

连结,采用纤维素酶可酶解破坏 β -D-葡萄糖键,使植物细胞壁破坏,增加了有效成分的溶出率^[5]。纤维素酶作为一种蛋白质,其酶解效果受酶解温度、pH值、底物浓度、激动剂、抑制剂等多种因素的影响,因此提示在将纤维素酶用于其他中药材提取和工业化生产中,应综合考虑这些因素的影响。

References:

- [1] Yu X L, Ji H, Wang C L, et al. Research on pharmacology of *Bulbus fritillaria* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(4): 313-315.
- [2] Wang C Z, Li P. Research on determination of alkaloid and gluco-alkaloid in *Bulbus fritillaria* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38(6): 415-418.
- [3] Dai G Y, Liu Z H. Studies on the effect on the quantities of alkaloids of *Bulbus fritillaria thunbergii* in different Menstruum [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12(9): 779-780.
- [4] Xin W, Zhao Q. Comparison of the contents of alkaloid in *Bulbus fritillaria* from different places [J]. *J Hebei Med Univ* (河北医科大学学报), 1998, 19(5): 305-306.
- [5] Ma T T. Primary study on the extraction of traditional Chinese medicine using cellulase [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(3): 123.

和胃饮合剂中橙皮苷和厚朴酚的 HPLC 测定

林华清¹, 李楠^{1*}, 韩国柱², 白长川³

(1. 大连理工大学, 辽宁 大连 116023; 2. 大连医科大学, 辽宁 大连 116027; 3. 大连长川中医药研究中心有限公司, 辽宁 大连 116021)

和胃饮合剂由党参、白术、陈皮、厚朴等10味中药组成,补泄兼施,辛散消痞,益气健脾、和胃降逆,主治功能性消化不良,疗效显著。陈皮、厚朴为本方的主药,其活性成分为橙皮苷和厚朴酚。因此本实验参考文献报道^[1,2]采用HPLC法建立了在同一色谱条件下同时检测和胃饮合剂中橙皮苷、厚朴酚的测定方法,方法简单易行、快捷、重现性好。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪, 津腾公司 0.45 μ m 微孔过滤膜。

橙皮苷、厚朴酚对照品购自中国药品生物制品检验所, 甲醇、醋酸为色谱纯, 和胃饮合剂以及相关药材由大连长川中医药研究中心有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精确称取橙皮苷对照品 10.3 mg、厚朴酚对照品 10.8 mg, 用甲醇配制成 0.412 mg/mL 橙皮苷对照品溶液, 2.16 mg/mL 厚朴酚对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备: 准确量取 5 mL 和胃饮合剂, 水浴蒸干, 加入 2 mL 石油醚洗涤残渣, 以滤纸吸干(保留滤纸), 洗涤 3 次。待石油醚挥干, 以甲醇洗涤残渣, 并淋洗滤纸, 定容至 25 mL, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 再以 ODS 前柱滤过, 备用。

2.3 阴性对照溶液的制备: 按处方取除陈皮、厚朴两味药材之外的 8 味药材, 按和胃饮合剂原工艺制备阴性对照样品, 并按照供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.4 色谱条件: 分析柱: Hypersil C₁₈ 柱 (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-1% 醋酸溶液, 线性梯度洗脱, 0~30 min, 甲醇 30% 递升至 70%, 30~40 min, 甲醇 70% 递升至 80%, 40~50 min, 甲醇 80% 递减至 30%; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 294 nm; 柱温: 室温。

采用上述色谱条件, 阴性对照、和胃饮合剂和橙皮苷、厚朴酚对照品的 HPLC 谱图见图 1。橙皮苷和厚朴酚的保留时间分别为 11.97、37.70 min, 在橙皮苷、厚朴酚的保留时间位置处阴性对照没有干扰吸收。

2.5 标准曲线的考察: 分别精密吸取 0.412 mg/mL 橙皮苷对照品溶液 1、2、5、10、15 μ L 进样测定。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 139.718 X + 4.5108$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.412~6.18 mg/mL。分别精密吸取 2.16 mg/mL 厚朴酚对照品溶液 0.2、0.6、1.2、3 μ L 进样测定。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y =$

收稿日期: 2006-11-20

基金项目: 大连市科技局 2005 年科技计划项目 (2005E11SF062)

作者简介: 林华清 (1984—), 女, 黑龙江省鸡西人, 2006 年毕业于大连理工大学, 获理学学士学位, 复旦大学化学系分析化学专业在读硕士生。E-mail: qing3354@163.com

* 通讯作者: 李楠 Tel: (0411) 83683309 E-mail: linan1946@hotmail.com

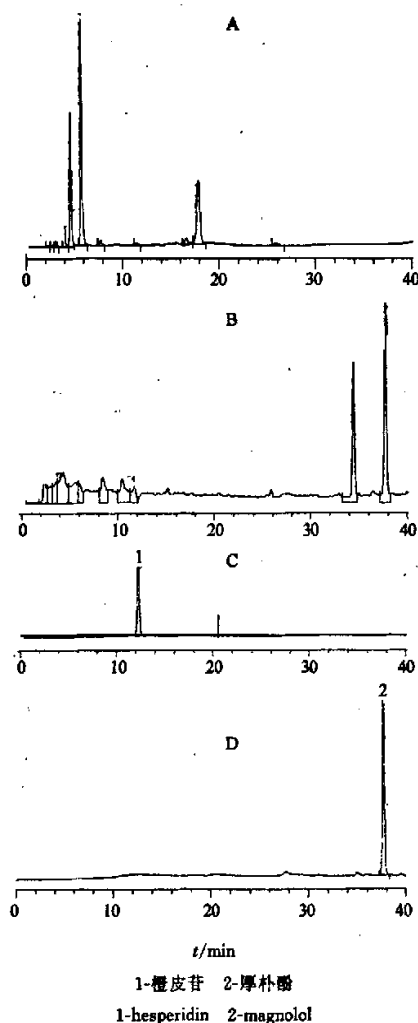


图1 阴性对照(A)、和胃饮合剂(B)、橙皮苷对照品(C)和厚朴酚对照品(D)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of negative sample (A), Hewelyin Mistura (B), hesperidin reference substance (C), and magnolol reference substance (D)

$1\ 456.342\ X + 106.505\ 8, r = 0.999\ 6$, 线性范围为 $0.432 \sim 6.48\ \text{mg/mL}$ 。

2.6 最低检测限考察:在橙皮苷、厚朴酚的线性范围的最小进样量的基础上,分别用微量进样器进样橙皮苷、厚朴酚对照品溶液 $0.6, 0.1\ \mu\text{L}$,得到的响应值均不理想。所以最低检测限定为橙皮苷 $0.412\ \text{mg/mL}$,厚朴酚 $0.432\ \text{mg/mL}$ 。

2.7 精密度试验:取批号 060323 和胃饮合剂供试

样品溶液,连续进样 5 次,测定峰面积,计算质量浓度,结果厚朴酚的质量浓度 RSD 为 0.3424% ,橙皮苷的质量浓度 RSD 为 1.865% 。

2.8 稳定性试验:取批号 060323 和胃饮合剂供试样品溶液,间隔 $60\ \text{min}$ 进样一次,连续进样 6 次,测定峰面积,计算质量浓度,结果厚朴酚的质量浓度 RSD 为 0.384% ,橙皮苷的质量浓度 RSD 为 0.871% 。表明供试样品溶液中被测成分在测定条件下 $5\ \text{h}$ 内稳定。

2.9 回收率试验:取批号为 060328 的样品 6 份,各 $2.5\ \text{mL}$ 精密加入 $0.131\ \text{mg/mL}$ 橙皮苷对照品溶液和 $0.364\ \text{mg/mL}$ 厚朴酚对照品溶液各 $0.50\ \text{mL}$,混合摇匀,制备供试品溶液,取 $20\ \mu\text{L}$ 进样测定。计算回收率。结果橙皮苷的平均回收率为 103.7% ,RSD 为 2.283% ;厚朴酚的平均回收率为 98.39% ,RSD 为 2.97% 。

2.10 样品测定:取样品适量制备供试品溶液,取 $20\ \mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪,记录色谱峰面积,采用标准曲线的回归方程计算有效成分的质量浓度,并计算不同批号和胃饮合剂中橙皮苷、厚朴酚,见表 1。

表 1 和胃饮合剂中橙皮苷和厚朴酚测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of hesperidin and magnolol in Hewelyin Mistura ($n=3$)

批号	橙皮苷($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	厚朴酚($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
060305	0.116	0.122
060316	0.113	0.105
060320	0.053	0.089
060323	0.093	0.088
060326	0.093	0.059
060328	0.101	0.078

3 讨论

《中国药典》2005 年版一部中橙皮苷、厚朴酚的检测波长分别为 $283, 294\ \text{nm}$ 。通过比较在 $283, 294\ \text{nm}$ 下橙皮苷的 HPLC 谱图效果发现可知:在这两个检测波长下,峰形及保留时间无明显差异,且 $294\ \text{nm}$ 处测得的峰面积较 $283\ \text{nm}$ 处测得的峰面积大,因此确定橙皮苷、厚朴酚的检测波长都使用 $294\ \text{nm}$ 。

References:

- [1] Wu X, Chen X. High performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of honokiol and magnolol in rat plasma [J]. *Talanta*, 2003, 115-121.
- [2] Xie Y, Zeng H. HPLC Determination of hesperidin, baicalin and magnolol in Huangqin Zhengqi Capsules [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2006, 28(1): 34-36.