

## HPLC 法测定番泻豆荚中番泻苷 A 和番泻苷 B

李 静<sup>1</sup>, 车景超<sup>2</sup>, 曲 佳<sup>1</sup>, 宛贵安<sup>3</sup>, 寿国香<sup>1</sup>

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 广西中医学院, 广西 南宁 570001; 3. 中国医药保健品有限公司, 北京 100061)

番泻苷 A 和 B 是番泻叶 *Cassia angustifolia* Vahl 的主要有效成分。番泻叶具有泻下作用, 疗效显著, 应用方便, 但目前临床上所用的番泻叶多为进口, 国内产量少, 如何扩大药源, 寻找新的药用部位成为目前研究的一个重要任务。以往对番泻药材的研究多集中于对番泻叶的研究, 据了解, 在番泻药材的原产地之一印度, 番泻叶和番泻豆荚是同时入药的。目前国内外文献中均未见采用 HPLC 法测定番泻豆荚中番泻苷 A 和 B 的研究报道。本实验建立了采用 HPLC 法测定番泻豆荚中番泻苷 A 和 B 的方法, 证实了豆荚中含有与叶相同的泻下有效成分番泻苷 A 和 B, 且豆荚中二者的量均高于叶。本研究对拓展番泻药材新的药用部位, 扩大药源提供了一定的实验依据。

### 1 材料

本实验收集到的番泻豆荚均为印度进口。

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪; Mettler AE 260 万分之一电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司) 及 Mettler Toledo AG 135 十万分之一电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 乙腈为色谱纯, 冰醋酸、醋酸钠为分析纯, 水为去离子蒸馏水; 四庚基溴化铵为色谱纯 (Fluka 瑞士); 番泻苷 A、B 对照品由天津市药品检验所中药室寿国香主任药师提供 (经 UV、IR、MS 波谱分析, 所得数据与文献一致<sup>[1~3]</sup>, 与已知对照品番泻苷 A (日本和光纯药工业株式会社)、番泻苷 B (中国药品生物制品检定所) 保留时间一致, 经 HPLC 色谱归一化法计算, 番泻苷 A、B 质量分数均达 98.0% 以上。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 流动相为乙腈: 醋酸-1 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH 5.0) (1→10) (35: 65), 该混合溶液 1 000 mL 中, 加入四庚基溴化铵 2.45 g; 检测波长: 340 nm; 柱温: 40 ℃; 体积流量: 1.0 mL/min。理论板数按番泻苷 B 峰计算应不低于 6 500, 番泻苷 B 峰与相邻杂质峰的分离度应符合要求。色谱图见图 1。

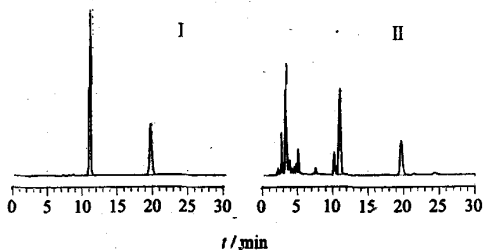


图 1 番泻苷 A 和 B 对照品 (I) 及番泻豆荚供试品 (II) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of sennoside A and B reference substance (I) and sample of senna bean pod (II)

2.2 对照品溶液制备: 取经减压干燥 12 h 的番泻苷 A、B 对照品适量, 精密称定, 置棕色量瓶中, 加入含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 甲醇溶液 (0.1 g NaHCO<sub>3</sub>→30% MeOH), 制成番泻苷 A 0.05 mg/mL 与番泻苷 B 0.1 mg/mL 的混合溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液制备: 取样品粗粉约 0.5 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 甲醇溶液 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 350 W, 频率 35 kHz) 15 min (30~40 ℃), 放冷, 用提取溶剂补足减失的质量, 滤过, 过 0.45 μm 微孔滤膜后进样分析。

2.4 线性关系考察: 取经减压干燥 12 h 的番泻苷 A 和 B 对照品适量, 精密称定, 置棕色量瓶中, 加入含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 甲醇溶液制成番泻苷 A 0.096 4 mg/mL 与番泻苷 B 0.207 2 mg/mL 的混合溶液。分别精密吸取该混合液 5、10、20、30、40 μL, 注入液相色谱仪, 测得峰面积。以峰面积为纵坐标, 番泻苷 A、B 进样量 (μg) 为横坐标, 进行线性回归, 求得回归方程:  $Y_B = 896\ 611.56 X + 15\ 066.57$ ,  $r_B = 1.000\ 0$ , 线性范围为 1.036~8.288 μg;  $Y_A = 1\ 003\ 636.88 X + 5\ 973.79$ ,  $r_A = 1.000\ 0$ , 线性范围为 0.482~3.856 μg。

2.5 重现性试验:采用同一批号药材,按供试品制备方法制备样品共 6 份,进行测定,记录色谱流出信号。计算 6 份样品所得番泻苷 A 和 B 的量,结果番泻苷 A 平均质量分数为 9.6 mg/g, RSD=0.65%;番泻苷 B 平均质量分数为 15.5 mg/g, RSD=0.61%。

2.6 精密密度试验:取同一份供试品溶液,连续进样 6 次,记录色谱流出信号。计算 6 次分析所得番泻苷 A 和 B 的量, RSD 均小于 0.2%。

2.7 稳定性试验:取供试品适量,称取 1 份,从配置完毕(0 h)开始,24 h 内每隔 2 h 进样一次,记录峰面积值,计算番泻苷 A 的 RSD 为 0.25%,番泻苷 B 的 RSD 为 0.27%,表明对照品溶液与样品溶液中番泻苷 A、B 在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验:采用同一批号药材,取药材粗粉约 0.25 g,精密称定。精密加入相当于药材中番泻苷 A 和 B 量的对照品溶液(约相当于番泻苷 A 和 B 分别为 0.044 04、0.067 98 mg/mL 的对照品溶液 50 mL),按供试品制备方法制备样品共 6 份,所得平均回收率番泻苷 A 为 97.8%, RSD=0.54%;番泻苷 B 为 97.6%, RSD=0.69%。

2.9 样品测定:取 6 批番泻豆荚样品粗粉,各取 0.5 g,精密称定,按照测定方法测定,结果见表 1。

表 1 6 批番泻豆荚样品测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of six batches of senna bean pod (n=2)

批号	番泻苷 A/(mg·g <sup>-1</sup> )	番泻苷 B/(mg·g <sup>-1</sup> )
070308	9.762 3	16.641 6
070309	8.703 3	13.896 3
070310	9.708 8	13.934 2
070311	10.810 9	14.958 8
070312	10.755 5	14.823 8
070313	12.338 2	16.696 7

### 3 讨论

3.1 番泻苷 A 和 B 在溶液中不稳定,日光、温度和存放时间均影响其稳定性。因此,番泻苷 A 和 B 对照品使用前应减压干燥 12 h,配成溶液时置棕色瓶中进行实验操作。由于番泻苷类对热不稳定,实验过程中温度不应太高,采用超声提取法,提取过程中控

制温度 30~40 ℃。

比较了不同超声提取时间(15、25、35、45 min)对提取效率的影响,4 种提取时间所测得的峰面积积分值差别不大,故选择 15 min 提取,节省时间。还比较了不同溶剂量(25、50、100 mL)对提取效率的影响,在相同条件下提取,50、100 mL 提取所测得的峰面积积分值相近,故选择 50 mL 溶剂量提取,节省溶剂。

3.2 番泻苷 A 和 B 为二蒽酮葡萄糖苷,溶解性较差,原文献采用 0.1% 碳酸氢钠溶液作为提取溶剂。本实验在选择提取溶剂时,曾比较过 0.1% 碳酸氢钠溶液、含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 甲醇溶液、含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 乙腈溶液。实验中发现,用 0.1% 碳酸氢钠溶液作为提取溶剂时,供试品溶液易发霉导致量变低(特别是在夏季)。实验结果表明,含 0.1% 碳酸氢钠的 30% 甲醇溶液提取效果最好,提取完全,且具有抑菌防霉的作用,供试品溶液放置 72 h 时峰面积积分值变化不大,适用于多批量的样品测定。

3.3 对参考文献中流动相的配制在文字上做了适当的调整,原流动相为:乙腈-1 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)(1→10)(35:65)该混合溶液 1 000 mL 中,加入四庚基溴化铵 2.45 g 为流动相。其中 1 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)(1→10)不易离解,调整为醋酸-0.1 mol/L 醋酸钠缓冲液(pH 5.0),采用取 8.203 g 无水醋酸钠,加水至 100 mL,用冰醋酸调 pH 值到 5.0,加水至 1 000 mL,即得。

### References:

- [1] Miyamoto M, Imai S, Shinohara M, et al. Studies on the purgative substances I. Isolation of sennoside A, one of the most active principles from *Rhubarbs* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1967, 87(9): 1040-1043.
- [2] Oshio H, Imai S, Fujioka S, et al. Investigation of *Rhubarbs*. II. New purgative constituents, sennosides E and F [J]. *Chem Pharm Bull*, 1974, 22(4): 823-831.
- [3] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

欢 迎 投 稿                      欢 迎 订 阅

# HPLC法测定番泻豆荚中番泻苷A和番泻苷B

作者: [李静](#), [车景超](#), [曲佳](#), [宛贵安](#), [寿国香](#)  
作者单位: [李静, 曲佳, 寿国香\(天津市药品检验所, 天津, 300070\)](#), [车景超\(广西中医学院, 广西, 南宁, 570001\)](#), [宛贵安\(中国医药保健品有限公司, 北京, 100061\)](#)  
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)  
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)  
年, 卷(期): 2007, 38(12)  
被引用次数: 2次

## 参考文献(3条)

1. Miyamoto M;Imai S;Shinohara M [Studies on the purgative substances I. Isolation of sennoside A, one of the most active principles from Rhubarbs](#) 1967(09)
2. Oshio H;Imai S;Fujioka S [Investigation of Rhubarbs. III. New purgative constituents, sennosides E and F](#) 1974(04)
3. [Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China](#) [植物药有效成分手册](#) 1986

## 本文读者也读过(10条)

1. [刘圣](#). [陈礼明](#). [田莉](#). [陈象清](#). [胡世莲](#). [王钦茂](#) [番泻叶及其制剂的临床应用及安全性评价](#)[期刊论文]-[中国药房](#) 2001, 12(5)
2. [孙丽华](#). [江月仙](#). [王巧懿](#) [减肥茶中番泻甙B含量的测定](#)[期刊论文]-[海峡药学](#)2004, 16(1)
3. [马春娟](#). [孙侠](#) [利用HPLC法测定番泻叶中番泻苷A的含量](#)[期刊论文]-[通化师范学院学报](#)2010, 31(2)
4. [何伟](#). [张朝波](#). [严军](#). [柳燕](#). [HE Wei](#). [ZHANG Chao-bo](#). [YAN Jun](#). [LIU Yan](#) [HPLC法测定番泻叶中番泻苷A、番泻苷B的含量](#)[期刊论文]-[海峡药学](#)2008, 20(9)
5. [张蘅](#) [番泻叶及其制剂临床应用的概述](#)[期刊论文]-[基层中药杂志](#)2001, 15(1)
6. [库热西江](#)·[托呼提](#). [茹仙古丽](#)·[沙吾尔](#) [维吾尔医药膳植物-药桑葚的药用、食用价值探讨](#)[期刊论文]-[中国中医药资讯](#)2011, 03(8)
7. [何结炜](#). [何明珍](#). [胡子帆](#). [何军伟](#). [王跃生](#). [杨世林](#) [HPLC法测定番泻叶中番泻苷A和番泻苷B](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2007, 38(8)
8. [邬秋萍](#). [王祝举](#). [唐力英](#). [傅梅红](#). [赫炎](#). [方婧](#). [龚千锋](#). [WU Qiu-ping](#). [WANG Zhu-ju](#). [TANG Li-ying](#). [FU Mei-hong](#). [HE Yan](#). [FANG Jing](#). [GONG Qian-feng](#) [HPLC测定番泻叶中5种主要化学成分的含量](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#)2008, 33(4)
9. [吕曙华](#). [吕归宝](#) [HPLC法测定番泻叶中番泻苷A及番泻苷B的含量](#)[期刊论文]-[中国药品标准](#)2002, 3(5)
10. [刘玲](#) [桑葚枸杞营养酒发酵技术](#)[期刊论文]-[企业科技与发展](#)2008(13)

## 引证文献(2条)

1. [肖晶](#). [方从容](#). [杨杰](#). [杨大进](#) [HPLC法同时测定保健食品中番泻苷A和番泻苷B的含量](#)[期刊论文]-[卫生研究](#) 2011(3)
2. [吴恒](#). [陈礼明](#). [张善堂](#) [高效液相色谱在中药研究中的应用](#)[期刊论文]-[安徽医药](#) 2009(8)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200712046.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200712046.aspx)