

2.7.2 精密度试验:取同一质量浓度的葡萄糖对照品溶液连续测定5次,测定吸光度值,计算,结果吸光度值的RSD为0.23%。

2.7.3 重现性试验:取同一批次样品5份,制备供试品溶液,测定,计算,结果样品中多糖质量分数的RSD为2.3%。

2.7.4 加样回收率试验:取夏枯草温敏凝胶0.5g(含多糖约5.2mg),精密称定,分别加入3.98、5.01、6.04mg无水葡萄糖对照品,制备供试品溶液,测定,计算回收率,结果平均加样回收率为102.57%,RSD为1.79%(n=9)。

2.8 温敏凝胶中多糖的测定:分别自3批夏枯草温敏凝胶中取约1g凝胶,置10mL塑料离心管中,精密称定,冷冻干燥。冷冻干燥样品加醋酸乙酯2.0mL,涡旋使完全溶解,5000r/min离心20min,弃上清液,沉淀分别再加醋酸乙酯2.0mL,同法萃取1次,沉淀于50℃水浴挥尽醋酸乙酯。残渣用蒸馏水完全溶解,转移至100mL量瓶,加蒸馏水至刻度,摇匀,即得供试品溶液。自供试品溶液中精密移取0.2mL于具塞试管中,于483nm处测定吸光度值,结果见表3。

表3 夏枯草温敏凝胶中多糖的测定结果(n=3)

Table 3 Determination of polysaccharides in thermo-sensitive gel of *P. vulgaris* (n=3)

批号	多糖/%	RSD/%
060917	1.08	2.14
060918	1.06	1.17
060919	1.02	3.96

### 3 讨论

泊洛沙姆为聚氧乙烯(PEO)和聚氧丙烯(PPO)组成的ABA型嵌段共聚物,其高浓度水溶液具有受热反向胶凝的性质,即冷藏温度下是自由流动的液体而室温或体温时形成澄清的凝胶<sup>[3]</sup>。泊洛沙姆在多糖定量测定中的干扰,可能是由于其在硫酸作用下脱水形成的化合物可与苯酚反应生成有色化合物,该物质与多糖经显色所得化合物颜色相近,因而造成严重干扰。经预实验发现泊洛沙姆在室温下易溶于醋酸乙酯,而夏枯草多糖则不溶,据此采用醋酸乙酯为萃取溶剂对多糖及基质进行分离。但因制剂本身为温敏凝胶,在温度达29~30℃时即可发生相转变而成凝胶,以醋酸乙酯进行液液萃取时属于放热过程,凝胶的胶凝阻碍了醋酸乙酯的萃取,故液液萃取的方式并不适合温敏凝胶中基质与多糖的分离,因此采用先将制剂进行冷冻干燥后,再用醋酸乙酯萃取的方法分离基质与多糖,较符合温敏凝胶的特性,多糖保留率为100.11%,是较为理想的样品前处理方法,为以泊洛沙姆为主要基质的多糖制剂中多糖的含量测定提供参考。

### 参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] Xu H X, Lee S H S, Lee S F, et al. Isolation and characterization of an anti-HSV polysaccharide from *Prunella vulgaris* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 44: 43.
- [3] Wei G, Xu H, Ding P T, et al. Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use rheological and gamma scintigraphic studies [J]. *J Controlled Release*, 2002, 83(1): 65-74.

## 龙血竭胶囊的HPLC指纹图谱研究

高秀丽,蒋倩,张敏

(贵阳医学院药学院,贵州 贵阳 550004)

**摘要:**目的 用HPLC法对龙血竭胶囊指纹图谱进行研究。方法 采用色谱条件:Eclipse XDB-ODS柱(150mm×4.6mm),流动相为乙腈-水,梯度洗脱进行色谱分离;检测波长为275 nm;体积流量为1.0 mL/min;柱温为40℃,以龙血素B作为参照物。结果 初步建立了龙血竭胶囊的HPLC指纹图谱,并进行相似度评价。结论 方法简单可行,能够有效地控制龙血竭胶囊的内在质量。

**关键词:**龙血竭胶囊;指纹图谱;HPLC;相似度

**中图分类号:**R286.1      **文献标识码:**A      **文章编号:**0253-2670(2008)06-0855-04

血竭为传统名贵中药,有“活血之圣药”的美誉,含多种黄酮类、皂苷类、甾醇类、萜类和其他化合物,

收稿日期:2007-09-30

作者简介:高秀丽(1965—),女,副教授,硕士,1990年毕业于华西医科大学药学院,2001—2003年作为英国Portsmouth大学访问学者,2003—2004年作为英国Manchester大学访问学者,现为贵阳医学院实验室管理与设备处副处长,在药学系分析测试中心任教,从事药物质量及其新药开发研究,药物药动学研究。Tel:(0851)6908468 E-mail: xiuligao@hotmail.com

具有活血散瘀、消炎止痛、收敛止血、生肌敛疮、补血益气等功效。

目前市场上,龙血竭胶囊已多个厂家生产。龙血竭作为一种中药,其质量控制手段主要有薄层色谱法<sup>[1]</sup>和采用高效液相色谱法对单个已知化合物(如龙血竭B等)进行测定<sup>[2~4]</sup>。由于受到天气、气候、产地等各种因素的影响,有效生物活性成分的量会有较显著的差异,从而影响药物制剂的质量。为了更好地控制龙血竭胶囊的质量,本实验采用HPLC法建立了龙血竭胶囊的指纹图谱。

## 1 仪器与试药

美国安捷伦 1100 高效液相色谱仪。龙血素 B 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111558-200303),龙血素 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111660-200301)。乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。龙血竭胶囊样品来源于不同的厂家,均市售购得,见表 1。

表 1 龙血竭胶囊样品

Table 1 Test sample of dragon's blood capsula

样品	产地	样品	产地
1	云南	7	广西
2	云南	8	广西
3	云南	9	云南
4	云南	10	云南
5	云南	11	云南
6	云南		

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)、Phenomenex-C<sub>18</sub>保护柱(3 mm×4.5 mm,5 μm);检测波长:275 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样体积:10 μL;柱温:40 ℃;流动相:乙腈-水,梯度洗脱:0 min:乙腈-水(10:90);25 min:乙腈-水(25:75);40 min:乙腈-水(36:64);60 min:乙腈-水(45:55)。

2.2 对照品溶液的制备:取龙血素 B 对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成 12.008 μg/mL 的龙血素 B 对照品溶液。取龙血素 A 和 B 对照品适量,精密称定,加甲醇制成 26.06 μg/mL 龙血素 A 和 18.01 μg/mL 龙血素 B 的对照品溶液。色谱图见图 1。

2.3 供试品溶液的制备:取样品约 0.1 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加甲醇 20 mL,溶解,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,即得,色谱图见图 1。

2.4 重现性试验:取同一批龙血竭胶囊内容物 6 份,精密称量,制备供试品溶液,分别进样,测得结果表明,各共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积

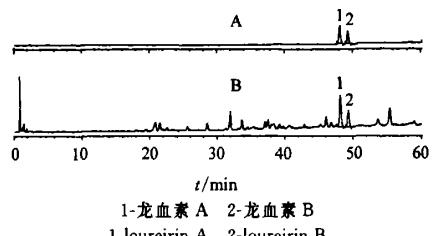


图 1 对照品(A)及龙血竭样品(B)高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of reference substance (A) and dragon's blood capsula (B)

的 RSD 均小于 3%, 表明样品重现性良好。

2.5 精密度试验:取同一供试品溶液,连续进样 5 次,测得结果表明,各共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验:取同一批龙血竭胶囊粉末,精密称量,制备供试品溶液,分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样,测得结果表明,各共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 表明供品溶液在 24 h 内稳定。

## 2.7 指纹图谱的建立

2.7.1 指纹图谱的测定:分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,记录 65 min 的色谱图。

2.7.2 共有峰的确定:按照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂定)》规定,测定 11 批不相同产地不同批次龙血竭胶囊的指纹图谱,其中 18 个峰为胶囊的共有指纹峰,样品中 16 号峰为龙血素 B 的色谱峰,其响应值较高,色谱峰较窄,峰形好。因此以 16 号峰(龙血素 B)作为色谱指纹图谱的参比峰,计算各共有指纹峰相对于参比峰的相对保留时间和相对峰面积的比值。结果见图 2、3 和表 2、3。

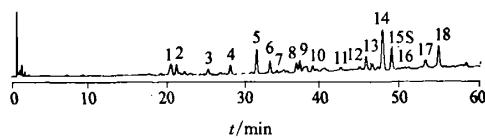


图 2 龙血竭胶囊的高效液相指纹图

Fig. 2 HPLC fingerprint of dragon's blood capsula

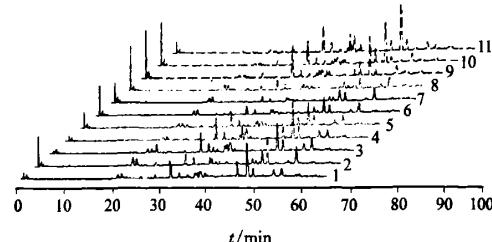


图 3 龙血竭胶囊指纹图

Fig. 3 HPLC Fingerprints of dragon's blood capsula

表2 龙血竭胶囊指纹图谱中共有峰的相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks in fingerprint of dragon's blood capsula

峰号	共有峰相对保留时间										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.421 4	0.422 1	0.420 7	0.421 0	0.420 2	0.420 9	0.421 2	0.421 0	0.421 3	0.421 0	0.421 4
2	0.436 7	0.436 9	0.436 0	0.436 2	0.435 4	0.435 6	0.435 4	0.434 5	0.434 7	0.434 5	0.434 4
3	0.518 4	0.518 8	0.517 7	0.518 2	0.517 3	0.518 1	0.518 1	0.517 8	0.518 0	0.517 8	0.517 8
4	0.578 6	0.578 9	0.577 8	0.577 9	0.577 0	0.577 4	0.577 3	0.577 0	0.577 2	0.577 0	0.576 9
5	0.647 0	0.647 4	0.646 8	0.646 8	0.646 3	0.646 7	0.646 8	0.646 8	0.647 1	0.646 8	0.646 8
6	0.682 0	0.682 4	0.681 8	0.681 8	0.681 3	0.681 7	0.681 7	0.681 9	0.682 2	0.681 9	0.681 8
7	0.718 6	0.719 4	0.718 5	0.718 5	0.718 0	0.718 7	0.718 8	0.718 7	0.719 2	0.718 7	0.718 7
8	0.750 8	0.751 3	0.750 8	0.750 7	0.750 3	0.750 9	0.751 0	0.750 8	0.751 5	0.750 8	0.750 9
9	0.760 0	0.760 5	0.760 0	0.760 0	0.759 6	0.760 2	0.760 2	0.760 4	0.761 0	0.760 4	0.760 3
10	0.793 6	0.794 6	0.793 5	0.793 6	0.793 3	0.793 7	0.794 2	0.793 6	0.794 3	0.793 6	0.793 8
11	0.867 2	0.868 1	0.867 5	0.867 1	0.867 1	0.868 0	0.867 9	0.867 0	0.867 5	0.867 0	0.867 1
12	0.933 9	0.934 1	0.933 9	0.934 1	0.933 8	0.934 2	0.934 0	0.933 9	0.933 9	0.933 9	0.933 8
13	0.948 7	0.948 8	0.948 7	0.948 9	0.948 7	0.948 9	0.948 8	0.953 7	0.953 6	0.953 7	0.953 7
14	0.962 8	0.964 6	0.964 2	0.963 4	0.964 1	0.964 7	0.964 7	0.961 3	0.961 2	0.961 3	0.961 5
15	0.976 2	0.976 4	0.976 1	0.976 1	0.976 1	0.976 2	0.976 4	0.976 2	0.976 3	0.976 2	0.976 2
16	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
17	1.088 5	1.088 3	1.088 7	1.088 1	1.088 5	1.088 4	1.088 1	1.088 1	1.088 0	1.088 1	1.088 1
18	1.123 1	1.122 8	1.123 2	1.122 7	1.122 9	1.123 0	1.123 1	1.123 2	1.123 2	1.123 1	1.123 1

表3 龙血竭胶囊指纹图谱中共有峰的相对峰面积

Table 3 Relative retention area of common peaks in fingerprint of dragon's blood capsula

峰号	共有峰相对峰面积										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.580 8	0.869 2	0.507 9	0.269 6	0.537 0	0.547 1	0.675 1	0.398 8	0.436 0	0.398 8	0.347 4
2	0.535 6	0.593 6	0.342 7	0.219 9	0.432 6	0.571 5	0.637 4	0.213 8	0.203 8	0.213 8	0.091 8
3	0.162 2	0.265 6	0.137 0	0.122 6	0.208 1	0.093 8	0.100 2	0.619 0	0.719 5	0.619 0	0.617 8
4	0.380 2	0.384 9	0.220 1	0.139 0	0.281 1	0.339 0	0.215 9	0.178 4	0.180 3	0.178 4	0.211 7
5	1.740 5	0.807 8	1.438 5	1.501 8	1.204 8	0.812 0	0.599 5	3.191 9	3.179 5	3.191 9	2.216 1
6	0.471 9	0.556 2	0.657 7	0.539 3	0.565 1	0.452 5	0.277 6	0.858 2	0.860 7	0.858 2	0.796 7
7	0.341 0	0.183 7	0.253 3	0.196 8	0.219 4	0.205 9	0.106 2	0.470 8	0.488 4	0.470 8	0.235 1
8	0.495 2	0.568 6	0.510 9	0.299 0	0.456 5	0.407 0	0.451 1	0.532 7	0.556 7	0.532 7	0.337 2
9	0.547 5	0.471 7	0.635 8	0.868 1	0.589 7	0.501 5	0.369 8	0.742 9	0.754 6	0.742 9	1.467 1
10	0.403 8	0.259 9	0.290 5	0.282 4	0.321 4	0.219 7	0.216 0	0.737 3	0.786 9	0.737 3	0.318 1
11	0.167 2	0.232 3	0.170 6	0.103 6	0.128 1	0.170 8	0.150 7	0.242 1	0.263 8	0.242 1	0.212 7
12	1.179 8	0.510 3	0.953 7	0.787 0	1.074 8	0.941 2	0.561 5	2.092 5	2.116 4	2.092 5	0.903 0
13	0.231 4	0.335 0	0.227 8	0.156 8	0.250 3	0.295 0	0.423 4	0.173 1	0.171 3	0.173 1	0.066 6
14	0.180 6	0.170 3	0.173 0	0.118 9	0.178 5	0.176 6	0.171 9	0.280 1	0.268 7	0.280 1	0.071 1
15	4.353 3	1.249 8	2.742 6	3.205 7	2.546 8	2.051 3	1.490 2	6.449 6	6.221 1	6.449 6	4.507 3
16	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
17	1.416 2	0.596 2	1.092 3	0.914 1	0.635 3	0.632 2	0.536 2	2.103 8	2.106 0	2.103 8	1.036 3
18	1.290 8	2.033 8	1.297 8	0.777 7	1.165 0	1.341 5	1.706 5	0.389 4	0.474 4	0.389 4	0.445 1

2.7.3 指纹图谱的相似度计算:指纹图谱相似度可以评定各批次或各产地产品指纹图谱间整体相似性,定量描述其各自化学组成的差异与波动。实验采用中药色谱图分析和数据管理系统,对11批龙血竭胶囊进行相似度评价,结果见表4。

### 3 讨论

3.1 由于龙血竭所含化学成分较多且结构相近,采用等度洗脱方式很难将其分开,故采用梯度洗脱以实现良好分离。实验中考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸系统和梯度洗脱程

序。结果表明乙腈-水系统最佳,实验中所确定的梯度程序使各色谱峰分离较好,保留时间适中。

3.2 考察并比较了三氯甲烷、醋酸乙酯、甲醇3种不同溶剂的样品提取方法,结果发现三氯甲烷作为溶剂提取样品色谱峰出峰少,龙血素A和龙血素B的峰面积减少;醋酸乙酯作为溶剂提取样品色谱峰出峰与甲醇作为溶剂提取样品色谱峰出峰的多少差不多,但个别峰的面积要较后者要小些。故选用甲醇为提取溶剂。

3.3 采用高效液相色谱仪的二极管增列阵列检测

表4 龙血竭胶囊指纹图谱相似度结果

Table 4 Similarity of fingerprint in 11 batches of dragon's blood capsula

批号	相关系数法	夹角余弦法
1	1	1
2	0.805 709	0.891 744
3	0.964 931	0.977 059
4	0.978 342	0.983 728
5	0.966 056	0.976 398
6	0.913 095	0.945 001
7	0.815 265	0.893 363
8	0.974 253	0.982 941
9	0.973 588	0.982 831
10	0.974 253	0.982 941
11	0.941 763	0.957 053

器对样品的吸收波长进行分析。结果表明,低波长处基线漂移严重,而高波长处各组分的响应很小,在275 nm 检测波长下,基线较稳定,色谱峰较多,信息丰富,故选择 275 nm 为最终检测波长。

3.4 实验中采用了Diamonsil-C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),结果显示这两种柱子在色谱条件下

都能够将龙血竭胶囊各组分峰较好地分开,但前者需分析时间较后者长。Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(150 mm×4.6 mm)能在 1 h 内完成分析,达到较理想的效果。

3.5 从实验中不同厂家和不同批次的龙血竭胶囊指纹图谱中可以看出,11 批龙血竭胶囊指纹图谱中主要色谱峰的整体图貌基本一致。同时相似度评价结果表明,不同生产厂家、同一生产厂的不同批次间,个别批次仍然存在较大的差异(如样品 2 和样品 7)。因此,为保证龙血竭胶囊产品质量的稳定和一致性,应固定药材原料的来源、保证药材原料质量的稳定和一致性。

#### 参考文献:

- [1] 王玉华,王伟.薄层扫描法测定不同来源血竭中血竭素含量[J].时珍国医国药,2000,11(12): 1073-1074.
- [2] 李忠琼,向东.HPLC 测定龙血竭中龙血素 A 和龙血素 B 的含量[J].华西药学杂志,2005,20(4): 348-349.
- [3] 胡迎庆,张静泽,刘岱琳等.两种“東龙牌”血竭的鉴别[J].中草药,2002,33(4): 358-360.
- [4] 孙胜利,宓鹤鸣,娄子洋等.影响国产血竭中龙血素 B 含量测定的干扰成分的分离鉴定[J].解放军药学学报,2002,18(2): 74-76.

## 大黄中游离蒽醌的提取工艺优化研究

马容,狄留庆\*,许惠琴

(南京中医药大学中医药研究院,江苏南京 210029)

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎。大黄具有清热解毒、活血通瘀、泻热通肠等多种功能。大黄主要产地是甘肃、青海,是我国最常用的中药之一,药用范围十分广泛。大黄的主要有效成分是大黄游离蒽醌类物质(包括芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等)以及它们与糖苷生成的结合型蒽醌<sup>[1]</sup>。随着对其研究的不断深入,其主要药用部位基本明确,而如何最大限度地保留其有效组分,除去无效成分,已成为大黄制剂研究的重点。文献曾报道大孔吸附树脂对大黄总蒽醌具有较强的富集作用<sup>[2]</sup>,但对总游离蒽醌的提取纯化方法报道不多。本实验将大黄中的结合型蒽醌水解转化成游离蒽醌,然后对总游离蒽醌进行提取。实验采用正交试验法,

以大黄提取物中总游离蒽醌的收率为考察指标,考察了酸水解及乙醇提取的工艺条件,优选出大黄游离蒽醌的最佳提取工艺,获得纯度较高的有效部位。

#### 1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);Buchi 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司);DZF-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);石英亚沸高纯水蒸馏器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

1, 8-二羟基蒽醌对照品(德国, 批号为 D108103-5G, 质量分数为 96%), 甲醇等试剂均为分析纯。酒大黄药材购自安徽丰原铜陵中药饮片有限公司, 经南京中医药大学中药鉴定学教研室吴德康教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *R. palmatum* L.

# 龙血竭胶囊的HPLC指纹图谱研究

作者: 高秀丽, 蒋倩, 张敏  
作者单位: 贵阳医学院药学院, 贵州, 贵阳, 550004  
刊名: 中草药 [ISTIC PKU]  
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS  
年, 卷(期): 2008, 39(6)

## 参考文献(4条)

- 王玉华;王伟 薄层扫描法测定不同来源血竭中血竭素含量[期刊论文]-时珍国医国药 2000(12)
- 李忠琼;向东 HPLC测定龙血竭中龙血素A和龙血素B的含量[期刊论文]-华西药学杂志 2005(04)
- 胡迎庆;张静泽;刘岱琳 两种“東龙牌”血竭的鉴别[期刊论文]-中草药 2002(04)
- 孙胜利;宓鹤鸣;娄子洋 影响国产血竭中龙血素B含量测定的干扰成分的分离鉴定[期刊论文]-解放军药学学报 2002(02)

## 本文读者也读过(9条)

- 唐风雷. 于忠兴. 范正达. 张东 柔肝降脂胶囊的HPLC指纹图谱研究[会议论文]-2006
- 赵晓莉. 狄留庆. 吴皓. 李伟东. ZHAO Xiao-li. DI Liu-qing. WU Hao. LI Wei-dong 络通胶囊的HPLC指纹图谱初步研究[期刊论文]-中药材2007, 30(4)
- 高秀丽. 蒋倩. 王鹏娇. 张敏. GAO Xiu-li. JIANG Qian. WANG Peng-jiao. ZHANG Min 龙血竭高效液相色谱特征研究[期刊论文]-中国中药杂志2007, 32(19)
- 禹玉洪. 杨坤. 孙彦珂. 孟薇薇. 戴荣继. 邓玉林 云南龙血竭两种不同提取方法的HPLC指纹图谱分析[会议论文]-2007
- 王倬暉 血竭与龙血竭及其伪品的鉴别[期刊论文]-时珍国医国药2005, 16(3)
- 张庆云. 朱辉. 陈红英. 胡迎庆 龙血竭研究进展[期刊论文]-武警医学院学报2004, 13(1)
- 高颖. 张庆云. 曹广军. 董小青. 郭鹏. 胡迎庆 两种工艺提取的龙血竭体外抗真菌活性比较[期刊论文]-武警医学院学报2004, 13(3)
- 胡迎庆. 张庆云. 胡孝国. 邓昌沪 不同工艺提取的龙血竭中龙血素A、B的含量的测定[期刊论文]-中成药 2002, 24(12)
- 吴志恒. 朱铁梁. 张磊. 张庆云. 朱辉. WU Zhi-heng. ZHU Tie-liang. ZHANG Lei. ZHANG Qing-yun. ZHU Hui RP-HPLC测定龙血竭中新化合物剑叶龙血素C含量[期刊论文]-武警医学院学报2008, 17(5)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200806019.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806019.aspx)