

HPLC 法测定香加皮提取物中杠柳毒苷和杠柳苷元

刘虹, 王萌, 杨虹, 潘桂湘, 郭俊华

(天津中医药大学中医药研究中心, 天津 300193)

香加皮又名北五加皮, 为萝藦科植物杠柳的干燥根皮, 具有祛风湿, 强筋骨的功效, 但具有一定毒性, 《中国药典》2005年版中注明“香加皮有毒, 服用不宜过量”。近年来, 香加皮常用于慢性充血性心力衰竭的治疗, 但是均未对香加皮进行合理的质量控制^[1~3]。杠柳毒苷为香加皮强心的主要成分, 在香加皮饮片中有较大差异, 最大可达8倍之多^[4]。中药提取物具有相对明确的药效物质基础以及严格的质量标准, 在质量控制及稳定性方面具有原生药材不可比拟的优越性。为了保障临床用药的安全有效, 含有香加皮的中药现代制剂很有必要以香加皮提取物的形式入药, 以便更好地规范香加皮的用药量。本实验针对香加皮提取物, 采用高效液相色谱法进行定量测定, 建立了以抗心衰为应用目的的香加皮提取物质量控制方法。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪: Waters 色谱系统(515 HPLC pump, 2487 Dual Absorbance Detector); 甲醇、乙腈(色谱纯); 水为超纯水(经 Millipore 纯水系统处理); 磷酸(分析纯)。

杠柳毒苷与杠柳苷元对照品为自制, 经 IR, NMR, MS, UV 鉴定, 质量分数>98%。香加皮药材购自安徽亳州永刚药材公司, 经天津中医学院中药系中药鉴定教研室张丽娟副教授鉴定, 香加皮提取物(自制)。

2 方法与结果

2.1 HPLC 色谱条件: 色谱柱: Hypersil ODS 2 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 杠柳毒苷所用流动相为乙腈-水(26:74), 杠柳苷元所用流动相为0.5%磷酸溶液-乙腈(26:74), 体积流量为1.0 mL/min, 检测波长为220 nm。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称定香加皮提取物50 mg 于10 mg 量瓶中, 加甲醇适量, 超声10 min 后定容, 滤过即得。

2.3 标准曲线的绘制: 分别精密称取杠柳毒苷、杠柳苷元对照品10.0 mg, 置于100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释成系列质量浓度的对照品溶液, 进样10 μL。以峰面积(Y)为纵坐标, 进样量(X)为横坐标进行线性回归, 杠柳毒苷回归方程为 $Y=1.25 \times 10^6 X + 2.03 \times 10^3$ ($r=0.9996$), 线性范围0.04~1.6 μg; 杠柳苷元回归方程为 $Y=2.45 \times 10^6 X + 1.26 \times 10^4$ ($r=0.9995$), 线性范围0.04~2.17 μg。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度的试验: 取供试品溶液重复进样6次, 测得杠柳毒苷的峰面积RSD为1.2%, 杠柳苷元的峰面积RSD为2.1%。

2.4.2 重现性试验: 取同一批号的香加皮提取物, 平行操作6份, 制备供试品溶液, 测得杠柳毒苷质量分数的RSD为1.6%, 杠柳苷元质量分数的RSD为2.4%。

2.4.3 稳定性试验: 取供试品在室温放置0、2、4、6、8 h 分别测定, 计算得杠柳毒苷的峰面积RSD为1.7%, 杠柳苷元的峰面积RSD为2.5%。表明在本实验条件下供试品溶液在8 h 内稳定。

2.4.4 回收率试验: 取含杠柳苷17.145 1 mg/g 和杠柳苷元1.826 6 mg/g 的香加皮提取物, 加入杠柳毒苷和杠柳苷元对照品各0.444 4 和0.093 mg, 制备供试品溶液, 按测定方法平行操作5份, 结果杠柳毒苷的平均回收率为99.4%, RSD为2.1%; 杠柳苷元的平均回收率为102.0%, RSD为1.5%。

2.5 样品的测定: 分别取3个批号的香加皮提取物50 mg, 精密称定, 制备供试品溶液, 测定结果见表1。色谱图见图1、2。

3 讨论

3.1 指标成分的选择: 指标成分是中药质量控制中定性的标尺, 是质量控制研究的关键。本课题组在研究中发现香加皮药材中所含杠柳毒苷在一定条件下会转化为杠柳苷元。因此, 本实验将杠柳毒苷和杠柳

收稿日期: 2005-11-12

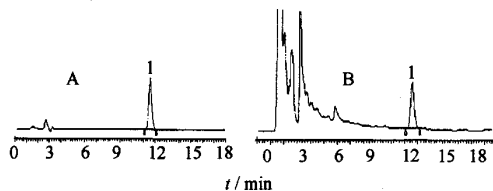
基金项目: 天津市高等学校科技发展基金项目(20050310); 天津市卫生局中医、中西医结合科研基金(2005072); 天津市科委应用基础研究计划项目(05YFJZJC01102)

作者简介: 刘虹(1967—), 女, 讲师, 研究方向为新药研发。Tel: (022) 23051114 E-mail: tjzyh@yahoo.com.cn

表 1 香加皮提取物中杠柳毒苷和杠柳苷元的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of periplocin and periplogenin in *Cortex Periplocae* extract ($n=3$)

批号	杠柳毒苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	杠柳苷元/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
040719	23.370 6	0.967 8
040804	21.567 8	1.212 7
040825	20.195 6	1.136 0



1-杠柳毒苷
1-periplocin

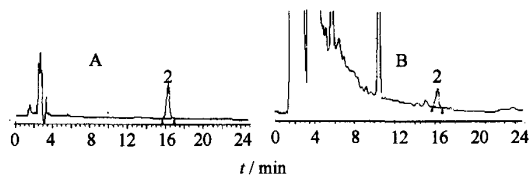
图 1 杠柳毒苷对照品(A)与香加皮提取物(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of periplocin reference substance (A), *Cortex Periplocae* extract (B)

苷元共同作为香加皮提取物的指标成分。

《中国药典》2005 年版中香加皮药材的测定采用 HPLC 法,以 4-甲氧基水杨醛为指标成分。但到目前为止并无关于其有强心作用的报道;而且,经过大孔树脂吸附纯化后,香加皮提取物中几乎没有 4-甲氧基水杨醛。因此将杠柳毒苷及杠柳苷元作为香加皮提取物的指标成分较为合适。

3.2 流动相的选择:流动相为乙腈-水(26:74)条



2-杠柳苷元
2-periplogenin

图 2 杠柳苷元对照品(A)与香加皮提取物(B)的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatograms of periplogenin reference substance (A) and *Cortex Periplocae* extract (B)

件下,主要成分杠柳毒苷与杠柳苷元与各杂质峰能达到较好的分离,但是杠柳苷元存在拖尾现象。水中加入 0.5% 磷酸溶液时,拖尾现象基本消失,故确定杠柳苷元色谱条件为乙腈-0.5% 磷酸(26:74)。

References:

- [1] Wang M, Jia Y P. Clinical research of Chinese medicine Compound Shenjia Tablets on CHF [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2005, 32 (2): 135.
- [2] Lu J B, Tian F H. Observation on 30 cases of CHF with Compound Shengmai Yin [J]. *Henan Med Info* (河南医药信息), 2003, 24 (1): 32.
- [3] 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.
- [4] Liu H, Pan G X, Gao X M, et al. Determination of periplocin in *Xiangjiapi* (*Periploca sepium* Bge.) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (5) 578.

《中国医药工业杂志》2007 年征订启事

《中国医药工业杂志》是由上海医药工业研究院和中国化学制药工业协会联合主办的全国性医药科技刊物。

本刊创刊于 1970 年,是“中国期刊方阵”入选期刊,继 1996、2000 年后,再次被确认入编 2004 年版《中文核心期刊要目总览》,是化工、药理学中文核心期刊,中国生物医学核心期刊,中国科技核心期刊和中国科学引文数据库来源期刊,曾获全国优秀科技期刊奖,上海市优秀科技期刊奖。多年来一直入选“CA 千刊表”,并位于全国医药期刊的前列,还被《中国生物学文摘》、《中国药理学文摘》、《中国化学文摘》、*Analytical Abstracts* (分析文摘)、*Biological Abstracts* (生物文摘)等中外数据库和文摘所收摘。设有化学合成药物、微生物药物与生物技术、中药与天然药物、药物制剂、药理与临床、药品分析与质控、制药装备与包装、药品管理规范、综述与专论、实验技术、药物合成路线图解、有机合成文摘、生物技术文摘、信息广场等。从 2006 年起,新增行业视点、药研动态和项目转让栏目。

本刊为月刊,每期 80 页,定价 12 元,全年 144 元。邮发代号:4-205。欢迎前往各地邮局订阅。错过邮局订阅时间的读者,请直接汇款至本刊编辑部,免收邮寄费。

地址:上海市北京西路 1320 号《中国医药工业杂志》编辑部(200040)

电话:(021)62793151 传真:(021)62890581 E-mail:cjph@pharmadl.com, cjph2005@163.com