

2.7 稳定性试验: 吸取新配制的供试品溶液(批号 20071016)1 份, 分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样, 测定 6-姜酚、6-姜醇的峰面积, 结果其 RSD 分别为 1.56%、1.41%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 分别精密吸取装量差异项下的批号 20071016 本品约 20 mL, 平行 5 份, 精密加入含 6-姜酚 1.498 mg/mL, 6-姜醇 498 μ g/mL 的混合对照品储备液 5.0 mL, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行 HPLC 测定, 计算回收率, 结果 6-姜酚的平均回收率为 99.82%, RSD 为 1.40%; 6-姜醇的平均回收率为 100.30%, RSD 为 1.44%。

2.9 样品测定: 取不同批号的小半夏汤制备供试品溶液。分别取供试品溶液和对照品溶液各 10 μ L 进样测定, 以外标一点法计算质量浓度, 结果见表 1。

3 讨论

由于 6-姜酚、6-姜醇在水中的溶解度很小, 而在醚中和醇中的溶解度较大。因此在制备供试品溶液时, 试验采用乙醚作为萃取溶剂。萃取过程中发现, 用等量乙醚萃取两次即能将该两种成分提取完全。

表 1 小半夏汤中 6-姜酚、6-姜醇的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of 6-gingerol and 6-shogaol in Xiaobanxia Decoction ($n=3$)

批号	6-姜酚/(mg $\cdot$ mL $^{-1}$)	6-姜醇/(mg $\cdot$ mL $^{-1}$)
20071016	0.372 1	0.122 5
20071018	0.403 2	0.119 3
20071022	0.356 8	0.126 5

目前对于小半夏汤中有效成分的研究不多。本实验采用 HPLC 法对其中的主要活性物质 6-姜酚、6-姜醇进行测定, 为全面研究小半夏汤提供参考, 也为中药复方研究做了一些初步的探索。

参考文献:

- [1] 陈多, 吴春福, 宁卓, 等. 小半夏汤对小鼠小肠推进运动的影响[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(2): 6-8
- [2] 张科卫, 梅阳, 吕爱娟, 等. 小半夏汤 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1493-1495
- [3] Abdel-Aziz H, Windeck T, Ploch M, *et al*. Mode of action of gingerols and shogaols on 5-HT₃ receptors: Binding studies, cation uptake by the receptor channel and contraction of isolated guinea pig ileum [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 530: 136-145

HPLC 法测定厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明和厚朴酚

唐倩, 石珊, 赵云丽, 高晓霞, 王新桃, 于治国*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立同时测定厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明及厚朴酚的反相高效液相色谱法。方法 Scienhome C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸水溶液(75:25); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长: 294 nm; 进样量: 10 μ L, 按外标法计算。结果 在上述条件下, 山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚分别在 1.14~22.8、0.9~18.0、0.16~3.2、1.9~38 μ g/mL 呈良好的线性关系, 加样回收率分别为 97.7%~100.3%、97.3%~98.7%、90.0%~100.0%、98.6%~99.3%。结论 该方法简便、快速、准确, 可作为厚朴温中汤质量控制的有效方法。

关键词: 厚朴温中汤; 山姜素; 和厚朴酚; 小豆蔻明; 厚朴酚; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)10-1581-03

厚朴温中汤源于《内外伤辨惑论》, 由厚朴、陈皮、甘草、茯苓、草豆蔻、木香、干姜组成, 温中行气, 燥湿除满, 主治脾胃伤于寒湿, 脘腹胀满或疼痛, 不思饮食, 四肢倦怠等症。方中君药厚朴具有下气除满、燥湿消痰功效, 主要成分和厚朴酚与厚朴酚具有镇痛抑菌、抗炎、抗肿瘤等广泛的药理作用^[1,2]。草豆蔻燥湿健脾、温胃止呕^[3], 主要成分小豆蔻明、山姜素能够抗菌、止呕、健脾^[3,4]。现代药理学研究表

明厚朴温中汤用于治疗胃肠痉挛, 十二指肠溃疡, 病毒性肝炎等症具有明显疗效^[5,6]。目前有关其质量控制方面研究报道较少, 且定量指标仅限于厚朴^[7]。本实验以和厚朴酚、厚朴酚、小豆蔻明和山姜素为指标性成分进行了同时测定, 可以更全面、有效地控制厚朴温中汤质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津公司), 包括 LC—

* 收稿日期: 2008-12-19

作者简介: 唐倩(1981—), 女, 辽宁沈阳人, 沈阳药科大学药物分析专业硕士研究生, 主要从事中药复方的质量控制研究及药动学研究。Tel: (024) 23986295 E-mail: tangqian8111@163.com

* 通讯作者: 于治国 Tel: (024) 23986295 E-mail: zhiguo-yu@163.com

10ATvp 输液泵, SPD-10Ivp 可变波长紫外检测器; TA-130 柱温箱(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); ANASTAR 色谱数据处理系统。

甲醇(色谱纯), 二次蒸馏水(自制), 冰醋酸(分析纯); 山姜素(批号 762-9001)、小豆蔻明(批号 763-9001)、厚朴酚(批号 729-9204)、和厚朴酚(批号 0730-9204)对照品均购于中国药品生物制品检定所; 厚朴、陈皮、草豆蔻、木香、甘草、茯苓、干姜药材均购于沈阳成大方圆连锁药店, 经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Scienhome C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸水溶液(75 : 25); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 294 nm; 进样量: 10 μL。

2.2 对照品储备液的制备: 精密称取山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚对照品适量, 加甲醇分别制成质量浓度分别为 1.1、0.75、0.5、1.4 μg/mL 的溶液, 即得对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备: 按厚朴温中汤处方量 1/6 精密称取厚朴(5 g)、陈皮(5 g)、甘草(2.5 g)、茯苓(2.5 g)、草豆蔻(2.5 g)、木香(2.5 g)、干姜(0.3 g), 水煎 2 h, 煎煮两次, 合并煎液, 滤过浓缩, 制成浸膏。

取经 40 °C 干燥的厚朴温中汤浸膏粉末(过 80 目筛)约 0.5 g(相当于总药材 2 g), 精密称定, 置圆

底烧瓶中, 精密加入甲醇溶液 25 mL, 回流提取 0.5 h, 放冷, 称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性溶液的制备: 按厚朴温中汤处方量 1/6 精密称取全方中不含厚朴或草豆蔻的其他 6 味药材, 按供试品溶液的制备项下方法操作, 制备阴性对照溶液。

2.5 标准曲线的制备: 取对照品储备液适量, 加甲醇制成质量浓度为山姜素 0.114 μg/mL、和厚朴酚 0.09 μg/mL、小豆蔻明 0.016 μg/mL、厚朴酚 0.190 μg/mL 的对照品溶液。精密量取该溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别进样 10 μL, 测定峰面积值。以质量浓度(X)为横坐标, 色谱峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得山姜素回归方程为: $Y = 2.27 \times 10^4 X - 419$ ($r = 0.9993$), 和厚朴酚回归方程为 $Y = 1.79 \times 10^4 X - 272$ ($r = 0.9991$), 小豆蔻明回归方程为 $Y = 3.79 \times 10^4 X - 414$ ($r = 0.9998$), 厚朴酚回归方程为 $Y = 1.19 \times 10^4 X - 494$ ($r = 0.9992$)。结果表明山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚分别在 1.14 ~ 22.8、0.9 ~ 18、0.16 ~ 3.2、1.9 ~ 38 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.6 专属性试验: 取厚朴温中汤、对照品、缺厚朴和草豆蔻阴性对照进样测定, 结果其他药材并不干扰该成分的测定, 见图 1。

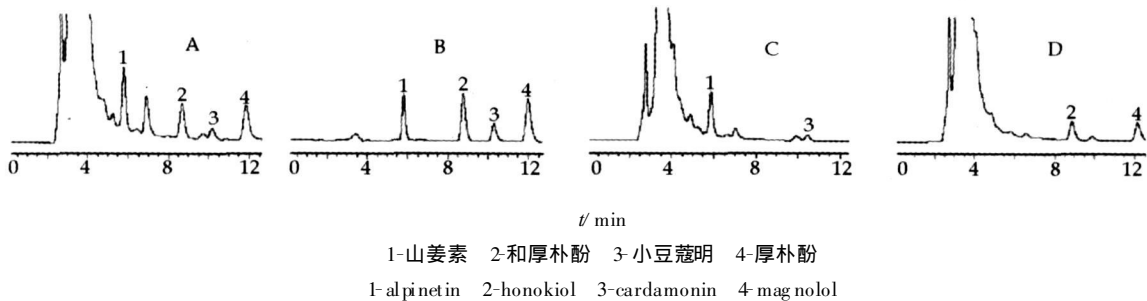


图1 厚朴温中汤(A)、对照品(B)、缺厚朴阴性对照(C)和缺草豆蔻阴性对照(D)HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of Houpu Wenzhong Decoction (A), reference substances (B), negative sample without *Cortex Magnolia Officinalis* (C), and sample without *Semen Alpinie Katsumadai* (D)

2.7 精密度试验: 精密吸取同一供试品溶液(01批)10 μL, 重复进样 6 次, 记录色谱图, 测定峰面积, 计算 RSD, 结果山姜素 RSD 为 1.9%, 和厚朴酚 RSD 为 1.1%, 小豆蔻明 RSD 为 1.3%, 厚朴酚 RSD 分为 1.1%。

2.8 重现性试验: 取同一批样品(01批)6 份, 制备供试品溶液, 测定有效成分的质量分数(按总药材计), 结果山姜素平均质量分数为 0.224 μg/mg, 和厚朴酚平均质量分数为 0.145 μg/mg, 小豆蔻明平

均质量分数为 0.010 μg/mg, 厚朴酚平均质量分数为 0.278 μg/mg。其 RSD 均小于 2%。

2.9 稳定性试验: 取新制备的同一份供试品(01批)溶液, 分别在室温放置 0、1、2、4、8、12 h 时进样, 记录色谱图, 测定峰面积, 计算 RSD, 结果得山姜素 RSD 为 1.0%, 和厚朴酚 RSD 为 1.8%, 小豆蔻明 RSD 为 1.5%, 厚朴酚 RSD 为 1.9%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验: 称取 01 批样品 9 份, 每份

0.25 g, 精密称定, 分别精密加入含山姜素 0.220 $\mu\text{g/mL}$ 、和厚朴酚 0.150 $\mu\text{g/mL}$ 、小豆蔻明 0.010 $\mu\text{g/mL}$ 、厚朴酚 0.280 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液 0.5、1.0、1.5 mL, 每个样品平行 3 份, 制备供试品溶液。在上述色谱条件下进行分析, 计算山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚的质量分数, 根据加入量计算回收率, 结果加样回收率分别为 97.7% ~ 100.3%、97.3% ~ 98.7%、90.0% ~ 100.0%、98.6% ~ 99.3%, RSD 分别为 1.4%、1.5%、4.3%、0.8%。

2.11 样品测定: 取 3 批厚朴温中汤浸膏样品, 制备供试品溶液, 取供试品溶液 10 μL 进样分析, 按外标法计算, 得相当于每 1 g 总药材的厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚的质量分数, 结果见表 1。

表 1 厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明与厚朴酚的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of alpinetin, honokiol, cardamomin, and magnolol in Houpu Wenzhong Decoction ($n=3$)

批号	山姜素/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	和厚朴酚/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	小豆蔻明/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	厚朴酚/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
01	0.224	0.145	0.010	0.278
02	0.226	0.143	0.012	0.286
03	0.230	0.148	0.009	0.290

3 讨论

3.1 流动相的选择: 分别用甲醇-水、甲醇-水-醋酸、乙腈-水、乙腈-水-醋酸以不同的比例进行考察, 结果表明采用甲醇-水-醋酸系统所得色谱峰峰形良好, 保留时间适宜, 可达到理想的分离度。

3.2 检测波长的选择: 厚朴酚与和厚朴酚的最大吸收为 294 nm, 山姜素的最大吸收 286 nm, 小豆蔻明的最大吸收为 346 nm, 在 294 nm 也有较灵敏的吸收。因此选择 294 nm 可同时测定 4 种成分。

3.3 柱温的选择: 分别选择了 20、25、30 $^{\circ}\text{C}$ 柱温进行比较, 通过对比各种柱温的色谱图发现在 25 $^{\circ}\text{C}$ 的柱温下有较好的峰形。所以选择了 25 $^{\circ}\text{C}$ 的柱温进行 HPLC 分析。

3.4 样品提取条件的选择: 采用回流提取法, 考察了水、不同体积分数的甲醇、乙醇作为提取溶剂时 4 种成分的提取结果, 发现以甲醇为提取溶剂时提取率较高, 分离效果较好, 故采用甲醇为提取溶剂。考察了超声法、回流提取法, 发现回流提取 0.5 h 效果较好, 且操作简单, 节省时间, 故选择该提取方法。

参考文献:

- [1] 王立青, 江荣高, 陈惠芳. 厚朴酚与和厚朴酚药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36 (10): 1591-1594
- [2] 陈泉生. 厚朴的活性成分厚朴酚 (Magnolol) 对胃液分泌及实验性溃疡的作用 [J]. 国外医药: 植物药分册, 1981, 3: 38
- [3] Lee S E, Shin H T, Hwang H J, *et al*. Antioxidant activity of extracts from *Alpinia katsumadai* seed [J]. *Phytother Res*, 2003, 17(9): 1041-1047
- [4] Syahida A A, Daud A. Cardamomin, inhibits pro-inflammatory mediators in activated RAW 264.7 cells and whole blood [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 538: 188-194
- [5] 阎明熙. 厚朴温中汤加味治愈顽固性十二指肠溃疡 [J]. 哈尔滨中医药, 1996(1): 66-68
- [6] 黄家瑜. 厚朴温中汤加味治疗慢性浅表性胃炎 [J]. 安徽中医临床杂志, 1997, 9 (2): 97-98
- [7] 干国平, 江 维, 刘焱文. 厚朴温中丸质量标准的研究 [J]. 中国药师, 2007, 10 (5): 438-440

HPLC 法测定安神颗粒中金丝桃苷和芦丁

兰 静*

(天津市药品审评中心, 天津 300070)

摘要: 目的 建立测定安神颗粒中金丝桃苷和芦丁的高效液相色谱法。方法 采用 Dimark 十八烷基键合硅胶色谱柱 (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 甲醇-1%冰醋酸 (28:72); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 359 nm; 进样量: 20 μL 。结果 金丝桃苷和芦丁在 2.246~5.242 $\mu\text{g/mL}$ 和 2.110~4.922 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系, r 分别为 0.9999 和 0.9998。平均回收率分别为 101.4%、99.9%。结论 用此法测定安神颗粒中金丝桃苷和芦丁简单易行, 结果准确。

关键词: 安神颗粒; 金丝桃苷; 芦丁; 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)10-1583-03

在国外贯叶金丝桃的研究主要集中在抗抑郁作用。安神颗粒采用以贯叶金丝桃为主药。贯叶金丝

桃中含有黄酮类化合物, 笔者拟采用亚硝酸钠-硝酸铝法测定总黄酮的量, 但因干扰较大, 在显色后 510

* 收稿日期: 2008-12-20

作者简介: 兰 静 (1980—), 女, 天津人, 主管药师, 硕士, 主要从事新药审评。Tel: (022) 60255283 E-mail: bluejing80@yahoo.com.cn