

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,姜伟*
(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, YXF-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

制 4 min 而成。粉碎, 过 60 目筛, 混匀, 50 ℃ 下干燥 24 h, 即得, 备用。

2.2 色谱条件: Lichrospher 5 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: 0 min, 甲醇 5%, 0~15 min, 甲醇 20%, 15~20 min, 甲醇 25%, 20~25 min, 甲醇 5%, 25~30 min, 甲醇 5%; 柱温: 30 ℃; 体积流量: 1 mL/min。理论塔板数按 5-羟甲基糠醛峰计算应不低于 5 000。

2.3 对照品溶液的制备: 取 5-羟甲基糠醛对照品 8 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 得 0.346 8 mg/mL 5-羟甲基糠醛对照品母液。精密量取该溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 得 34.68 μg/mL 5-羟甲基糠醛对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备: 取白茅根生品粉末约 1 g、炭品粉末约 0.2 g, 精密称定, 分别置 50 mL 具塞锥形瓶中, 加 80% 甲醇 25 mL, 密塞, 超声处理 (功率: 500 W, 频率: 40 kHz) 45 min, 滤过, 滤渣及滤纸再加 80% 甲醇 25 mL, 超声处理 45 min, 滤过, 用 80% 甲醇洗涤滤渣, 合并滤液及洗涤液置 50 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.5 线性关系考察: 精密量取 5-羟甲基糠醛对照品母液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 得 17.34 μg/mL 5-羟甲基糠醛溶液, 采用逐级稀释法制成 8.670、

4.335、2.168、1.084 μg/mL 系列对照品溶液。精密吸取系列对照品溶液各 10 μL, 进样测定。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 87\,087\,364.46X - 9\,523.5$, $r = 0.9999$, 结果表明 5-羟甲基糠醛在 10.84~346.8 ng 线性关系良好。

2.6 精密度试验: 取 17.34 μg/mL 5-羟甲基糠醛对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 计算得 5-羟甲基糠醛峰面积的 RSD 为 1.20%。

2.7 重现性试验: 取 1 号炭品粉末约 0.2 g, 精密称定, 共 6 份, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算得 5-羟甲基糠醛质量分数的 RSD 为 1.22%。

2.8 稳定性试验: 取 1 号炭品制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 进样 10 μL 测定, 计算得 5-羟甲基糠醛峰面积的 RSD 为 1.21%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验: 取 1 号炭品共 6 份, 每份约 0.1 g, 精密称定, 分别加入 0.346 8 mg/mL 5-羟甲基糠醛对照品溶液 0.8 mL, 制备供试品溶液, 依法测定, 结果平均回收率为 99.39%, RSD 为 1.72%。

2.10 样品的测定: 取白茅根生、炭品, 制备供试品溶液。取供试品溶液和 5-羟甲基糠醛对照品溶液分别进样, 测定, 按外标法计算质量分数, 色谱图见图 1, 计算结果见表 1。

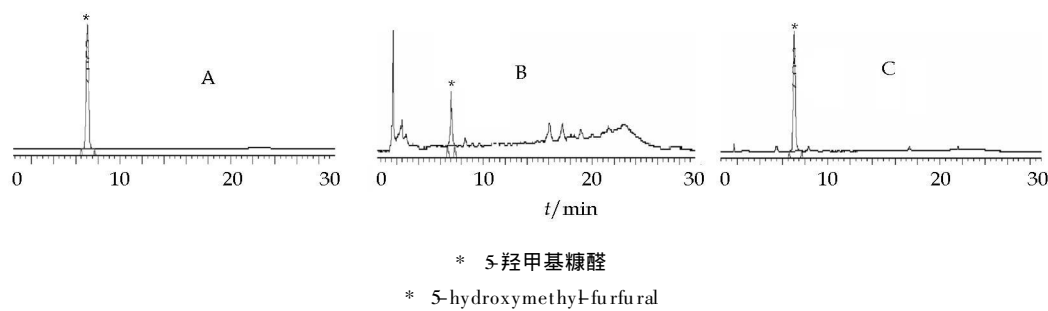


图 1 5-羟甲基糠醛对照品 (A)、白茅根生品 (B) 和茅根炭 (C) 的 HPLC 图

Fig 1 HPLC Chromatograms of 5-hydroxymethyl-furfural reference substance (A), *Imperata Rhizoma* (B), and prepared *Imperata Rhizoma* (C)

表 1 白茅根炒炭前后 5-羟甲基糠醛的比较 (n=4)
Table 1 Comparison of 5-hydroxymethyl-furfural in *Imperata Rhizoma* before and after being processed (n=4)

样品	5-羟甲基糠醛/ (μg · g ⁻¹)	样品	5-羟甲基糠醛/ (μg · g ⁻¹)	炭品/生品
生品 1	82.87	炭品 1	271.2	32.73
生品 2	85.16	炭品 2	271.8	31.92

3 讨论

根据相关文献, 选择了 80% 甲醇、50% 甲醇超声及水提醇沉的方式进行提取^[6], 同时又考察了提

取次数, 结果表明, 样品用 80% 甲醇超声提取 2 次效果最佳。

由于 5-羟甲基糠醛在 284 nm 处有最大吸收, 故检测波长选择为 284 nm, 使得该成分在其最大吸收波长下进行测定, 从而提高了分析精度, 保证了方法稳定性。

文献报道, 5-羟甲基糠醛主要是由己糖经加热分解产生, 广泛存在于含有糖类物质的植物中, 一般在炮制或加热后其量会增加。本实验考察了炒炭对白茅根中 5-羟甲基糠醛的影响, 结果发现白茅根炭

品中 5-羟甲基糠醛较生品中明显增加(32 倍),表明炒炭能大大增加其中 5-羟甲基糠醛的量。

白茅根炒炭后其对小鼠的止血、凝血时间较生品有显著缩短,且炭品的血浆复钙时间也有显著缩短^[6],同时白茅根炒炭后 5-羟甲基糠醛也有显著地增加。因此,5-羟甲基糠醛与白茅根炒炭的止血作用之间是否具有一定的联系,其对白茅根炒炭机制的揭示尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王明雷,王素贤,孙启时,等.白茅根化学成分的研究[J].中国药物化学杂志,1996,6(3):192-194
- [2] 路金才,孙启时,王明雷,等.白茅根中芦竹素和白茅素的含量测定[J].沈阳药科大学学报,1996,13(4):290-291
- [3] 宋劲诗,陈康.白茅根炒炭后的止血作用研究[J].中山大学学报论丛,2000,20(5):45-48
- [4] 杜伟锋,丁霞,蔡宝昌.山茱萸炮制前后 5-羟甲基糠醛的含量变化研究[J].中成药,2007,29(12):1801-1803
- [5] 杜伟锋,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
- [6] 丁安伟,吴丽文.茅根炭炮制工艺及质量标准研究[J].南京中医药大学学报,1997,13(1):21-23

HPLC 法测定余甘子膏中没食子酸

顿珠¹,刘青^{1*},索朗其美¹,尼珍²,德吉措姆²,陈志涛^{1*}

(1 西藏藏医学院,西藏拉萨 850000; 2 西藏自治区食品药品检验所,西藏拉萨 850000)

摘要:目的 建立藏药余甘子膏中没食子酸的测定方法。方法 采用 30% 甲醇提取样品;色谱条件为 Shim-pack VP-ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.04% 磷酸溶液(10:90),柱温:35℃;体积流量:1.0 mL/min;检测波长:274 nm。结果 线性范围为 1~200 μg/mL($r=0.9999$),平均回收率为 101.8%,RSD 为 1.6%。结论 该方法简便、快速、准确,可用于藏药余甘子膏中没食子酸的测定。

关键词:余甘子膏;没食子酸;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)09-1477-02

藏药余甘子膏是根据传统藏药炮制方法,进行生产加工的一种藏药制剂,其临床应用广泛,疗效显著,具有清热凉血,消食健胃,生津止咳之功效,主要用于血热血瘀,消化不良,腹胀,咳嗽,喉痛,口干,牙痛,维生素丙缺乏等症^[1]。余甘子为大戟科叶下珠属植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的果实^[2],主要成分为没食子酸,相关质量控制内容已列入《中国药典》2005 年版一部,作为鉴别余甘子的主要依据。本实验参考文献方法^[3-5],建立余甘子膏中主要成分没食子酸的测定方法,通过方法学考察发现该方法简便、稳定、可靠,可对本品进行质量控制。

1 仪器与材料

梅特勒 AE200 电子天平;岛津 LC-20A 液相色谱仪,配 SPD-20A 紫外可见检测器;KQ-250DB 超声清洗器(250W,昆山超声仪器有限公司)。

甲醇(色谱纯,Fisher 公司);磷酸(上海红卫农药厂);蒸馏水(自制);没食子酸(中国药品生物制品检定所,供测定用,批号 110831+200803);余甘子膏由西藏藏医学院研究所提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Shim-pack VP-ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.04% 磷酸溶

液(10:90),柱温:35℃;体积流量:1.0 mL/min;检测波长:274 nm。理论塔板数按没食子酸峰计算不低于 4 000。

2.2 供试品溶液的制备:取本品粉末约 80 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 30% 甲醇 20 mL,20℃ 超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 20 min,室温静置,加 30% 甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加 30% 甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取没食子酸对照品适量,加 30% 甲醇制成 30 μg/mL 的溶液,即得。

2.4 系统适应性试验:取上述对照品溶液和供试品溶液,各进样 20 μL,测得 HPLC 图谱,见图 1。

2.5 线性关系的考察:配制系列质量浓度的没食子酸对照品溶液 1.03、26.18、51.33、82.54、154.205 3 μg/mL,分别精密进样 20 μL,测定峰面积。以进样质量浓度对峰面积进行回归,得回归方程 $Y=160385X+108805$, $r=0.9999$ 。结果表明没食子酸质量浓度与其峰面积在 1~200 μg/mL 存在良好的线性关系。

2.6 精密度试验:精密量取 30 μg/mL 没食子酸对照品溶液 20 μL,连续进样 5 次,测定其峰面积,计算

* 收稿日期:2010-01-16

基金项目:西藏自治区科学技术厅重点科技项目(ZK0600623)

* 通讯作者 刘青 Tel: (0891)6386381 E-mail: liu_navy86@126.com