

表 5 生品、常压蒸、高压蒸样品中马钱苷、5-羟甲基糠醛的测定

Table 5 Determination of loganin and 5-HMF in processed products of Fructus Corni steamed at pressure and high pressure

样 品	马钱苷量/ %	5-羟甲基糠醛/ %
生品	0. 80	—
常压蒸制品	0. 63	0. 37
高压蒸制品	0. 72	0. 47

3 讨论

笔者另外进行了山茱萸不同炮制品对小鼠补益作用的实验研究。结果表明,常压蒸酒萸肉、高压蒸酒萸肉均能增强补益作用,两者的补益效果无显著性差异,但与同剂量的生品比较,两者补益作用均增强(另文发表)。采用高压蒸制法炮制山茱萸,操作简便,压力、时间、温度等便于控制,既提高了工作效率,又减少了药汁的损失。与常压蒸制方法相比,高

压酒蒸山茱萸的成分及药效均未发生明显变化,而高压蒸制明显降低了能耗,节约了时间。故此方法既不违背传统的炮制原理,又符合药材炮制的现代要求,可推广用于大规模生产。

参考文献:

- [1] 贾 岗,邵玉蓝,张 云,等. 山茱萸炮制历史沿革及现代研究[J]. 中草药,2009,40(增刊):69-71.
- [2] 余宗亮,蔡宝昌,丁 霞. 正交实验优选山茱萸炮制工艺[J]. 中药新药与临床药理,2006,17(2):135-137.
- [3] 呼海涛,张振凌. 酒蒸山萸肉炮制工艺研究[J]. 中外健康文摘,2007,4(12):1656-1657.
- [4] 刘 波,江崇湖,朱冬梅. 酒蒸山萸肉炮制工艺的研究[J]. 山东中医杂志,2007,26(9):634-635.
- [5] 宋 崎,周小初,宋 英,等. 正交设计法优化酒萸肉炮制工艺条件[J]. 上海中医药杂志,2008,42(6):85-87.
- [6] 丁 霞,王明艳,余宗亮,等. 山茱萸中 5-羟甲基糠醛的分离鉴定及生物活性研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(4):392-396.
- [7] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [8] 杜伟峰,蔡 皓,丁 霞,等. RP-HPLC 法测定山茱萸生品和酒制品中没食子酸、5-羟甲基糠醛、莫诺苷和马钱素[J]. 中草药,2008,39(12):1813-1815.

HPLC 法测定六味地黄片中马钱苷和丹皮酚

魏惠珍¹,邱伟华²,饶 毅^{1,2,*},陈银芳²,陈燕军²,杜艳龙¹

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院,江西 南昌 330006)

摘 要:目的 建立六味地黄片中马钱苷、丹皮酚的测定方法。方法 采用高效液相色谱法同时测定六味地黄片中马钱苷、丹皮酚。色谱条件: Hypersil ODS₂ C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4. 6mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水梯度洗脱; 检测波长: 238 nm。结果 马钱苷和丹皮酚的线性范围分别为 2. 47~988. 80 μg($r=0. 999\ 7$)、1. 58~633. 60 μg($r=0. 999\ 9$), 平均回收率分别为 100. 2%(RSD 为 2. 40%, $n=6$)、99. 80%(RSD 为 1. 56%, $n=6$)。结论 该方法操作简便、准确,重现性好,有利于提高六味地黄片制剂的质量控制水平。

关键词: 六味地黄片; 马钱苷; 丹皮酚; 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(2010)03-0405-03

在六味地黄方的所有剂型中,各剂型制备工艺差异较大,如蜜丸为六味药材粉末加炼蜜制丸而成,而片剂为山茱萸、茯苓、牡丹皮粉碎成细粉,熟地黄等其余 3 味药材水煎煮、浓缩成膏,与上述细粉混匀、制粒、压片成型。组成相同而剂型不同的六味地黄方其化学成分的种类和量必定存在差别^[1],而化学成分是其发挥疗效的物质基础,其中马钱苷具有增强机体免疫能力等生理活性,丹皮酚具有抗炎、镇痛、解痉等药理作用^[2]。六味地黄片为其剂型之一,中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第八册六味地黄片项下采用紫外分光光度法测定丹皮

酚,该法专属性不强。故本实验采用 HPLC 法进行六味地黄片中马钱苷和丹皮酚的同时测定,在现有质量标准的基础上增加了主要活性成分马钱苷的检测,实现了多个成分同时控制,进而完善六味地黄产品的质量控制系统,确保其疗效。

1 仪器与试药

Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters 2996 二极管阵列检测器(美国 Waters 公司); Empower 色谱工作站; Millipore 超纯水仪(Millipore 公司); AR5120 型电子分析天平(奥豪斯国际贸易(上海)有限公司); AB104 -N 型电子分析

①收稿日期: 2009-07-23

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(0640168)

作者简介: 魏惠珍(1965—),女,江西南昌人,副主任药师,硕士生导师,长期从事中药质量控制研究。

Tel: (0791) 7119651 Fax: (0791) 7119609 E-mail: weiwhizhen_101@126. com

*通讯作者 饶 毅 Tel: (0791) 7119609 E-mail: raoyi99@126. com

天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); AUW220D 型电子分析天平(日本岛津公司); KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇(上海振兴化工一厂,色谱纯),甲醇(上海振兴化工一厂,分析纯),Millipore 超纯水;马钱苷、丹皮酚对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号分别为 111640-200503、110708-200506;六味地黄片(吉林龙泰制药股份有限公司,批号 20060501;江

西济民可信药业有限公司,批号 070501、080101;规格:每 8 片相当于原药材 4.4 g)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:依利特 Hypersil ODS₂ C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温:室温;流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱程序为:0~10 min, 10%~15%A; 10~20 min, 15%~40%A; 20~25 min, 40%~40%A;检测波长:238 nm;体积流量:1 mL/min。对照品、阴性样品及六味地黄片的色谱图见图 1。

1-马钱苷 2-丹皮酚
1-loganin 2-paeonol

图 1 混合对照品(A)、缺山茱萸的阴性样品(B)、缺牡丹皮的阴性样品(C)和六味地黄片(D) HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), negative sample without Fructus Corni (B), negative sample without Cortex Moutan (C), and Liuwei Dihuang Pill (D)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取马钱苷、丹皮酚对照品各适量,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得含马钱苷 24.72 μg/mL、丹皮酚 15.84 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取质量差异项下的本品 20 片,除去糖衣,研细,取粉末约 0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz) 15 min,放冷,再称定质量,用 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备:按处方比例分别配制缺山茱萸、牡丹皮的阴性样品,按供试品溶液的制备项下方法制备阴性样品溶液。

2.5 线性关系的考察:精密吸取混合对照品溶液 1、5、8、10、15、20 μL 注入液相色谱仪,记录各色谱峰峰面积,以峰面积为纵坐标,进样质量为横坐标,绘制标准曲线,得两个成分的回归方程:马钱苷 $Y = 20408X - 4127.9$, $r = 0.9997$,线性范围:2.47~988.80 μg;丹皮酚 $Y = 26772X + 5498.1$, $r = 0.9999$,线性范围:1.58~633.60 μg。

2.6 精密度试验:取批号为 20060501 的同一供试品溶液 10 μL 进样,测定各成分的峰面积,重复 6 次,分别计算其 RSD,结果马钱苷和丹皮酚的 RSD 分别为 1.21%、0.76%。

2.7 稳定性试验:取批号为 20060501 的样品,制备供试品溶液,分别于 0、4、8、12、24 h 各取 10 μL 进

样测定各成分的峰面积,分别计算 RSD,结果马钱苷的 RSD 为 2.60%、丹皮酚的 RSD 为 1.58%,表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取批号为 20060501 的六味地黄片粉末约 0.8 g,共 6 份,精密称定,制备供试品溶液,测定,结果马钱苷质量分数的 RSD 为 1.80%、丹皮酚质量分数的 RSD 为 1.46%。

2.9 加样回收率试验:取批号 20060501 六味地黄片粉末 6 份,每份约 0.4 g,精密称定,分别精密加入 161.9 μg/mL 马钱苷对照品储备液和 306.9 μg/mL 丹皮酚对照品储备液各 1 mL,制备供试品溶液,测定,计算回收率,结果马钱苷和丹皮酚的平均回收率分别为 100.2%、99.8%;RSD 分别为 2.40%、1.56%。

2.10 样品测定:取 3 个批号的六味地黄片粉末约 0.8 g,精密称定,制备供试品溶液。分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪,采用外标法计算各成分平均质量分数,结果见表 1。

表 1 六味地黄片中马钱苷和丹皮酚的测定(n=3)

Table 1 Determination of loganin and paeonol in Liuwei Dihuang Pills (n=3)

批号	马钱苷/(mg·片 ⁻¹)	丹皮酚/(mg·片 ⁻¹)
20060501	0.19	0.35
070501	0.19	0.36
080101	0.18	0.36

3 讨论

3.1 检测波长的选择:经二极管阵列检测器分析,丹皮酚分别在 238、274 nm 处有吸收峰,而马钱苷仅在 238 nm 处有吸收峰,且在该波长下,两成分均有较大吸收,因此,选择波长 238 nm 测定本品中马钱苷、丹皮酚。

3.2 流动相的选择:《中国药典》2005 年版一部中六味地黄丸有关马钱苷的测定以含有四氢呋喃为流动相^[3],而四氢呋喃对反相色谱系统的柱塞密封圈有一定的腐蚀性,故本实验对马钱苷的色谱条件进行了系统的研究,发现其在以甲醇-水为流动相中可达到很好的分离,且可与丹皮酚在同一的流动相体系中测定,最后实现了二者的同时测定。

3.3 提取条件的筛选:本实验考察了超声和回流两

种提取方法,结果表明两种提取方法相当,因超声提取相对操作简单、方便,故确定以超声处理为本实验的提取方式。马钱苷为水溶性成分,而丹皮酚为脂溶性成分,进一步试验,考察不同提取溶剂(100%、80%、50%、30%甲醇),发现二者在 50%甲醇的条件下提取率最高,所以选择 50%甲醇作为提取溶剂。在此基础上,比较了不同的超声时间(10、15、30、45 min),结果表明超声时间对二者的提取率影响不大,可选择超声 15 min 提取马钱苷和丹皮酚。

参考文献:

- [1] 冯燕芹,王振中. HPLC 测定六味地黄丸(浓缩)中熊果酸的含量[J]. 中草药,1999,30(3):191-192.
- [2] 刘德军. 六味地黄丸现代研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2002.
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2005.

女贞子多糖除蛋白工艺的研究

万 琴¹, 萧 伟^{2*}, 王振中², 尚 强²

(1. 南京中医药大学,江苏 南京 210046; 2. 江苏康缘药业股份有限公司,江苏 连云港 222001)

摘要:目的 筛选女贞子多糖除蛋白的最佳工艺。方法 以除蛋白率和多糖损失率为指标,比较了 3 种不同的除蛋白方法(Sevag 法、三氯乙酸法和三氯乙酸-Sevag 法)的效果,并用正交试验优选出最佳工艺。结果 女贞子多糖除蛋白的最佳工艺为以 1 倍量 10%三氯乙酸溶液除蛋白 1 次,静置 2 h,离心。结论 优选出的除蛋白方法效果较好,为女贞子多糖的制备工艺的进一步研究提供了参考。

关键词:女贞子;多糖;除蛋白;正交试验

中图分类号:R284.2;R286.01

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)03-0407-04

女贞子为木犀科常绿乔木女贞 *Ligustrum lucidum* Ait 的干燥成熟果实,始载于《神农本草经》,是一味常用中药材,具有扶正固本、补益肝肾、清热明目的功效,临床主要用于强腰膝、乌须发,治疗阴虚内热、头昏耳鸣等症。现代药理研究表明^[1~3],女贞子多糖具有显著的免疫增强和抗氧化、抗衰老作用。有化学研究表明,女贞子多糖(polysaccharide from *Ligustrum lucidum* Ait., PLLA)主要由鼠李糖、阿拉伯糖、葡萄糖及岩藻糖 4 种糖组成^[4]。近年来,对女贞子的研究主要集中在其脂溶性成分如齐墩果酸、熊果酸等,而女贞子多糖的研究较少。由于粗多糖的水提液在醇沉的过程中蛋白质会一起沉淀下来,影响后续的分离纯化研究,因此确定除蛋白效率高且多糖损失率小的除蛋白方法是很关键

的环节^[5]。本实验以多糖损失率和蛋白质清除率为指标,针对女贞子多糖选用了 Sevag 法、三氯乙酸法(TCA 法)、三氯乙酸-Sevag 法 3 种不同的除蛋白方法,并采用正交试验法优选了三氯乙酸法除蛋白的工艺,旨在筛选简单、可行的女贞子多糖除蛋白方法,为其他植物多糖的除蛋白工艺研究提供一定的参考。

1 实验材料

女贞子购于安徽亳州药材市场,经江苏康缘药业股份有限公司吴舟主管药师鉴定。

UV2550—PC 紫外可见分光光度计;TDL—5—A 型离心机;BP—211D 型电子天平;牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250(国药集团化学试剂有限公司);D-无水葡萄糖(中国药品生物制品检定所,批号为 110833-200503);氯仿、正丁醇、三氯乙酸、苯

①收稿日期:2009-07-03

作者简介:万 琴(1985—),女,湖北荆州人,硕士,南京中医药大学药剂学专业研究生,从事中药制剂的研究与开发。

Tel: (0518) 85521930 E-mail: wanqingood@gmail.com

*通讯作者 萧 伟 E-mail: xw@kanion.com