

HPLC 法测定番泻叶中番泻苷 A 和番泻苷 B

何结伟^{1,2}, 何明珍^{1,2}, 胡子帆^{1,2}, 何军伟³, 王跃生¹, 杨世林^{1*}

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006;

3. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208)

番泻叶为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 或尖叶番泻 *Cassia acutifolia* Delile 的干燥叶, 收载于《中国药典》2005 年版一部^[1], 用于热结积滞、便秘腹痛、水肿胀满的治疗, 是临床上最常用的泻下药之一。其中狭叶番泻主要含番泻苷 A、B、C、D 等; 尖叶番泻主要含番泻苷 A、B、C 等。据文献报道, 这些成分具有抗菌、致泻、止血、肌肉松弛与解痉等多种作用。测定番泻叶中番泻苷 A (sennoside A)、番泻苷 B (sennoside B) 的方法有分光光度法、薄层扫描法^[2]、高效毛细管电泳法^[3]、毛细管区带电泳法^[4]。2005 年版《中国药典》采用紫外分光光度法测定总番泻苷^[1], 前几种测定方法操作流程长且操作较为繁琐, 条件较苛刻。本试验通过 HPLC 同时测定番泻叶中番泻苷 A 和番泻苷 B 的量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型液相色谱仪, VWD 检测器, 含在线真空脱气机, 四元梯度泵、柱温箱; 色谱数据的采集与处理由 Agilent 化学工作站完成; 超声波清洗仪。甲醇为色谱纯; 磷酸为分析纯; 水为超纯水。番泻苷 A 和番泻苷 B 对照品自制, 经面积归一法测定质量分数达 99% 以上。番泻叶购于安徽亳州药材市场, 经江西中医学院龚千锋教授鉴定为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil ODS C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5% 磷酸溶液 (40:60); 检测波长: 340 nm; 柱温为 25 °C; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。理论塔板数以番泻苷 B 计不低于 3 000, 且番泻苷 A、B 峰与其相邻峰分离度不少于 2。色图谱见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 称取经真空干燥 12 h 的番泻苷 A 与番泻苷 B 对照品适量, 精密称定, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加 50% 甲醇溶解, 并定容至刻度,

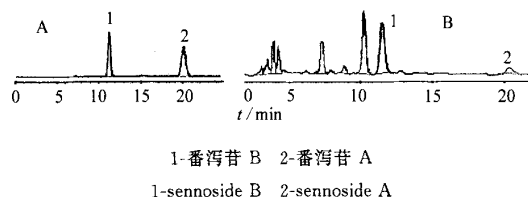


图 1 番泻苷 A、B 对照品 (A) 和番泻叶提取液 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of sennosides A and B reference substances (A) and extract of senna (B)

配制成含番泻苷 A 1.51 mg/mL 和番泻苷 B 1.18 mg/mL 的混合溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取干燥药材粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 30 mL, 称质量, 超声处理 30 min (控制温度在 40 °C 以下), 放冷称质量, 用 50% 甲醇补足减失质量, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL 于 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇定容, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4 线性关系的考察: 精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5 mL 于 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇定容至刻度, 配制不同浓度的对照品溶液。依次取 10 μL 进样, 以进样质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 番泻苷 A 和番泻苷 B 分别在 0.110~1.014 μg 和 0.106~1.218 μg 与峰面积有良好的线性关系, 番泻苷 A 和番泻苷 B 的线性方程分别为: $Y_A = 3476.7 X + 48.41$ ($r_A = 0.9998$) 和 $Y_B = 6124.1 X - 73.30$ ($r_B = 0.9996$)。

2.5 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 测定峰面积, 结果番泻苷 A 和番泻苷 B 峰面积的 RSD 分别为 1.26% 和 1.17%, 结果表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别于 2、4、6、8、10、12 h 进样 10 μL 进行测定, 结果番泻苷 A 和番泻苷 B 的 RSD 分别为 1.97% 和 1.89%, 表

收稿日期: 2006-10-15

作者简介: 何结伟 (1981—), 男, 硕士研究生, 主要从事天然产物化学研究与中药质量标准及中药新药研究。

* 通讯作者 杨世林 Tel: (0791) 7119632 E-mail: hejw12@163.com

明番泻苷 A 和番泻苷 B 在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批样品共 5 份,每份约 0.5 g,精密称定,按“供试品溶液的制备”项下方法制备,进样测定,测定峰面积。结果番泻苷 A 和番泻苷 B 质量分数的 RSD 分别为 1.21% 和 1.58%,结果表明该条件重现性好。

2.8 加样回收率试验:取干燥药材粉末(1号药材)约 0.25 g,共 6 份,精密称定,分别加入 80%、100%、120% 的对照品番泻苷 A 和番泻苷 B,按照“供试品溶液的制备”项下方法制备,进样测定,计算回收率。结果番泻苷 A 的平均加样回收率为 98.09%,RSD=1.25%,番泻苷 B 的平均加样回收率为 98.50%,RSD=1.78%。

2.9 样品测定:取 10 批药材粉末各约 0.5 g,精密称定,按照上述“2.1”项下色谱条件测定。测定结果见表 1。

表 1 10 批药材测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of ten batches of senna ($n=2$)

药材编号	番泻苷 A/%	番泻苷 B/%	总量/%
1	0.466	2.141	2.607
2	0.502	1.913	2.415
3	0.399	2.112	2.511
4	0.553	1.913	2.466
5	0.598	1.876	2.474
6	0.455	1.926	2.381
7	0.497	2.011	2.508
8	0.410	2.189	2.599
9	0.467	1.963	2.430
10	0.398	1.941	2.339

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择:本次试验采用了 95% EtOH, 70% EtOH, 50% EtOH, 50% MeOH, 1% NaHCO₃ 等作为提取溶剂进行超声提取。结果表明:50% MeOH 和 1% NaHCO₃ 提取效果最佳,但考虑到选择的流动相为甲醇-磷酸系统,且考虑到番泻苷 A、B 在碱性条件下容易水解,所以最终选择 50% MeOH 作为提取溶剂。

3.2 检测波长的选择:通过 UV 扫描,番泻苷 A 和番泻苷 B 在 340 nm 及 279 nm 有最大吸收,但由于在 279 nm 处容易产生干扰,所以选择了 340 nm 作为本次试验的检测波长。

3.3 流动相的选择:曾试用乙腈-水,乙腈-1% 冰醋酸,乙腈-1% 磷酸,甲醇-水,甲醇-1% 冰醋酸,甲醇-0.5% 磷酸系统为流动相,同时考察了系统的不同比例(10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50),结果以甲醇-0.5% 磷酸(40:60)系统分离效果最佳。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Xiong Y, Zhang Q M, Xiang F J, et al. Study on the improvement of the technology of Tongbianling Capsula [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 8.
- [3] Shi S M, Zhang Q S, Wang B S. Determination of sennoside A in senna by HPCE [J]. *Chin Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22(1): 24-26.
- [4] Wei W, Wang Y M, Luo G A. Applications of high performance capillary electrophoresis in constituents analysis of Chinese traditional medicine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(6): 476.

欢迎订阅《中草药》杂志 2001—2006 年增刊

为了扩大学术交流,提高新药研究水平,经国家科技部同意,我部从 1996 年起,每年出版增刊一册。

2001 年第 32 卷增刊 特邀了中国工程院院士、专家就加快中药现代化的进程,我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章。共刊载论文 140 多篇。

2002 年第 33 卷增刊 以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容,刊载论文 107 篇。

2003 年第 34 卷增刊 包括中药创新药物开发的思路和方法;中药现代化研究;有关中药知识产权保护和中药专利的申请等内容,共刊载论文 176 篇。

2004 年第 35 卷增刊 以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容,共刊载论文 120 篇。

2005 年第 36 卷增刊 以中药现代化和中药走向国际等热点为主要内容,共刊载论文 150 余篇。

2006 年第 37 卷增刊 以药理会议专栏及中药现代化和国际化,包括药材资源种植和可持续利用、提取工艺技术、质量控制、疗效评价、中药理论和中药产业管理现代化等方面内容,共刊载论文 135 篇,摘要 88 篇。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强,欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行,邮局订阅《中草药》不含增刊,但能提供订阅凭证者,购买增刊 7 折优惠,款到寄刊。