

表 1 复方抗病毒喷雾剂中 3 个成分的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of three components in Compound Anti-virus Spray ($n=3$)

批号	莪术醇/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	牻牛儿酮/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	金丝桃素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	499.8	728.1	0.381 2
2	507.5	774.5	0.352 8
3	513.9	776.9	0.390 1

的上呼吸道感染的治疗,贯叶连翘提取物中的金丝桃素已被确证具有显著的抗禽流感病毒功效。笔者在抗病毒中药初步筛选中发现莪术油和贯叶连翘提取物具有较理想的抗病毒作用,二者合用抗病毒效力有加强的趋势。通过不同浓度的处方筛选,确定了二者配伍的最佳剂量,再辅以其他清热解毒类的中药组合成一种新的抗病毒喷雾剂。

对莪术油及其制剂的定量分析已有很多报道^[1,2]。《中国药典》2005 年版一部莪术油项下采用牻牛儿酮作为指标成分进行质量控制,但莪术油的抗病毒药效成分主要为莪术油,而且在实验中发现样品外观颜色变化时测得的牻牛儿酮的量变化不大,但莪术醇的量变化较为明显。如果单用牻牛儿酮

对样品进行质量控制难以有效控制产品的质量。因此在复方喷雾剂的质量控制上对二者均进行了定量分析,结果较为理想。

贯叶连翘提取物中金丝桃素是最具生物活性的物质,但量甚微,给定量检测带来了一定的难度。目前其定量测定方法有分光光度法、薄层扫描法和 HPLC-荧光检测法等^[3,4]。本实验建立的 HPLC-可见光检测法采用常规二极管检测器,简单快捷,具有一定的优势。

References:

- [1] Wu Y C, Liu T Y, Jiang L G, et al. Determination of the germacrone and curcumenol in Zedoary Turmeric Oil by RP-HPLC [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2004, 21 (4): 64.
- [2] You J, Yu Y W, Li Q P, et al. Determination of Zedoary turmeric oil microsphere [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 25.
- [3] Wen P H, Wang X L, Zhang Y N, et al. Determination of hypericin from *Hypericum perforatum* L. by TLC-Spectrophotometry [J]. *Appl Chem Ind* (应用化工), 2000, 29 (3): 30.
- [4] Liu W D. Summarizer of extractions and quantity assays about hypericin from *Hypericum perforatum* L. [J]. *Qilu Pharm Aff* (齐鲁药事), 2004, 23(3): 40.

HPLC 法测定三拗汤不同煎液中苦杏仁苷

杨 翀^{1,4}, 梁光义^{1,2*}, 周静宜¹, 徐必学¹, 柴 立³

(1. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002; 3. 贵州宏宇药业有限公司, 贵州 贵阳 550002; 4. 贵阳医学院, 贵州 贵阳 550004)

三拗汤原名还魂汤,出自张仲景《金匱要略》,由麻黄、杏仁、甘草 3 味中药组成,宣肺解表,主治感冒风邪,鼻塞声重,语音不出,咳嗽胸闷^[1]。分煎法与合煎法制备对中药复方汤剂有效成分和药理作用的影响一直是中医药理论和临床实践中值得探讨的课题,特别是近年来单味中药精制颗粒逐渐在临床上推广应用,更引起对这一课题研究的兴趣。本实验比较了三拗汤用合煎法与分煎法制得的汤剂中苦杏仁苷的差异,以探索中药复方汤剂不同制法对其有效成分溶出量的影响,对单味中药精制颗粒应用于临床提供依据。

1 仪器、药材与试剂

美国惠普 HP1100 型高效液相色谱仪, DAD 检

测器, HP1100/WIND3D 化学工作站, EYELA FDU-1100 冷冻干燥机。

草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf (河北)、杏仁 *Prunus armeniaca* L. (贵州)、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (内蒙古) 药材饮片经贵阳中医学院何顺志教授鉴定。

苦杏仁苷对照品(批号 820-200002, 中国药品生物制品检定所); 甲醇、乙腈(色谱纯); 水(重蒸水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (大连依利特科学仪器有限公司); 流动相: 甲醇-乙腈-水 (16 : 4 : 80); 体积流

收稿日期: 2006-08-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30460154)

作者简介: 杨翀 (1976—), 男, 四川人, 讲师, 硕士, 主要从事中药及复方化学成分研究及新药研制。

* 通讯作者 梁光义 Tel: (0851) 5652109 E-mail: guangyi_liang@21cn.com

量: 0.6 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 208 nm。色谱图见图 1。

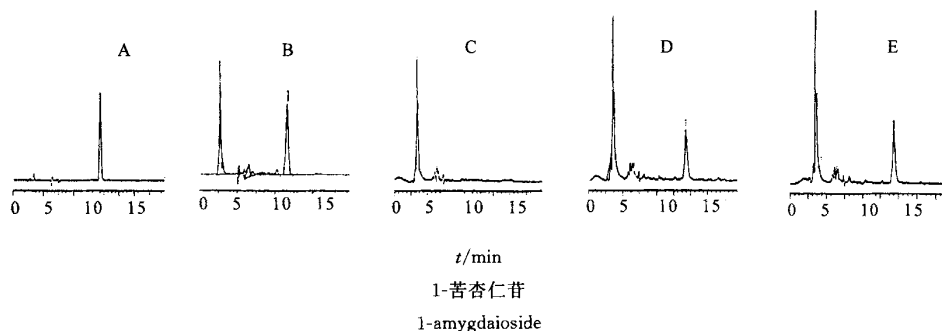


图 1 苦杏仁苷对照品(A)、苦杏仁(B)、阴性对照(C)、合煎液样品(D)和分煎液样品(E)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of amygdaioside reference substance (A), *P. armeniaca* (B), negative sample (C), mixed decoction (D), and separated decoctions (E)

2.2 溶液的制备

对照品溶液的制备: 精密称取苦杏仁苷对照品, 用甲醇溶解, 制成 0.216 mg/mL 的溶液, 备用。

合煎液供试品溶液的制备(传统煎煮法): 称取药材饮片, 麻黄 9.0 g、杏仁 9.0 g、甘草 3.0 g, 加 8 倍量的水浸泡 1 h, 煎煮保持微沸 1 h, 倒出煎液; 药渣再加 6 倍量的水煎煮 1 h, 合并两次煎液, 冷冻干燥成干粉。称取 0.2 g 干粉, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声提取 30 min, 超声后加甲醇至刻度, 摇匀, 取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 4 000 r/min 离心 5 min, 过 0.45 μm 滤膜, 滤液即为合煎液供试品溶液。

分煎液供试品溶液的制备(煎煮方法由贵州宏宇药业提供): 称取上述量的各药材, 杏仁和甘草依上法分别加水煎煮 2 次, 制备各药材的煎液, 冷冻干燥成干粉; 麻黄加 10 倍量的水浸泡 1 h, 煎煮保持微沸 40 min, 倒出煎液; 药渣再加 6 倍量的水煎煮 40 min, 合并两次煎液, 冷冻干燥成干粉。将各药材干粉混合均匀, 称取 0.2 g, 同上法制得分煎液供试品溶液。

阴性对照溶液的制备: 分别按上法制备不含杏仁的合煎液、分煎液的阴性对照溶液。

2.3 线性关系的考察: 精密吸取苦杏仁苷对照品溶液适量, 共 5 份, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇至刻度, 使质量浓度分别为 21.60、43.20、64.80、86.40、108.00 mg/L。精密吸取 5 μL 注入色谱仪, 测定峰面积。以峰面积积分值对进样量进行线性回归, 得回归方程 $A = 1\,849.432\,83\,C + 9.211$, $r = 0.999\,50$, 结果表明苦杏仁苷在 0.108~0.540 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 精密吸取苦杏仁苷对照品溶液 5 μL, 连续进样 5 次, 测定相应峰面积, 计算得其

RSD 为 1.10 %。

2.5 稳定性试验: 吸取同一批三拗汤供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8 h 进样 5 μL, 测定苦杏仁苷峰面积, 计算得其在合煎液的 RSD 为 2.08%, 分煎液的 RSD 为 2.77 %。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 分别取同一样品干粉各 5 份, 制备各供试品溶液, 进样测定, 计算得苦杏仁苷的平均质量分数为: 合煎液 12.845 mg/mL, RSD 为 0.648%, 分煎液 13.749 mg/mL, RSD 为 1.016%。

2.7 回收率试验: 精密称取合煎液样品干粉 9 份, 各约 0.100 g (其中含有苦杏仁苷约 6.4 mg), 分别加入 4.659、5.474、6.717 mg 苦杏仁苷对照品, 置 25 mL 量瓶中, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果平均回收率为 100.0%, RSD 为 1.4% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 取 3 批三拗汤样品制备供试品溶液, 依法进样, 测定, 按外标法计算, 结果见表 1。用不同方法制备的相同药材三拗汤的汤剂中, 苦杏仁苷的量合煎液小于分煎液。

表 1 三拗汤中苦杏仁苷的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of amygdaioside in San'ao Decoction ($n=3$)

编号	苦杏仁苷/(mg · g ⁻¹)			
	合煎液	RSD/%	分煎液	RSD/%
1	9.625	1.07	10.272	2.20
2	9.741	2.76	10.348	2.05
3	9.537	1.84	10.547	1.66

3 讨论

采用 HPLC 法测定中药复方制剂中的苦杏仁苷, 文献报道可用多种不同组成的流动相系统^[2,3], 本实验选择 Hypersil C₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-乙腈-水 (16:4:80) 为流动相, 苦杏仁苷在 11~12 min 出峰, 并与杂质峰能达

到基线分离。

苦杏仁苷的量合煎液小于分煎液可能是由于在煎煮过程中苦杏仁苷发生了水解,合煎比分煎更能促进苦杏仁苷的水解。

References:

[1] Duan F J. *Formula of Chinese Materia Medica* (方剂学)

[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1993.

[2] Pan H C, Qin W H. Determination of amygdalioside in *Semen Armeniacae Amarum* and *Semen Persicae* by HPLC [J]. *Digest World Latest Med Inf* (世界最新医学信息文献), 2004, 3 (5): 1321-1322.

[3] Wang Y L, Li H B, Hua Y Q. Content determination of amygdalin in *Semen Persicae* by HPLC [J]. *China Pharm* (中国药师), 2002, 5(9): 550, 556.

金莲花中总黄酮提取工艺的研究

苏志伟¹, 田鹤^{2*}, 马英丽², 苏连杰^{2**}

(1. 哈尔滨同一堂药业有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150025; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

金莲花 *Trollius chinensis* Bunge 系毛茛科多年生草本植物, 别名旱地莲、金芙蓉、早金莲、金疙瘩等, 分布于山西、河北、陕西、四川、云南、内蒙和东北等省区。金莲花以花入药, 有清热解毒、抗菌消炎作用, 民间用以治疗扁桃体炎, 急性中耳炎、急性结膜炎、急性淋巴管炎等。金莲花对绿脓杆菌、痢疾杆菌、金黄色葡萄球菌等均有明显的抑制作用。黄酮类成分是金莲花中的抗菌、抗病毒有效部位^[1]。为深入研究其药用价值, 提高其提取工艺的科学性和合理性, 本实验以总黄酮为指标, 采用正交试验法优选金莲花最佳乙醇提取工艺, 为生产及制剂提供依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 UV-260 自动扫描可见-紫外分光光度计, AB204-N 电子天平, 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所), 亚硝酸钠、氢氧化钠、硝酸铝、乙醇均为分析纯。

金莲花药材采自河北围场, 经笔者鉴定为金莲花 *T. chinensis* Bunge。

2 方法与结果

2.1 因素和水平的确定: 精称金莲花 25 g, 用乙醇提取, 根据单因素初筛试验结果, 分别确定乙醇体积分数(A)、提取次数(B)、提取时间(C)、乙醇倍量(D)为因素, 每个因素各取 3 个水平, 因素水平见表 1。

2.2 提取工艺操作: 精密称取金莲花 25 g, 用乙醇提取, 合并乙醇提取液, 回收乙醇至尽, 置于蒸发皿中水浴浓缩, 称定质量, 置 100 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 即得。

2.3 金莲花提取液中总黄酮的测定

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A/%	B/次	C/h	D/倍
1	50	1	1	6
2	65	2	2	8
3	80	3	3	10

2.3.1 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的芦丁对照品 20 mg 于 50 mL 量瓶中, 加甲醇少许, 温热使溶解, 放冷, 加甲醇至刻度。精密量取 25 mL 于 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得。

2.3.2 供试品溶液的制备: 精密称取金莲花提取液 4 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 60% 乙醇适量, 温热使溶解, 放冷, 加 60% 乙醇至刻度, 摇匀, 取 25 mL 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得, 备用。

2.3.3 标准曲线的制备: 精密吸取芦丁对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加适量甲醇, 摇匀, 先加 5% NaNO₂ 溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 10% Al(NO₃)₃ 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 再加 4% NaOH 10 mL, 用甲醇稀释至刻度, 放置 15 min, 用第一管作空白对照, 在 500 nm 处测定吸光度(A)。以吸光度 A 为纵坐标, 质量浓度(C)为横坐标, 绘制标准工作曲线, 其回归方程为: $C = 68.50 A + 0.693$, $r = 0.9999$ 。

2.3.4 精密度试验: 精密吸取同一芦丁对照品溶液 1 mL, 处理, 重复测定 6 次, 结果总黄酮的质量分数的 RSD 为 0.50%。

2.3.5 稳定性试验: 精密吸取金莲花提取液供试品溶液 1 mL, 每 0.5 h 测定 1 次吸光度, 共测定 5 次,

收稿日期: 2006-12-15

基金项目: 黑龙江省科委攻关项目(GOOC202302); 哈尔滨市科技攻关计划项目(2004AA3CS 170-1)

* 黑龙江中医药大学 2004 级硕士生

** 通讯作者 苏连杰 Tel: (0451) 88170044 E-mail: jimozeren@163.com

HPLC法测定三拗汤不同煎液中苦杏仁苷

作者：杨翀， 梁光义， 周静宜， 徐必学， 柴立

作者单位：杨翀(贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州, 贵阳, 550002; 贵阳医学院, 贵州, 贵阳, 550004), 梁光义(贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州, 贵阳, 550002; 贵阳中医学院, 贵州, 贵阳, 550002), 周静宜, 徐必学(贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州, 贵阳, 550002), 柴立(贵州宏宇药业有限公司, 贵州, 贵阳, 550002)

刊名：中草药 **ISTIC** **PKU**

英文刊名：CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS

年, 卷(期): 2007, 38(6)

被引用次数: 3次

参考文献(3条)

1. Duan F J 方剂学 1993
2. Pan H C; Qin W H Determination of amygdaioside in Semen Armeniacae Amarum and Semen Persicae by HPLC 2004(05)
3. Wang Y L; Li H B; Hua Y Q Content determination of amygdalin in Semen Persicae by HPLC[期刊论文]-中国药师 2002(09)

本文读者也读过(10条)

1. 熊建华. 刘仲华. 黄建安. 王克勤. XIONG Jian-hua. LIU Zhong-hua. HUANG Jian-an. WANG Ke-qin 巴拉圭茶多酚大孔吸附树脂分离工艺及总多酚、多酚流分的抑菌作用研究[期刊论文]-江西农业大学学报2007, 29(4)
2. 杜志云. 潘文龙. 毛学圃. 黄宝华. 黄仲立. 方岩雄. 张坤. 马林. DU Zhi-yun. PAN Wen-long. MAO Xue-pu. HUANG Bao-hua. HUANG Zhong-li. FANG Yan-xiong. ZHANG Kun. MA Lin 应用壳核纳米微球固定乙醇脱氢酶联用 HPLC对抑制剂筛选[期刊论文]-分析测试学报2007, 26(4)
3. 殷岳会 中药方剂的配伍研究[期刊论文]-中医药导报2008, 14(6)
4. 章小丽. 余正文. 郭芳琴. 杨小生. 郝小江 大驳骨化学成分研究[期刊论文]-天然产物研究与开发2004, 16(2)
5. 杨小生. 汪治. 朱海燕. 杨柳依. 郝小江. Yang Xiaosheng. Wang Ye. Zhu Haiyan. Yang Liuyi. Hao Xiaojiang β -芳基烯酰胺化合物的新合成方法[期刊论文]-化学通报 (印刷版) 2007, 70(6)
6. 谢承恩. 丁金龙. 刘虹 高效液相色谱——串联质谱法检测抗流感中药方剂中化合物的研究[期刊论文]-广东科技 2009(14)
7. 崔立杰 天然产物中常量及微量成分的质谱分析方法研究[学位论文]2004
8. 张洁. 段继诚. 梁振. 张维冰. 张丽华. 霍玉书. 张玉奎. ZHANG Jie. DUAN Ji-cheng. LIANG Zhen. ZHANG Wei-bing. ZHANG Li-hua. HUO Yu-shu. Zhang Yu-kui 东北红豆杉及其伤愈组织粗提取物中紫杉醇的HPLC-ESI-MS/MS分析研究[期刊论文]-药学报2006, 41(9)
9. 张建云. 李志国. 夏定久. 包松链. 罗香. 杨时宇. ZHANG Jian-yun. LI Zhi-guo. XIA Ding-jiu. BAO Song-lian. LUO Xiang. YANG Shi-yu 塔拉单宁和塔拉多糖研究现状[期刊论文]-天然产物研究与开发2009, 21(1)
10. 湛雪辉. 周随安. 龚福春. 李飞. 曹芬. 李侠. ZHAN Xue-hui. ZHOU Sui-an. GONG Fu-chun. LI Fei. CAO Fen. LI Xia 基于对羟基桂皮醇的新型酶联荧光免疫传感系统测定布氏杆菌抗体[期刊论文]-中南大学学报 (自然科学版) 2010, 41(3)

引证文献(3条)

1. 何俊. 廖茂梁. 郝子博. 张铁军 配伍对三拗汤煎液中5种成分煎出量及指纹图谱的影响[期刊论文]-时珍国医国药 2011(1)
2. 何俊. 廖茂梁. 刘昌孝. 郝子博. 张铁军 配伍对三拗汤煎液中苦杏仁苷煎出量的影响[期刊论文]-中成药 2011(1)

3. [杨启悦](#). [龙飞](#). [欧水平](#) [浅谈经方三拗汤饮片炮制与临床辨证应用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2011(8)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706020.aspx