,而对应的山栀子空白对照溶液无相应的斑点,以此确认山栀子的存在(图 1-C)。



1-茵陈蒿汤颗粒 2-对照药材 3-空白对照
1-Yinchenhao Decoction Granula 2-reference
crude drug 3-negative sample

图 1 茵陈蒿(A)、大黄(B)和山栀子(C)的薄层色谱图
Fig. 1 TLC chromatograms of *Herba Artemisiae Scopariae* (A), *Radix et Rhizoma Rhei* (B), and *Fructus Gardeniae* (C)

3 定量测定

3.1 供试品溶液的制备:取茵陈蒿汤颗粒剂 2.5 g,精密称定,加甲醇(7→10) 30 mL,超声波提取 1 h,离心分离(3 000 r/min) 15 min,取上清液,再用甲醇(7→10) 20 mL 分两次洗涤残留物,按上述方法同样操作,合并上清液,减压浓缩至 2 mL,装入 DEAE 色谱柱(200 mm×8 mm)中,用 100 mL 含有 0.075 mol/L 醋酸钠的甲醇溶液(1→2)冲柱,再用

含 0.2 mol/L 磷酸的甲醇液(1→2)进行洗脱,洗脱液定容至 25 mL,过 0.45 μ m 微孔滤膜,即为供试品溶液。

3.2 对照品溶液的制备:精密称取对照品番泻苷 A 12.5 mg,用甲醇(7→10)溶解,滴加 3 滴 1% 氢氧化钠溶液助溶,再用甲醇(7→10)定容至 10 mL,精密量取此液 1.00 mL,加入甲醇(7→10)定容至 25 mL,即得番泻苷 A 对照品溶液。

3.3 色谱条件:色谱柱:Shimpack CLC ODS (150 mm×6.0 mm, 0.5 μ m);流动相:水-乙腈(4:1,磷酸调节 pH 值至 3.2);检测波长 380 nm;柱温 35 $^{\circ}$ C。

3.4 线性关系考察:精密称取经减压干燥的番泻苷 A 10.0 mg,用甲醇溶解,并加入 1% 氢氧化钠溶液助溶,定容至 100 mL。精密量取此液 2、4、6、8 mL,分别用 70% 甲醇定容至 10 mL,各取 10 μ L,按上述色谱条件下进行分析,测定番泻苷 A 的峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归。结果表明番泻苷 A 在 0.2~0.8 μ g 线性关系良好, $Y=1\,965.6+50\,426.8 X$, $r=0.999\,2$ 。

3.5 专属性试验:取定性鉴别用的茵陈蒿空白对照液、番泻苷 A 对照品溶液、茵陈蒿汤颗粒供试品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件操作。结果表明茵陈蒿空白对照液在番泻苷 A 保留时间内无干扰峰出现(图 2)。

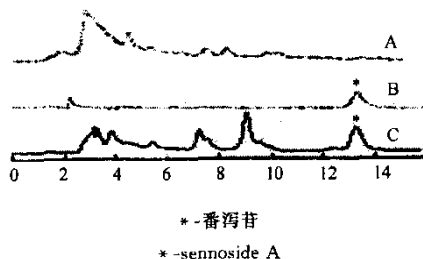


图 2 空白对照(A)、番泻苷 A 对照品(B)和茵陈蒿汤颗粒(C)的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of negative sample (A), sennoside A reference substance (B), and Yinchenhao Decoction Granula (C)

3.6 精密度试验:精密量取供试品溶液 10 μ L 注入液相色谱仪,连续进样 6 次,测定其峰面积,其 RSD 为 0.94%。

3.7 稳定性试验:精密量取供试品溶液 10 μ L 注入液相色谱仪,每隔 1 h 测定 1 次,共测定 5 次,番泻苷 A 峰面积 RSD 为 1.55%。

3.8 重现性试验:取 200401 批茵陈蒿汤颗粒粉末,精密称取 5 份,制备供试品溶液,进样测定,结果番

泻甘 A 的质量分数 RSD 为 1.88%。

3.9 回收率试验:精密称取已知番泻苷 A 质量分数的茵陈蒿汤颗粒剂粉末 1 g,分别准确加入番泻苷 A 对照品 2.38、2.97、3.57 mg,制备供试品溶液,进样测定,结果平均回收率为 98.20%,RSD 为 1.80%。

3.10 样品的测定:精密称取 3 批样品,制备供试品溶液。取供试品溶液和对照品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件进行分析,结果见表 1。

表 1 茵陈蒿汤颗粒剂中番泻苷 A 的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of sennoside A in Yinchenhao Decoction Granula ($n=3$)

样品号	番泻苷 A/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	RSD/%
200401	2.695	0.90
200402	2.934	1.38
200403	3.290	0.96

4 讨论

4.1 在药液中加入甲醇,主要目的是改善中药因胶体现象造成的滤过难问题。通过实验确定药液与甲醇体积比约 1:1 混合比较合适^[2]。

4.2 在薄层色谱鉴别中,各对照药材及空白对照的

提取物均与制剂的提取工艺相同,保证试验的平行性。

4.3 番泻苷 A 对照品不溶于水、乙醚和氯仿,难溶于甲醇和乙醇。在与水混合的有机溶液中,溶解度随水的比例增加而增大;溶剂中含水 30% 时达最高值。因其分子结构中含有一个酚羟基,在呈碱性的溶液中可提高其溶解度,故在配制番泻苷 A 对照品溶液时,加入少量氢氧化钠溶液,可使对照品溶液立即由浑浊变澄清。

4.4 该方剂作为治湿热黄疸第一药方,方中的大黄作为泻热逐瘀、通利大便之用,所以以具有泻下作用的番泻苷 A 作为该制剂中的质量指标性成分,除建立大黄定量测定方法外,另建立全部药味的定性方法。

References:

- [1] Pan J Q, Liu H C. Advance in research on pharmacology of Yinchenhao Decotion and *Artemisia capillaries* Thunb. [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19 (10): 46-47.
- [2] Zhou F, Li X. Determination of geniposide in the different decoctions of Yinchenhaotang by HPLC [J]. *Guizhou Sci* (贵州科学), 2002, 20 (3): 37-40.

RP-HPLC 法测定苦参总碱中苦参碱、氧化槐果碱和氧化苦参碱

向 柏¹, 孙英华¹, 张 媛¹, 耿革霞^{1,2}, 王 卓³, 何仲贵^{1*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 石家庄制药集团中诺药业, 河北 石家庄 050051;

3. 沈阳红旗制药有限公司, 辽宁 沈阳 110179)

苦参总碱是由豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的根中提取得到的总生物碱, 主要包括苦参碱、氧化槐果碱和氧化苦参碱。具有抗心律失常、增加冠脉流量、保护心肌缺血、增加心肌收缩力、调血脂、抗肝炎、抗肿瘤、防止白细胞减少、抗辐射、抗过敏、镇痛平喘、祛痰等作用^[1]。目前上市的制剂有心律宁片(苦参总碱片), 临床用作抗心律失常药。苦参总碱的测定方法多为酸碱回滴法。有报道薄层色谱法用于分析苦参总碱注射液中苦参碱、氧化槐果碱和氧化苦参碱^[2]。也有报道采取高效液相色谱法测定苦参类生物碱, 但没有使苦参总碱中 3 个主要成分同时实现良好分离^[3,4]。本实验建立了反相离子对高效液相色谱法, 用于控制苦参总碱中 3

种生物碱, 为以后药品标准修订提供参考。

1 仪器、试剂与药品

Hitachi L-7110 型输液泵, Hitachi L-7420 型紫外检测器, Anashtar 色谱数据处理系统。

甲醇、乙腈均为色谱纯。苦参总碱(牡丹江莲花湖制药有限责任公司), 苦参碱对照品(宁夏博尔泰力药业股份有限公司提供, 批号 2003-06, 质量分数为 99.62%), 氧化苦参碱对照品(宁夏博尔泰力药业股份有限公司提供, 批号 2004-02, 质量分数为 99.70%), 氧化槐果碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111652-200301)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性: 色谱柱: DiamonsilTM

收稿日期: 2005-02-17

作者简介: 向 柏, 男, 在读硕士, 主要从事药剂学研究。

* 通讯作者 何仲贵 Tel: (024) 23986321 E-mail: hezhgui@mail.sy.ln.cn