

- 14(4); 256-257
- [3] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005
- [4] Takeuchi H, Nagira S, Yamamoto H. Solid dispersion particles of amorphous indomethacin with fine porous silica particles by using spray-drying method [J]. *Pharmaceutics*, 2005, 293(1-2): 155-164
- [5] Barker S A, Yap S P, Yuen K H. An investigation into the structure and bioavailability of alpha-tocopherol dispersion in Gelucire 44/14 [J]. *J Controlled Release*, 2003, 91(3): 477-488
- [6] Chauhan B, Shimpi S, Paradkar A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 26(2): 219-230
- [7] Ozeki T, Yuasa H, Kanaya Y. Controlled release from solid dispersion composed of poly(ethylene oxide) carbopol interpolymer complex with various cross-linking degrees of Carbopol [J]. *J Controlled Release*, 2000, 63(3): 287-295
- [8] Takeuchi H, Nagira S, Yamamoto H. Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method [J]. *Powder Technol*, 2004, 141: 187-195
- [9] 孙孝祥, 吕会芳, 梁容才, 等. 人参皂苷 Rg₃ 固体分散体的制备与体外特性研究 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 48-50
- [10] 王曙宾, 黄兰芷. 葛根素固体分散体的分散状态及其体外评价 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1632-1634
- [11] 翁水旺, 周继斌. 紫外分光光度法测定醋柳黄酮片总黄酮甙元的含量 [J]. 光谱仪器与分析, 2000(2): 33-34

HPLC 法测定调经促孕丸中仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A

朱艳琴¹, 殷勤红², 王文辉¹, 杨俊¹, 杨朝芬^{1*}

(1 昆明理工大学 分析测试研究中心, 云南 昆明 650093; 2 昆明积大制药有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要: 目的 建立测定调经促孕丸中仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的方法。方法 采用 HPLC 法测定, Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长 270 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 35℃。结果 4 个成分线性关系良好, 各成分的平均回收率为 97.3%~99.4%。结论 本方法简便、快速, 结果准确, 可用于调经促孕丸的质量控制。

关键词: 调经促孕丸; 仙茅苷; 淫羊藿苷; 隐丹参酮; 丹参酮 II_A

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2010)09-1473-03

调经促孕丸是由鹿茸、淫羊藿、仙茅、丹参等 18 味中药组成的复方制剂, 具有温肾健脾, 活血调经的功效, 临床用于脾肾阳虚、瘀血阻滞所致的月经不调、闭经、痛经等症的治疗^[1]。该制剂原质量标准中采用 HPLC 法测定白芍和赤芍中芍药苷。然而复方中药药效的发挥是多组分共同作用的结果, 各指标成分的量及其比例均会影响药效。淫羊藿和仙茅为方中君药, 具有补肾阳强筋骨之功效, 而丹参又能活血通经, 因此参考相关文献报道^[2-5], 本实验建立了同时测定调经促孕丸中仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的方法, 为完善该制剂质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

岛津 Prominence LC-20A 液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); SB3200 型超声波清洗器(上海必能信超声有限公司); BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司)。

仙茅苷(批号 110771-200904)、淫羊藿苷(批号 110737-200415)、隐丹参酮(批号 110852-200305)、丹参酮 II_A(批号 110766-200518)对照品均由中国

药品生物制品检定所提供; 乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为重蒸水; 调经促孕丸由北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相为乙腈, B 相为 0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 0~10 min, A 25%~40%; 10~20 min, A 40%~60%; 20~50 min, A 60%~90%; 检测波长 270 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 35℃。

2.2 对照品溶液的制备: 分别精密称取仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 对照品适量, 分别加甲醇制成 371 μg/mL 仙茅苷、102 μg/mL 淫羊藿苷、26.5 μg/mL 隐丹参酮、40 μg/mL 丹参酮 II_A 对照品贮备液。再精密吸取贮备液适量, 加甲醇制成含仙茅苷 37.1 μg/mL、淫羊藿苷 10.2 μg/mL、隐丹参酮 2.65 μg/mL 和丹参酮 II_A 4.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

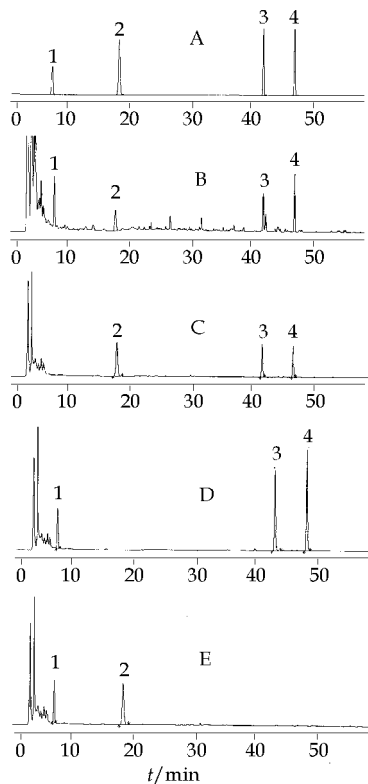
2.3 供试品溶液的制备: 取本品, 研碎, 精密称定 5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇溶液 50 mL, 密

* 收稿日期: 2009-11-24

作者简介: 朱艳琴, 女, 贵州都匀市人, 硕士, 从事天然产物研究。Tel: (0871)5119674 E-mail: zyq23788@sohu.com

塞, 称定质量, 超声处理 1 h, 放冷, 称定质量, 用甲醇溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备: 分别取缺仙茅、淫羊藿和丹参的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备各阴性对照溶液。结果阴性对照在与仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 对照品溶液相同保留时间处无干扰峰出现, 表明处方中其他药味对测定结果无影响。HPLC 图谱见图 1。



1-仙茅苷 2-淫羊藿苷 3-隐丹参酮 4-丹参酮 II_A

1-curculigoside 2-icanin 3-cryptonshinone 4-tanshinone II_A

图 1 混合对照品(A)、调经促孕丸(B)、缺仙茅的阴性样品(C)、缺淫羊藿的阴性样品(D)和缺丹参的阴性样品(E) HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Tiao Jing Cui Yun Pills (B), negative sample without *Curculiginis Rhizoma* (C), negative sample without *Epimedii Herba* (D), and negative sample without *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (E)

2.5 线性关系考察: 分别精密吸取仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 贮备液各 1、2、5、10、20 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇定容制成不同质量浓度的混合对照品溶液。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标绘制标准曲线, 进行线性回归, 结果仙茅苷的回归方程为 $Y = 3.132 \times 10^5 X + 1.798 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 在 $0.0742 \sim 1.484 \mu\text{g}$ 峰

面积与进样量呈良好的线性关系; 淫羊藿苷的回归方程为 $Y = 2.460 \times 10^6 X + 6.710 \times 10^3$, $r = 0.9997$, 在 $0.0204 \sim 0.408 \mu\text{g}$ 峰面积与进样量呈良好的线性关系; 隐丹参酮的回归方程为 $Y = 6.369 \times 10^6 X - 5.459 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 在 $0.0053 \sim 0.106 \mu\text{g}$ 峰面积与进样量呈良好的线性关系; 丹参酮 II_A 的回归方程为 $Y = 5.465 \times 10^6 X - 3.378 \times 10^3$, $r = 0.9999$, 在 $0.008 \sim 0.16 \mu\text{g}$ 峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.6 精密密度试验: 分别吸取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算得 RSD 分别为: 仙茅苷 0.10%, 淫羊藿苷 0.13%, 隐丹参酮 0.16%, 丹参酮 II_A 0.33%。

2.7 稳定性试验: 取批号 9035124 供试品溶液, 照上述色谱条件, 分别于 0、2、4、6 h 测定峰面积, RSD 分别为: 仙茅苷 0.67%, 淫羊藿苷 0.99%, 隐丹参酮 0.81%, 丹参酮 II_A 0.35%, 表明样品中 4 种成分在 6 h 内稳定。

2.8 重现性试验: 平行取 6 份批号 9035124 样品, 制备供试品溶液, 照上述色谱条件, 分别测定 4 种成分的质量分数, 结果 RSD 分别为: 仙茅苷 0.58%, 淫羊藿苷 1.09%, 隐丹参酮 1.01%, 丹参酮 II_A 0.75%。

2.9 加样回收率试验: 分别精密称取仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 对照品各 6.3、5.4、9.6、7.2 mg 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 再分别精密量取 10、10.2、5 mL 置 100 mL 量瓶, 并用甲醇定容, 作为加样对照品溶液。称取批号 9035124 样品各 2.0、2.5、3.0 g, 每 3 份为一组, 分别精密加入加样对照品溶液各 4、5、6 mL, 制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样分析, 计算回收率。结果仙茅苷平均回收率为 97.3%, RSD 为 1.26%; 淫羊藿苷平均回收率为 99.4%, RSD 为 0.78%; 隐丹参酮平均回收率为 98.2%, RSD 为 2.07%; 丹参酮 II_A 平均回收率为 98.7%, RSD 为 1.49%。

2.10 样品测定: 精密吸取对照品溶液和供试品溶液按上述色谱条件, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 用外标法计算样品中仙茅苷、淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的质量分数。结果见表 1。

3 讨论

参考相关文献, 淫羊藿苷、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的检测波长为 270 nm, 而仙茅苷在 285 nm 处也有较强吸收, 故最终选择 270 nm 作为检测波长。

实验中参考《中国药典》2005 年版一部中 3 味

表 1 调经促孕丸中有效成分的测定结果($n=3$)Table 1 Determination of active components in Tiaojing Cuyun Pills ($n=3$)

批号	仙茅苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	淫羊藿苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	隐丹参酮/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	丹参酮 II _A / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
9035124	12.5	10.8	3.8	7.2
9035125	10.4	11.2	5.0	6.9
9035126	11.7	12.5	4.6	5.8

中药的流动相,选择乙腈-水为溶剂系统。考虑到各峰的峰形较差,需在水相中加入一定量的磷酸,可使各峰得到较好分离且峰形尖锐,因此选用乙腈和 0.1% 磷酸的梯度洗脱。

对比 3 批样品的检测结果,各成分之间略有差别,这可能是由各批产品的生药的来源和炮制、生产工艺、贮藏条件等诸多因素所引起的,这也表明中成药活性成分存在一定的差异性。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部,2005.
- [2] 许勇,夏晶,王柯等.高效液相色谱法测定健骨颗粒中仙茅苷的含量[J].药物分析杂志,2008,28(10):1722-1724.
- [3] 史万忠,朱兰,孔德云,等.HPLC法测定密骨胶囊中淫羊藿苷含量[J].中草药,2000,31(5):341-342.
- [4] 王旭东,姚晨,鲁方平.淫羊藿提取物中淫羊藿苷含量的 HPLC 测定[J].中草药,2003,34(8):717-718.
- [5] 李晓莉,李晓蓉,王丽娟,等.RP-HPLC 测定丹芍方中丹参素、阿魏酸、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的含量[J].中成药,2008,30(1):77-80.

白茅根炒炭前后 5-羟甲基糠醛的变化研究

曹雨诞,和颖颖,张丽,陈佩东,安伟*
(南京中医药大学,江苏南京 210046)

摘要:目的 考察白茅根炒炭前后 5-羟甲基糠醛的变化。方法 采用 RP-HPLC 法, Lichrospher5-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.005% 醋酸水溶液; 梯度洗脱; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量: 1 mL/min。结果 5-羟甲基糠醛在 10.84~346.8 ng 线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.39%, RSD 为 1.72% ($n=6$)。经炒炭后, 炮制品中 5-羟甲基糠醛增大了 32 倍。结论 白茅根经炒炭后, 5-羟甲基糠醛的量显著提高, 为进一步研究茅根炭的质量控制和止血机制提供了依据。

关键词: 白茅根; 炒炭; 5-羟甲基糠醛; 炮制品; 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)09-1475-03

白茅根为禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* Beauv. var. *major* (Nees) C. E. Hubb 的干燥根茎, 又名兰根、地筋、白花茅根、茅草根、甜草根等, 广泛分布于全国各地, 为中医传统常用止血药。白茅根始载于《神农本草经》, 并列为草部中品, 味甘, 性寒, 主劳伤虚羸, 补中益气, 除瘀血, 血闭寒热, 利小便, 用于治疗吐血、淋病、小便不利、水肿和黄疸等^[1]。目前对白茅根的研究主要集中在生品^[2-3]。本课题组前期的实验结果表明白茅根经炒炭后 5-羟甲基糠醛变化较大。以前普遍认为 5-羟甲基糠醛有一定的不良反应, 在葡萄糖注射剂的储存、加热灭菌过程中需严格控制。但近几年来研究表明 5-羟甲基糠醛还具有抗炎、改善血液流变学等对人体有利的作用, 杜伟锋等^[4-5]将 5-羟甲基糠醛作为山茱萸保肝作用的指标活性成分。因此本实验以 5-羟甲基糠醛为指标, 考察了白茅根炒炭前后该指标的变化, 以期揭示白茅根炮制机制及饮片的质量标

准研究提供依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱 (Waters515), Waters2996 (PDA) 全波长紫外检测器, YXJ-II 高速离心机 (江苏金坛市金城国胜实验仪器厂), BP211D 电子天平 (0.01 mg, 德国赛多利斯), FA1104N 电子天平 (0.1 mg, 上海精密科学仪器有限公司), Model8868 红外测温仪 (上海壹琦仪器仪表有限公司)。

白茅根饮片购买于南京药业股份有限公司, 经南京中医药大学吴启南教授鉴定为禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* Beauv. var. *major* (Nees) C. E. Hubb 的干燥根茎 (批号 080214)。5-羟甲基糠醛对照品购自中国药品生物制品检定所 (质量分数 $\geq 99\%$, 批号 111626-200503); 甲醇、醋酸为色谱纯; 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 茅根炭的制备: 茅根炭是取白茅根经 310 $^{\circ}\text{C}$ 炒

* 收稿日期: 2010-01-25

基金项目: 国家“十一五”科技攻关项目 (2006BA109B006-02)

作者简介: 曹雨诞 (1977-), 女, 江苏省无锡人, 博士在读, 2002 年毕业于南京师范大学化学与环境科学学院, 获硕士学位, 研究方向为中药炮制与质量控制。Tel: (025) 51997238 E-mail: raindc@163.com

* 通讯作者 丁安伟 E-mail: awding105@163.com