

样品溶液,进样测定,计算,结果平均回收率为 99.8%,RSD 为 1.62%。

3.12 样品测定:取 3 个不同批号的结肠炎散 I 号粉末 25 mg,各 3 份,精密称定,制备供试品溶液,在上述色谱条件下进样,测定,采用外标法计算,结果见表 1。

表 1 结肠炎散 I 号中靛玉红的测定结果($n=3$)

Table 1 Indirubin in Jiechangyan Powder No. 1 ($n=3$)

批号	靛玉红/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	RSD/%
051012	323.3	1.52
051212	368.6	1.42
060512	294.7	1.48

4 讨论

五倍子的鉴别试验中,如完全按照《中国药典》2005 年版一部五倍子项下方法操作,样品的图谱有的斑点较浅,因此提取后放置过夜,而且采用 5%三氯化铁试液显色的方法^[2],才能使结肠炎散 I 号色谱中,在与对照品及对照药材色谱相应的位置上,显

相同的蓝黑色斑点。

青黛为本制剂处方中的君药,但靛蓝稳定性差,所以选择靛玉红作为测定的指标。因本法是反相色谱法,且靛玉红易溶解于氯仿、丙酮中,而在甲醇中溶解稍差,若单选择氯仿作溶剂,峰形会受影响,故综合靛玉红的提取及色谱分离两个因素,经比较试验,用甲醇-氯仿(8:2)作溶剂,不仅提取效果较好,色谱峰形也较好。

供试品提取方法的选择中进行了超声提取、回流提取两种提取方法比较^[3],结果在不同提取方法制备样品中靛玉红的质量分数基本不变,但超声提取杂质峰干扰小,提取时间短,操作简便故采用超声提取的方法。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 张贵君. 现代中药材商品通鉴[M]. 北京:中国中医出版社, 2001.
- [3] 罗晓健,张任,何雁. 八味锡类散质量标准的研究[J]. 中草药, 2006, 37(4): 537-539.

高效液相色谱分离纯化九节龙皂苷 I

李斐^{1,2},王晓娟^{1*},孙晓莉²,黄永刚³,王荣¹,常晓亮⁴

(1. 第四军医大学第三附属医院,陕西 西安 710032; 2. 第四军医大学 化学教研室,陕西 西安 710032;
3. 陕西盘龙制药有限公司,陕西 西安 710032; 4. 陕西中医学院 药学院,陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 采用制备色谱系统从九节龙皂苷粗品中分离纯化九节龙皂苷 I,建立其纯化工艺。方法 九节龙皂苷粗品采用柱色谱分离,然后采用制备色谱系统,收集对应峰的回收液,即得九节龙皂苷 I,并对产品进行了 TLC 定性和质量分数定量分析。结果 产品经 HPLC 检测,为九节龙皂苷 I,质量分数达 99% 以上。结论 用制备色谱系统进行九节龙皂苷 I 的分离和纯化,具有简便、快捷、周期短、自动化程度高、收集全面等优点。

关键词:九节龙;九节龙皂苷 I;制备高效液相色谱;分离;纯化

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1178-03

九节龙系紫金牛科紫金牛属植物川产九节龙 *Ardisia pusilla* A. DC. 的全草,有清热解毒、消肿止痛的功用,民间用于跌打损伤,活血通络,亦可用于蛇咬伤。九节龙全草中的九节龙皂苷 I 有抗肿瘤活性^[1]。药理实验表明九节龙皂苷 I 有明显增强巨噬细胞的吞噬活性和增加 SREC 数目,即有提高免疫功能的作用。对 S₁₈₀、ESC、B₁₆ 黑色素瘤有不同程度的抑制作用^[2,3]。由于九节龙皂苷中含有性质相近的五环三萜类成分,相对分子质量相差不大,因此对

于单体的分离具有很大的难度。采用传统的分离纯化方法,难以获得高质量分数的单体,本研究采用制备色谱系统,根据目标产物九节龙皂苷 I 的性质特点,优化色谱条件进行分离纯化,并采用 HPLC 法进行质量分数测定,证实可获得高质量分数的九节龙皂苷 I,比其他的方法更先进、可靠,适用于工业化生产。

1 材料和与仪器

九节龙皂苷粗品由第四军医大学口腔医院药剂

收稿日期:2007-12-29

基金项目:陕西省科技攻关项目[2004K18-G3(1)]

作者简介:李斐(1983-),女,四川达州人,硕士,研究方向为药物化学。Tel: (029)84776189 E-mail: lifei19831226@163.com

* 通讯作者 王晓娟 Tel: (029)84776189 E-mail: wxjyh231@fmmu.edu.cn

科王晓娟主任提供,九节龙皂苷 I 对照品由第四军医大学口腔医院药剂科自制(已经过结构鉴定,质量分数为 99.8%),薄层色谱硅胶 H(青岛海洋化工有限公司制造),甲醇(色谱纯),高纯水,其他试剂均为分析纯,流动相及样品溶剂均经 0.45 μm 滤膜滤过,并用超声波脱气。

硅胶柱为带阀门玻璃柱,近阀门处内置沙板; Dionex HPLC 色谱仪, P680 HPLC 泵, UVD 170U 检测器, Chromeleon 工作站; 聚偏氟乙烯微孔滤膜(F 型); BT125D 电子分析天平(Sartorius 公司); LD5-10 离心机; DL-720 超声波仪器。

2 方法与结果

2.1 总皂苷粗品的质量评价

2.1.1 性状:本品为黑褐色块状固体,形状大小不一,光滑而稍有光泽,质硬,易碎,断面不整齐,具光泽,不易吸潮,气微,味涩。

2.1.2 质量控制:色谱条件:色谱柱为 Sinochrom ODS-BP (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(80:20);体积流量:1.0 mL/min,紫外检测波长:205 nm。

对照品溶液的制备:九节龙皂苷 I 对照品 1 mg,加甲醇制成含九节龙皂苷 I 1 mg/mL 的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取本品适量,研成粉末,精密称取 1 mg,加甲醇溶解,制成 1 mg/mL 的溶液,即得。

测定法:精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法和归一化法计算九节龙皂苷 I 的质量分数,结果质量分数均大于 38%。

2.2 九节龙皂苷 I 粗品的制备:称取 15 g 九节龙皂苷固体,研成粉末,用甲醇完全溶解,倒入 50 g 硅胶 H 中,搅拌均匀,于 70 $^{\circ}\text{C}$ 温度下蒸干,研细,备用。差量法称取硅胶 H 500 g 左右装柱,压实;将准备好的九节龙皂苷 I 备用样品铺于上方,压实;另外称取 50 g 硅胶于最上层,再次压实。以氯仿-甲醇-水(65:35:10)为展开剂,取下层溶液做洗脱剂,洗脱硅胶柱,得到的洗脱液用 TLC 跟踪,合并溶剂,旋转蒸发回收溶剂,得淡黄色九节龙皂苷 I 粗品粉末 9.05 g。称九节龙皂苷 I 粗品约 9 g,用流动相溶解并定容至 100 mL,超声处理 20 min,将滤液以 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,所得的粗品溶液用于分离纯化使用。

2.3 九节龙皂苷 I 的分离和纯化:色谱条件为色谱

柱(250 mm $\times$ 10.0 mm, Sinochrom ODS-BP 为柱填充料);流动相:甲醇-水(80:20);体积流量:1.5 mL/min;检测波长:205 nm;200 μL 定量进样环。手动进样,手动收集,制备色谱见图 1。把样品洗脱下来并进行收集,经旋转蒸发仪浓缩,蒸干,可得到白色粉末 4.97 g,九节龙皂苷 I 粗品回收率大于 55%。

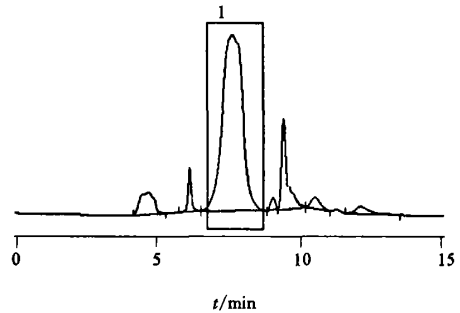


图 1 九节龙皂苷 I 的制备 HPLC 谱图

Fig. 1 Preparative HPLC chromatogram of ardisilloside I

2.4 九节龙皂苷 I 的薄层色谱定性鉴别:精密称取九节龙皂苷 I 对照品适量,加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。精密称取分离后产物适量,加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为供试品溶液。照《中国药典》2005 年版薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μL ,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(65:35:10)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇显色,在 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,见图 2。可以看出在这个收集峰样品和对照品相应位置上显相同颜色斑点,说明所收集峰的样品里面含有九节龙皂苷 I,初步判断此收集峰为目标峰。

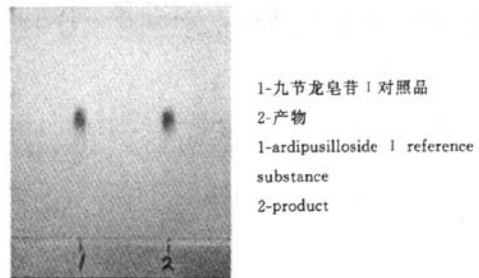


图 2 九节龙皂苷 I 的薄层色谱图

Fig. 2 TLC Chromatogram of ardisilloside I

2.5 样品的质量分数测定

2.5.1 色谱条件:色谱柱为 Sinochrom ODS-BP (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(80:

20); 体积流量: 1.0 mL/min; 紫外检测波长: 205 nm; 进样量为 20 μ L。

2.5.2 待测液的制备: 把制备所得样品用流动相定容于 100 mL 量瓶中, 超声处理 20 min, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5.3 测定法: 精密吸取待测液 20 μ L 注入高效液相色谱仪, 平行测定 5 次并取平均值, 结果九节龙皂苷 I 的保留时间为 11.968 min, 面积归一化定量确定产品质量分数大于 99%, 外标法定量确定产品质量分数为 99.3%, 色谱图见图 3。通过对制备色谱系统的色谱条件优化, 从九节龙皂苷 I 粗品中可分离出九节龙皂苷 I, 其质量分数达到了 99% 以上。从色谱图可以看出其分离度较好, 无杂质峰的干扰, 该方法适用于分离纯化九节龙皂苷 I 单体, 为工业化生产提供了依据。

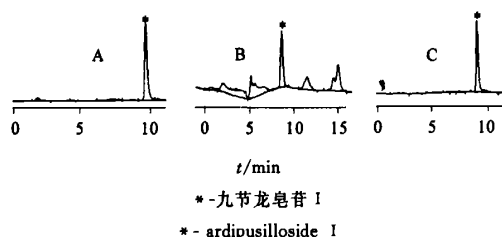


图3 九节龙皂苷 I 对照品(A)、粗品(B)和分离后产品(C)的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC Chromatograms of ardisiposilioside I reference substance (A), crude product (B), and isolated product (C)

3 讨论

本实验所用的技术是依托于制备色谱系统, 采用的是 Sinocrom ODS-BP 为填充剂, 即反向技术。

分离皂苷一般均使用阳离子柱色谱以及重结晶技术, 但是运用柱色谱以及重结晶技术进行分离的时候, 因为九节龙总皂苷中有性质相近的九节龙皂苷 I, 较难分离出来, 而且柱色谱和重结晶需反复操作, 相当麻烦, 且耗时长, 不利于工业化生产。而本法具有简便、快捷、科学、周期短、改良后自动化程度高、收集全面等优点, 而且样品质量分数高, 为工业化的生产奠定了基础。

在实验条件的摸索中发现当增大体积流量时, 九节龙皂苷 I 的保留时间会提前, 但是分离度也随之降低, 而且检测系统的压力也随之增大, 而减小体积流量后虽然分离较好, 但峰变宽且保留时间变长, 因此选择了 1.5 mL/min 的体积流量既使保留时间缩短又能达到良好的分离度。

在流动相选择方面, 在考察了多种溶剂以及化合物本身的性质后, 最终选择了甲醇和水的混合体系作为流动相, 然而在选择水-甲醇比例时发现, 当水-甲醇比例大于 20:80 时对色谱柱造成的压力相当大, 很容易堵塞柱子, 当水-甲醇溶液的比例小于 20:80 时, 样品的分离度又不好, 因此最终确定 20:80 的比例。

参考文献:

- [1] 王晓娟, 张清华. 毛茎紫金牛(九节龙)化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(3): 38-39.
- [2] 陶小军, 龙静雯, 贺建宇, 等. 九节龙皂苷 I 的抗肿瘤作用和免疫调节作用[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(9): 1070-1073.
- [3] 张清华, 王晓娟, 缪振春, 等. 川产九节龙皂苷的化学反应[J]. 药学报, 1993, 28(9): 673-678.

牛膝不同炮制品中多糖的测定

林肖惠^{1,2}, 刘 鹏¹, 徐为人¹, 汤立达³

- (1. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193; 2. 天津大学 药物科学与技术学院, 天津 300072; 3. 天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193)

摘要:目的 探讨不同炮制方法对牛膝中多糖的影响。方法 采用苯酚-硫酸法测定牛膝不同炮制品中多糖, 比较各炮制品中多糖的差异。结果 牛膝酒制品、盐制品、牛膝炭和生品中多糖分别为 9.06%、8.20%、4.88%、6.05%。以酒制品中的多糖最多, 牛膝炭中多糖最少。结论 不同炮制方法能够影响牛膝中多糖。

关键词:牛膝; 炮制品; 多糖; 苯酚-硫酸法

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2008)08-1180-03

收稿日期: 2008-01-30

基金项目: 天津市应用基础研究计划项目(06YFJZJC02800)

作者简介: 林肖惠(1984—), 女, 硕士研究生。Tel: 13821613202 E-mail: 8214143@163.com

高效液相色谱分离纯化九节龙皂苷I

作者：[李斐](#), [王晓娟](#), [孙晓莉](#), [黄永刚](#), [王荣](#), [常晓亮](#)
作者单位：[李斐\(第四军医大学第三附属医院, 陕西西安, 710032; 第四军医大学化学教研室, 陕西西安, 710032\)](#), [王晓娟, 王荣\(第四军医大学第三附属医院, 陕西西安, 710032\)](#), [孙晓莉\(第四军医大学化学教研室, 陕西西安, 710032\)](#), [黄永刚\(陕西盘龙制药有限公司, 陕西西安, 710032\)](#), [常晓亮\(陕西中医学院药理学系, 陕西咸阳, 712046\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(8)

参考文献(3条)

1. [王晓娟;张清华](#) [毛茎紫金牛\(九节龙\)化学成分的研究](#) 1990(03)
2. [陶小军;龙静雯;贺建宇](#) [九节龙皂苷I的抗肿瘤作用和免疫调节作用](#)[期刊论文]-[中国药理学通报](#) 2005(09)
3. [张清华;王晓娟;缪振春](#) [川产九节龙皂甙的化学研究](#) 1993(09)

本文读者也读过(10条)

1. [蒋伟哲](#), [莫长林](#), [黄兴振](#), [凌玲](#), [JIANG Wei-zhe](#), [MO Chang-lin](#), [HUANG Xing-zhen](#), [LING Ling](#) [制备色谱系统从岩黄连中分离岩黄连碱](#)[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37(7)
2. [雷宇佳](#), [高明哲](#), [王莉](#), [肖红斌](#), [LEI Yujia](#), [GAO Mingzhe](#), [WANG Li](#), [XIAO Hongbin](#) [制备型高效液相色谱法分离纯化川西獐牙菜提取物中的龙胆苦苷](#)[期刊论文]-[色谱](#)2010, 28(9)
3. [刘布鸣](#), [马彦](#), [冯可荣](#), [黄艳](#), [王廷伟](#), [林霄](#), [莫建光](#), [LIU Bu-ming](#), [MA Yan](#), [FENG Ke-rong](#), [HUANG Yan](#), [WANG Ting-wei](#), [LIN Xiao](#), [MO Jian-guang](#) [制备高效液相色谱分离纯化系统的研制与开发](#)[期刊论文]-[广西科学院学报](#) 2010, 26(3)
4. [顾维](#), [楼凤昌](#), [沈晓兰](#), [GU Wei](#), [LOU Feng-chang](#), [SHEN Xiao-lan](#) [大孔树脂纯化薤白总皂苷的研究](#)[期刊论文]-[药学与临床研究](#)2009, 17(6)
5. [汪维云](#), [焦晴晴](#) [制备色谱纯化何首乌活性成分二苯乙烯苷](#)[会议论文]-2009
6. [王兰](#), [张鉴](#) [RP-HPLC制备色谱法分离栀子苷单体](#)[期刊论文]-[中成药](#)2003, 25(9)
7. [王瑜](#), [薛敏](#), [孟子晖](#), [张维冰](#) [莽草酸分子印迹聚合物的制备及其低压制备色谱研究](#)[会议论文]-2010
8. [张世东](#), [王健建](#), [王霞](#), [高丽娟](#), [Zhang Shidong](#), [Wang Jianjian](#), [Wang Xia](#), [Gao Lijuan](#) [玉米须单体成分纯化及类别鉴定](#)[期刊论文]-[福建分析测试](#)2007, 16(3)
9. [王传金](#), [魏运洋](#), [吕晶](#), [杜杨艳](#), [WANG Chuan-jin](#), [WEI Yun-yang](#), [L\(U\) Jing](#), [DU Yang-yan](#) [制备型高效液相色谱法分离冬凌草中冬凌草甲素](#)[期刊论文]-[精细化工](#)2007, 24(7)
10. [李肇奖](#), [吕晓玲](#), [仇勇](#) [D4020大孔吸附树脂纯化油茶皂苷研究](#)[期刊论文]-[粮食与油脂](#)2004(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808022.aspx