

图 3 洗脱曲线

Fig 3 Elution curve

用乙腈-水(37 : 63)溶解, 1.00 mL 定容, 得产品供试液, 进样 20.0 μ L 进行分析, 该产品所含目标物的保留时间(10.791 min)与朱砂根皂苷对照品的保留时间(10.795 min)一致, 外标法测得其质量分数为 95.4% ($n=6$)。采用乙腈-水(37 : 63)、(35 : 65)、(32 : 68)洗脱系统, 分别进样 20.0 μ L 产品供试液, HPLC 面积归一法测得质量分数为 96.4% ($n=6$), 见图 4。

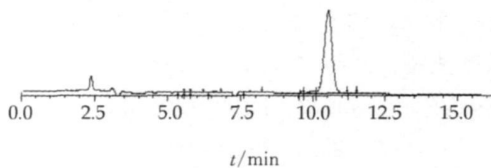


图 4 朱砂根皂苷的色谱图

Fig 4 Chromatogram of ardicrenin

3 讨论

制备色谱流动相的选择: 以反相高效液相色谱法测定朱砂根提取液中朱砂根皂苷的色谱图为依据进行分析, 朱砂根皂苷的色谱峰独立, 目标峰前后物质相距较远, 为用反相柱制备朱砂根皂苷提供了很好的条件。制备色谱流动相选择了甲醇-水体系。在该体系中, 调整甲醇的比例, 可以控制目标物的保留时间,

甲醇的比例越小, 目标物的保留时间越长。考虑到乙腈有较大毒性, 制备色谱未使用乙腈作流动相。

制备色谱的条件建立和洗脱液的检测: 通过预试验得知, 在甲醇-水体系中, 甲醇比例在 50% 以内, 目标物保留时间较长, 甲醇比例在 70% 以上, 目标物保留时间较短。根据这一性质, 确定两个阶段的梯度洗脱程序, 70% 甲醇洗脱之前阶段, 主要分离极性杂质, 使目标物保留; 70% 甲醇洗脱之后阶段阶段, 主要分离极性与目标物接近的成分, 从洗脱曲线得知, 在该阶段 2~4 min 收集的馏分, 经 HPLC 检测, 为高质量分数的目标物馏分。

由于朱砂根皂苷的吸光系数较小, 最大吸收波长为 205 nm, 甲醇的截止波长为 210 nm, 这就使得紫外检测难以在线进行, 因此, 采用柱后分段收集, HPLC 检测。

利用反相制备色谱对朱砂根皂苷进行了制备分离。通过一次分离, 可得朱砂根皂苷单体。整个过程, 用时短, 效率高, 分离效果好, 可连续进样制备。本文提供的朱砂根皂苷制备方法, 作为提供朱砂根皂苷对照品有较好的参考价值。

参考文献:

- [1] Wang M T, Guan X G, Hua X U, et al. A new triterpenoid saponin from *Ardisia crenata* [J]. *Planta Med.* 1992, 58(2): 205-206
- [2] 甄 铨, 蒲尚饶, 马明东, 等. 反相高效液相色谱法测定朱砂根中朱砂根皂苷 [J]. *色谱*, 2007, 25(6): 944-945
- [3] Plohmann B, Bader G, Hiller K, et al. Immunomodulatory and antitumoral effects of triterpenoid saponins [J]. *Pharmazie*, 1997, 52(12): 953-955
- [4] 梁克明, 王四旺, 王晓娟. 九节龙皂甙对 8 株人癌细胞的抑制作用 [J]. *第四军医大学学报*, 2001, 22(7): 671-673
- [5] 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): 1070-1072
- [6] Piacente S, Pizza C, de Tommasi N, et al. Constituents of *Ardisia japonica* and their *in vitro* anti-HIV activity [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59(6): 565-566
- [7] 尤晓宏, 鱼红闪, 金凤雯. 朱砂根皂苷的提取 [J]. *大连轻工业学院学报*, 2006, 25(1): 23-24

全鹿丸的质量标准研究

郑 成^{1,2}, 姚彤炜¹, 向智敏^{2*}

(1 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310080; 2 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004)

摘要: 目的 制定全鹿丸的质量标准。方法 采用薄层色谱法对方中的甘草、五味子、陈皮进行定性鉴别; 采用反相高效液相色谱法测定补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素。结果 薄层色谱鉴别特征明显、专属性强; 补骨脂素和

* 收稿日期: 2008-11-25

作者简介: 郑 成(1978-), 男, 浙江温州人, 主管中药师, 2001 年毕业于沈阳药科大学中药学专业, 现为浙江大学硕士研究生, 主要从事中药的质量标准研究工作。Tel: (0571)86459425 E-mail: joeff20@yahoo.com.cn

异补骨脂素分别在 9 75 ~ 195 00 ng、9 17 ~ 183 40 ng 与峰面积有良好线性关系, 平均回收率 102 6%、101 5%。

结论 建立了全鹿丸的质量标准, 定性和定量方法可靠、实用。

关键词: 全鹿丸; 甘草; 五味子; 陈皮; 补骨脂素; 异补骨脂素; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R286 02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2009)06-0900-04

全鹿丸原标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第1册, 由全鹿干、甘草、五味子、补骨脂等 32 味中药制成, 具有补肾填神, 益气培元的功效。原标准无鉴别项和测定项。按国家药品标准提高行动计划中成药品种增修订项目任务的要求, 本实验对该标准进行提高, 增加甘草、五味子、陈皮的薄层色谱鉴别, 同时还采用了反相高效液相色谱法测定样品中补骨脂素和异补骨脂素。

1 仪器与试药

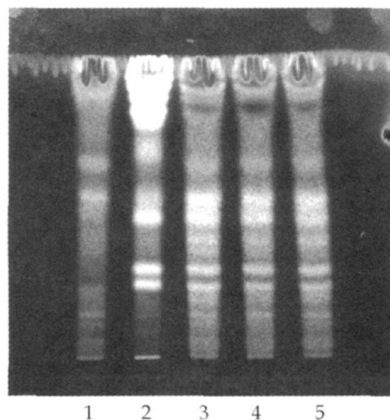
Agilent 1200 型液相色谱仪, TU-1901 普析通用紫外分光光度仪; Mettler 240 型电子分析天平。

甘草(批号 120904-200511)、五味子(批号 120922-200505)、陈皮(批号 120969-200507)对照药材, 补骨脂素(批号 110739-200511)、异补骨脂素(批号 110738-200511)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。薄层色谱用硅胶 G 板(青岛海洋化工厂), 中性氧化铝(200 ~ 300 目, 国药集团化学试剂有限公司)。全鹿丸(杭州胡庆余堂药业公司提供, 水蜜丸)批号为 050802、051103、060401。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 甘草的薄层色谱鉴别: 取本品 15 g, 研细, 加甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液加于中性氧化铝柱(200 ~ 300 目, 2 g, 内径 1 cm)上, 收集洗脱液, 再以甲醇 10 mL 洗脱, 合并两次洗脱液, 蒸干, 残渣加水 30 mL 溶解, 加醋酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 30 mL, 合并醋酸乙酯提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。另取甘草对照药材 0.5 g, 加甲醇 20 mL, 同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 1 μ L, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15 : 1 : 1 : 2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 于 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(UV 365 nm)下检视, 结果见图 1。可见供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

2.2 五味子的薄层色谱鉴别: 取本品 10 g, 研细, 加醋酸乙酯 50 mL, 回流处理 40 min, 滤过, 滤液挥至近干, 加中性氧化铝柱(200 ~ 300 目)1.5 g, 充分搅



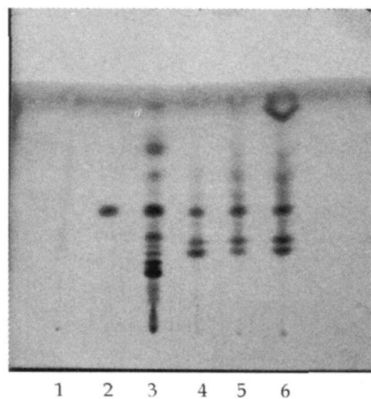
1-缺甘草阴性样品 2-甘草对照药材 3~5-全鹿丸
1-negative sample without *Radix Glycyrrhizae* 2-*Radix Glycyrrhizae* reference medicinal material 3-5-Quanlu Pills

图 1 全鹿丸中甘草的薄层色谱图

Fig 1 TLC Chromatogram of *Radix Glycyrrhizae* in Quanlu Pills

拌, 挥干, 加于中性氧化铝柱(200 ~ 300 目, 15 g, 内径 1.5 cm)上, 以石油醚(30 ~ 60 $^{\circ}$ C)50 mL 洗脱, 弃去洗液, 再用三氯甲烷 30 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。另取五味子对照药材 1 g, 加醋酸乙酯 30 mL, 同法制成对照药材溶液。另取五味子乙素对照品, 加三氯甲烷制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30 ~ 60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15 : 5 : 1)上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(UV 254 nm)下检视, 结果见图 2。可见供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

2.3 陈皮的薄层色谱鉴别: 取本品 3 g, 研细, 加乙醚 30 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 取滤渣及残渣, 挥去乙醚, 加丙酮 30 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取陈皮对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇-水(155 : 405 : 225 : 10)10 $^{\circ}$ C 以下下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(UV 254 nm)下检视, 结果见图 3。可见供试品色谱中, 在与对照品色

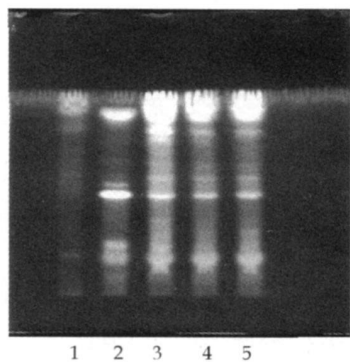


1-缺五味子阴性样品 2-五味子乙素 3-五味子对照药材
4~6-全鹿丸

1-negative sample without *Fructus Schisandrae*
2- γ -schisandrin 3-*Fructus Schisandrae*
reference medicinal material 4-6-Quanlu Pills

图2 全鹿丸中五味子的薄层色谱图

Fig. 2 TLC Chromatogram of *Fructus Schisandrae* in Quanlu Pills



1-缺陈皮阴性样品 2-陈皮对照药材 3~5-全鹿丸

1-negative sample without *Pericarpium Citri Reticulatae*
2-*Pericarpium Citri Reticulatae* reference medicinal material
3-5-Quanlu Pills

图3 全鹿丸中陈皮的薄层色谱图

Fig. 3 TLC Chromatogram of *Pericarpium Citri Reticulatae* in Quanlu Pills

3 补骨脂素和异补骨脂素的测定

谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

3.1 色谱条件: Dikma C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (30 : 70); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 246 nm; 柱温: 30 °C; 进样量 10 μL。

3.2 对照品溶液的制备: 精密称取补骨脂素和异补骨脂素对照品各 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 作为对照品储备溶液。取对照品储备溶液适量, 加甲醇稀释制成 2 μg/mL 的对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备: 取本品, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50

kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

3.4 阴性样品溶液的制备: 取缺补骨脂阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性样品溶液。

3.5 专属性试验: 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液, 注入液相色谱仪, 结果见图 4。补骨脂素的出峰时间为 20 min, 异补骨脂素的出峰时间为 22.1 min, 理论板数分别为 9 200、9 400, 阴性样品对主峰无干扰。

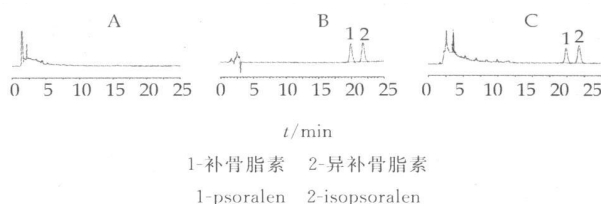


图4 阴性样品(A)、对照品(B)和全鹿丸(C)的 HPLC 色图谱

Fig. 4 HPLC Chromatograms of negative sample (A), reference substances (B), and Quanlu Pills (C)

3.6 标准曲线的制备: 精密吸取补骨脂素、异补骨脂素对照品储备液 (质量浓度分别为 9.75、9.17 μg/mL) 适量, 分别稀释 0、1、2、5、10、20 倍, 进样 20 μL, 测定峰面积。以进样质量对峰面积进行线性回归, 得回归方程 $Y = 7.5333 X + 2.5212$, $r = 0.9999$ (补骨脂素); $Y = 7.4388 X + 1.8162$, $r = 0.9999$ (异补骨脂素)。补骨脂素和异补骨脂素分别在 9.75 ~ 195.0 ng、9.17 ~ 183.4 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

3.7 重现性试验: 取同一样品 (批号 051103) 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 测定补骨脂素和异补骨脂素平均质量分数分别为 0.10、0.11 mg/g, RSD 为 1.5%、1.4%。

3.8 精密度试验: 精密吸取供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定补骨脂素和异补骨脂素峰面积, 计算峰面积 RSD 分别为 1.1%、1.6%。

3.9 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 (批号 051103) 10 μL, 分别在制备后的 0、1、2、6、10、15、24 h 进样测定补骨脂素和异补骨脂素峰面积, 结果 RSD 分别为 1.4%、1.4%。

3.10 加样回收率试验: 精密称取同一样品 (批号 051103) 6 份, 每份 0.05 g, 精密加入一定量的补骨脂素和异补骨脂素对照品, 制备供试品溶液, 进行测定, 计算回收率, 结果补骨脂素、异补骨脂素平均回收率分别为 102.6%、101.5%, RSD 分别为 0.8%、1.7%。

3.11 样品测定: 取 3 批样品, 分别制备供试品溶

液,进行测定,结果见表1。根据测定结果,暂定本品含补骨脂以补骨脂素和异补骨脂素的总量计,不得少于0.15 mg/g。

表1 全鹿丸中补骨脂素和异补骨脂素的测定结果

Table 1 Determination of psoralen and isopsoralen

批号	补骨脂素/ (mg · g ⁻¹)	异补骨脂素/ (mg · g ⁻¹)	总量/ (mg · g ⁻¹)
050802	0.105	0.105	0.21
051103	0.102	0.105	0.21
060401	0.107	0.110	0.22

4 讨论

测定波长的选择:取补骨脂素、异补骨脂素对照品溶液(质量浓度分别为9.75 μg/mL、9.17 μg/mL),在200~400 nm波长扫描,结果均在246 nm

处有最大吸收,与现行版药典收载的补骨脂药材补骨脂素、异补骨脂素测定项的测定波长一致,故确定全鹿丸的测定波长为246 nm。

流动相的选择:曾采用乙腈-水(30:70)、乙腈-水(32:68)、甲醇-水(55:45)、甲醇-水(50:50)为流动相进行比较,结果乙腈-水系统分离效果较好,两者中以乙腈-水(30:70)为流动相是补骨脂素、异补骨脂素出峰时间较为合适。

不同色谱柱考察:取同一供试品(批号051103)溶液,分别比较了Agilent XDB C₁₈、Agilent Zorbax SB C₁₈、Sunfire C₁₈ 3种色谱柱对补骨脂素、异补骨脂素测定的影响,结果表明,不同厂家色谱柱对测定结果影响不大(RSD为2.0%)。

硫磺熏蒸对山药中尿囊素的影响

赵海霞^{1,2}, 刘伟^{1*}

(1. 康美药业股份有限公司博士后工作站, 广东 普宁 515341; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

摘要:目的 探讨硫磺熏蒸对山药中尿囊素的影响。方法 以尿囊素为指标,选择硫磺用量、熏蒸时间、熏蒸次数3个因素,用L₉(3⁴)正交试验表,考察不同熏蒸工艺尿囊素的量并与未熏蒸山药进行比较。结果 硫磺用量为100 g/m³,熏蒸1次,熏蒸2 h,尿囊素的量最高。结论 不同熏蒸工艺对山药中尿囊素有一定影响,且有随硫磺用量增加、熏蒸时间延长、次数增加而减少的趋势。

关键词:山药; 硫磺熏蒸; 尿囊素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2009)06-0903-02

山药为薯蓣科多年生宿根蔓草植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎,具有补脾养胃、生津益肺、补肾涩精的功效,临床常用于脾虚食少、久泻不止、肺虚喘咳、肾虚遗精、带下尿频、虚热消渴等症。山药含有多种化学成分,尿囊素是山药的活性成分之一。尿囊素具有修复上皮组织,促进皮肤溃疡和伤口愈合,具有生肌作用,可用于胃及十二指肠溃疡等^[1]。山药在加工处理过程中,须经硫磺熏蒸以利于贮存保质。但硫磺具一定毒性,且中药熏蒸会破坏或改变方剂的功效,并破坏其化学成分。为保证临床用药的质量,本实验以尿囊素为指标,就硫磺熏蒸山药的影响因素进行了探讨。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Agilent 二元泵 DAD 检测器。

尿囊素对照品购自中国药品生物制品检定所,批号1501-200001; 甲醇为色谱纯,水为自制重蒸水,硫磺为药用硫磺; 山药购自普宁药材市场,经国家中药现代化工程技术中心曹晖教授鉴定为薯蓣科植物薯蓣 *D. opposita* Thunb. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 硫磺熏制的山药样品的制备:采用不锈钢材料自制熏箱,熏箱内容积为0.5 m³,内设2层网状隔板,熏箱顶部安装一小型排风扇,底部留一观察窗。实验时,将500 g 山药饮片均匀摆放在网状隔板上,称取规定量药用硫磺置于搪瓷盘中,并放入熏箱底部,点燃硫磺,关闭熏箱门及排风扇,待硫磺形成明显蓝色火焰时,用胶带将熏箱门封闭。熏至规定时间后,打开排风扇抽气1 h,开启熏箱门。

2.2 尿囊素的测定方法的建立^[2]

* 收稿日期: 2008-11-24

作者简介: 赵海霞(1965-),女,山东威海人,副主任药师,博士,研究方向: 中药新药开发及中药炮制原理的研究。

Tel: 13793188011 E-mail: zhao hx1115@126.com