

一份加入芍药苷 587.95 μg 和丹皮酚 699.3 μg , 重复试验 3 次。进样测定, 计算得芍药苷和丹皮酚平均回收率分别为 98.18%、99.33%, RSD 分别为 0.63%、0.91%。

2.10 样品测定: 取桂附地黄丸样品 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 按外标法计算芍药苷和丹皮酚的质量分数, 分别为 0.99、1.16 mg/g, RSD 为 1.59%、2.70%。

3 讨论

桂附地黄丸制备供试品溶液后所剩残渣用 10 mL 甲醇超声提取 15 min, 定容至 50 mL 并进样分

析, 结果没有发现芍药苷和丹皮酚色谱峰, 证明本实验采用的方法可以将桂附地黄丸中的芍药苷和丹皮酚提取完全。

芍药苷和丹皮酚在 240 nm 处都有较大吸收, 因此本实验采用 240 nm 为检测波长。

本实验还考察了甲醇-水、乙腈-水系统对桂附地黄丸中芍药苷和丹皮酚分离的影响, 结果由于该复方所含化学成分复杂, 杂质对目标物测定干扰严重, 经优化最后确定本实验采用的乙腈-水系统梯度洗脱。在该条件下, 供试品溶液中芍药苷和丹皮酚可达到基线分离。

RP-HPLC 法测定知母黄柏药对中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱

易 博^{1,3}, 孙 赫^{1,3}, 原 源³, 孙连娜^{1,3}, 陈万生^{2,3*}

(1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 第二军医大学附属长征医院药学部, 上海 200003;

3. 第二军医大学现代中药研究中心, 上海 200433)

知母与黄柏是临床常用药材, 等量伍用, 相互促进。滋阴、清热退烧、泻火解毒、除湿益彰, 出自李东垣《兰室秘藏》, 在经典方剂滋肾通关丸、知柏地黄丸、大补阴丸、杜仲丸、太极丸、参归益元汤、虎潜丸、保真汤、神龟滋阴丸、正气汤等多有体现。芒果苷是知母清热作用的主要有效成分, 同时具有抗炎、抗病毒、抗氧化、利尿、预防肥胖等作用^[1~4]。知母中含有另一种新双苯吡酮类化合物新芒果苷^[5]。黄柏中的盐酸小檗碱既是该药材的指标成分又是活性成分^[6]。本实验通过优化色谱条件和样品处理方法可以同时快速、准确测定知母黄柏药对中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱。

1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪, 510 泵, PDA 检测器, Empower Pro 色谱工作站。

新芒果苷、芒果苷为自制, HPLC 色谱鉴定质量分数均大于 99.1%, 盐酸小檗碱 (批号 110713-200208) 购自中国药品生物制品检定所, 磷酸二氢钾 (分析纯)、乙腈 (色谱纯)、双蒸水, 不同批次知母、黄柏药材均购自安徽亳州药材市场, 由第二军医大学长征医院药学部陈万生副教授鉴定, 分别为百合科

植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 的根茎、芸香科植物黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的干燥树皮 (即关黄柏); 知母黄柏药对为知母与黄柏药材粉末按 1:1 的配比自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 反相柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈 (A)-33 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液 (pH 3.45) (B), 采用梯度洗脱, 0~14 min, 8%A, 14~15 min, 20%A, 15~35 min, 30%A, 35 min 以后, 35%A; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 265 nm。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取新芒果苷对照品 5.00 mg、盐酸小檗碱对照品 9.98 mg, 分别置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇-水 (9:1) 溶解并加至刻度, 即得 1 mg/mL 新芒果苷和 2 mg/mL 盐酸小檗碱对照品溶液。

精密称取芒果苷对照品 10.00 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇-二氧六环-水 (5:5:1) 溶解并加至刻度, 即得 2 mg/mL 芒果苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 取知母药材、黄柏药材和知母黄柏药对粉末各 50 mg, 精密称定, 分别置 10 mL

收稿日期: 2006-09-11

作者简介: 易 博 (1978—), 男, 湖南省湘阴县人, 药师, 硕士研究生, 2001 年毕业于第二军医大学药学专业, 工作于解放军第 187 中心医院药剂科, 2004 年攻读第二军医大学生药学硕士学位, 主要从事中药材品质评价和药用植物的种质资源改良。

Tel: (021) 25074402 E-mail: yibo@smmu.edu.cn

* 通讯作者 陈万生 E-mail: chenws@vnet.citiz.net

量瓶中,加 90%甲醇超声处理 20 min,滤过,取续滤液 5 mL 置 50 mL 量瓶中,加 90%甲醇至刻度,作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察:精密量取新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱对照品溶液各 0.5 mL,置 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,得到 3 种对照品的混合原液(含新芒果苷 0.250 mg/mL、芒果苷 0.500 mg/mL、盐酸小檗碱 0.500 mg/mL)。将混合原液按 2、4、8、20、40 倍稀释,分别取 20 μ L 注入高效液相色谱仪,测定。以峰面积为横坐标,质量浓度为纵坐标,得回归方程和线性范围。新芒果苷: $Y=5\times10^{-8}X-0.0011$, $r=0.9999$,线性范围 6.25~250 μ g/mL;芒果苷: $Y=2\times10^{-8}X+0.0024$, $r=0.9996$,线性范围 12.5~500 μ g/mL;盐酸小檗碱: $Y=1\times10^{-8}X-0.0045$, $r=0.9996$,线性范围 12.5~500 μ g/mL。

2.5 精密度试验:取 0.250、0.500、0.500 mg/mL 新芒果苷、芒果苷、盐酸小檗碱对照品溶液连续进样 5 次,分别测定峰面积,计算得新芒果苷、芒果苷、盐酸小檗碱的峰面积 RSD 分别为 1.51%、1.23%、1.21%。

2.6 重现性试验:取同一批(批号 051220)知母黄柏药对粉末 6 份,制备成供试品溶液,进样测定,计算新芒果苷、芒果苷、盐酸小檗碱的质量分数,结果其 RSD 分别为 1.86%、1.65%、1.91%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液(批号 051220)每隔 2 h 进样测定 1 次,共进样 5 次,测定峰面积,计算得新芒果苷、芒果苷、盐酸小檗碱的 RSD 分别为 1.42%、1.08%、1.75%。结果表明供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.8 最低检测限度考察:取新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱对照品溶液以不同比例稀释后测定,以信号大于噪声的 2~3 倍为最低检出,结果新芒果苷、

芒果苷和盐酸小檗碱的最低检测限分别为 2.00、1.00、2.67 ng。

2.9 加样回收率试验:精密称取 5 份知母黄柏药对粉末(批号 051220)25 mg,分别加入 0.5 mL 0.250 mg/mL 新芒果苷、0.500 mg/mL 芒果苷、0.500 mg/mL 盐酸小檗碱对照品溶液,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果新芒果苷平均回收率为 101.1%,RSD 为 1.71%;芒果苷平均回收率 102.6%,RSD 为 1.09%;盐酸小檗碱平均回收率 98.7%;RSD 为 1.56%。

2.10 样品测定:分别精密称取知母药材、黄柏药材、知母黄柏药对粉末各 3 份,制备供试品溶液,进样测定,根据标准曲线的回归方程计算样品中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱的质量分数,色谱图见图 1,结果见表 1。

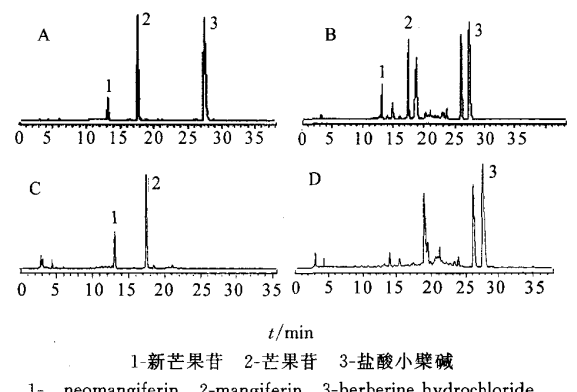


图 1 混合对照品(A)、知母黄柏药材(B)、知母药材(C)和黄柏药材(D)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), *Rhizoma Anemarrhenae* and *Cortex Phellodendri Chinensis* (B), *Rhizoma Anemarrhenae* (C), and *Cortex Phellodendri Chinensis* (D)

表 1 样品中有效成分的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of active components in samples (n=3)

样 品	批 号	新芒果苷/%		芒果苷/%		盐酸小檗碱/%	
		质量分数	RSD	质量分数	RSD	质量分数	RSD
知母药材	051218	1.48	1.11	0.88	1.86		
	051220	1.36	1.54	0.81	0.91		
黄柏药材	051218					0.68	1.32
	051220					0.63	1.25
知母黄柏药对	051218	0.89	1.68	0.63	1.91	0.35	1.77
	051220	0.78	0.46	0.61	1.60	0.33	0.81

3 讨论

采用不同溶剂(甲醇、乙醇、水)和不同的超声时间进行样品的处理。结果显示,甲醇水溶液对盐酸小檗碱的提取效率较高,对新芒果苷和芒果苷的提取效率与乙醇水溶液相当,乙醇溶液提取大分子成分

较多,滤过较困难。超声时间取 10、15、20、25 min 进行考察,发现 3 种活性化合物在超声 10~15 min 溶出提高较快,15~20 min 溶出趋缓,20 min 以后基本不变。实验采用 20 min 甲醇水溶液超声处理,超声前浸泡有利于提取效率的增高。

流动相比较了采用乙腈分别与磷酸盐缓冲液、水、酸水的组合,发现以磷酸盐缓冲液与乙腈的组合相邻峰的分离度好,缓冲溶液 pH 值稳定,出峰的重现性好。采用梯度洗脱,保留时间恰当,分离效果理想。265 nm 波长检测,待测成分吸收强,能运用于更广泛范围的包含知母黄柏药对方剂的质量检测。

测定结果显示,用商品药材自制不同批次药对之间新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱的量存在一定的差异,主要与商品药材的质量差异、干燥程度相关。但从不同批次的药对提取与单味药材提取来看,两药材按 1:1 组合成药对用甲醇水溶液提取能一定程度促进新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱的析出,特别能增加芒果苷的提取率。提示知母黄柏药对临床应用不仅有其中医理论的基础,在化学物质有效成分的溶出上也有相互促进的作用,为更深入的研究药理配伍机制提供数据。

References:

- [1] Yoosook C, Bunyaphrathasara N, Boonyakiat Y, et al. Anti-herpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants [J]. *Phytomedicine*, 2000, 6(6): 411-419.
- [2] Yoshikawa M, Shimoda H, Nishida N, et al. *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats [J]. *J Nutr*, 2002, 132(7): 1819-1824.
- [3] Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, et al. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats [J]. *Toxicology*, 2002, 176(3): 165-173.
- [4] Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2001, 78(2-3): 133-137.
- [5] Hong Y H, Han G Y, Guo X M. Isolation and structure determination of xanthone glucosides of *Anemarrhena asphodeloides* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(6): 473-475.
- [6] Zheng H Y, Xu W R. Development of study on berberine's pharmacologic actions [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(6): 708-711.

RP-HPLC 法测定桑叶中 N-甲基-1-脱氧野尻霉素

孙 红,车庆明*,孟繁敏

(北京大学药学院,北京 100083)

桑叶是桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,性寒,味甘、苦,归肺、肝经。桑叶始载于《神农本草经》。《本草纲目》记载:“桑叶乃手足阳明之药,汁煎代茗,能止消渴,明目长发”。桑叶中的多糖、生物碱、黄酮、氨基酸等有不同程度的降糖作用,其中生物碱为主要降糖活性成分^[1,2]。Asano 等^[3]从桑叶中分离出 6 种氮杂糖类生物碱,并确定其结构;Kimura 等^[4]观察了以上 6 种生物碱对链脲佐菌素引起的糖尿病小鼠的降糖作用,结果 N-甲基-1-脱氧野尻霉素、GAL-DNJ、fagomnine 可显著降低血糖。桑叶为《中国药典》2005 年版品种之一,全国各地分布广泛,为保证药用桑叶质量,有效成分的监测十分重要。对桑叶中生物碱类成分的测定研究有文献报道采用高效液相-柱前衍生化荧光检测法^[5]和高效液相-蒸发光散射检测法^[6]测定桑叶中 1-脱氧野尻霉素。本实验采用 HPLC 法测定桑叶中 N-甲基-1-脱氧野尻霉素,结果表明该法稳定、重现性好,回收率

高,是检测 N-甲基-1-脱氧野尻霉素的有效方法。

1 实验材料

岛津 SPD-10A 型高效液相色谱仪;LC-10AD 紫外检测器;CBM-10A 泵;KQ-500 DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

桑叶产于河北、湖南、浙江、安徽,分别购自北京各大药房,经北京大学药学院艾铁民教授鉴定为桑 *M. alba* L. 的干燥叶;N-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品为本实验室自制,经¹H-NMR 和¹³C-NMR 鉴定结构,与文献报道^[7]一致,质量分数为 98%以上。

乙腈为色谱级,磷酸二氢钠和磷酸氢二钠为分析级,732 型阳离子交换树脂和 704 型阴离子交换树脂(上海树脂厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Prontosil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:pH 8.5 的磷酸盐缓冲液-

收稿日期:2006-03-14

作者简介:孙红(1978—),女,黑龙江人,北京大学医学部硕士研究生,研究方向为中药活性成分的定量分析。

E-mail:mdjredsuns@126.com

*通讯作者 车庆明 Tel:(010)82802468 E-mail:cheqingming2003@sina.com

RP-HPLC法测定知母黄柏药对中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗

碱

作者：[易博](#), [孙赫](#), [原源](#), [孙连娜](#), [陈万生](#)
作者单位：[易博, 孙赫, 孙连娜\(第二军医大学药学院, 上海, 200433; 第二军医大学现代中药研究中心, 上海, 200433\)](#), [原源\(第二军医大学现代中药研究中心, 上海, 200433\)](#), [陈万生\(第二军医大学附属长征医院药学部, 上海, 200003; 第二军医大学现代中药研究中心, 上海, 200433\)](#)
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(6条)

1. [Yoosook C;Bunyapraphatsara N;Boonyakiat Y](#) [Antiherpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants](#) 2000(06)
2. [Yoshikawa M;Shimoda H;Nishida N](#) [Salacia reticulata and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats](#)[外文期刊] 2002(07)
3. [Muruganandan S;Gupta S;Kataria M](#) [Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats](#)[外文期刊] 2002(03)
4. [Makare N;Bodhankar S;Rangari V](#) [Immunomodulatory activity of alcoholic extract of Mangifera indica L. in mice](#)[外文期刊] 2001(2-3)
5. [Hong Y H;Han G Y;Guo X M](#) [Isolation and structure determination of xanthone glucosides of Anemarrhena asphodeloides](#) 1997(06)
6. [Zheng H Y;Xu W R](#) [Development of study on berberine's pharmacologic actions](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004(06)

本文读者也读过(10条)

1. [李玉娟](#), [毕开顺](#) [RP-HPLC测定酸枣仁汤中芒果苷和甘草酸的含量](#)[期刊论文]-[中成药](#)2004, 26(10)
2. [彭颖](#) [高效液相色谱法测定知母配方颗粒中芒果苷的含量](#)[期刊论文]-[中国实用医药](#)2007, 2(22)
3. [冯旭](#), [邓家刚](#), [覃洁萍](#), [席加喜](#), [钟伟东](#), [王胜波](#), [FENG Xu](#), [DENG Jia-gang](#), [QIN Jie-ping](#), [XI Jia-xi](#), [ZHONG Wei-dong](#), [WANG Sheng-bo](#) [芒果苷原料药中杂质高芒果苷的含量测定](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2008, 19(6)
4. [翟红莉](#), [孙连娜](#), [来威](#), [余晓静](#), [陈万生](#), [ZHAI Hong-Li](#), [SUN Lian-Na](#), [LAI Wei](#), [YU Xiao-Jing](#), [CHEN Wan-Sheng](#) [HPLC法测定知母药材及其相关制剂中芒果苷和新芒果苷的含量](#)[期刊论文]-[解放军药学报](#)2007, 23(6)
5. [丁凤娟](#), [朱雯](#), [于莹](#), [王世盛](#), [朱靖博](#), [DING Feng-juan](#), [ZHU Wen](#), [YU Ying](#), [WANG Shi-sheng](#), [ZHU Jing-bo](#) [HPLC分析四种獐牙菜中芒果苷的质量分数](#)[期刊论文]-[大连工业大学学报](#)2009, 28(6)
6. [王建军](#), [娄子洋](#), [吴玉田](#) [RP-HPLC同时测定知母中芒果苷和新芒果苷含量](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2004, 39(9)
7. [谭生建](#), [魏萍](#), [刘刚](#), [吴敏](#), [薛克昌](#) [HPLC测定黄柏石膏散中盐酸巴马丁和盐酸小檗碱含量](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2004, 39(7)
8. [杨潇](#), [芮光伟](#), [廖娟](#), [YANG Xiao](#), [RUI Guang-wei](#), [LIAO Juan](#) [HPLC法测定知母中芒果苷的含量](#)[期刊论文]-[西华大学学报\(自然科学版\)](#) 2009, 28(2)
9. [沈中琴](#), [Shen Zhongqin](#) [HPLC法测定不同产地知母中芒果苷的含量](#)[期刊论文]-[中医研究](#)2007, 20(1)
10. [邓家刚](#), [郑作文](#), [杨柯](#) [芒果苷对内毒素致热家兔体温的影响](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#)2006, 12(2)

引证文献(3条)

1. [何梅凤](#), [吴伟](#), [唐细兰](#), [陈雷宇](#), [陈茂玲](#) [HPLC法同时测定知柏八味口服液中芒果苷、盐酸小檗碱和丹皮酚](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2012(9)
2. [叶雪兰](#), [高英](#), [李卫民](#), [黄江剑](#) [HPLC-UV-ELSD同时测定知母黄柏药对提取物中盐酸小檗碱、黄柏碱、知母皂苷BII](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2011(8)
3. [洪森荣](#), [尹明华](#) [知母组织培养的初步研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706025.aspx