

高效毛细管电泳法测定加味逍遥丸中芍药苷、栀子苷的含量

陈玉杰*

(济宁医学院 基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

[摘要] 目的:建立加味逍遥丸中芍药苷、栀子苷同时测定的高效毛细管电泳分析方法。方法:采用高效毛细管电泳法,缓冲体系为 25 mmol·L⁻¹硼砂缓冲液(NaOH 调 pH 10.5),熔融石英毛细管(60 cm×50 μm),运行电压 25 kV,柱温 25℃,检测波长 230 nm。结果:芍药苷、栀子苷分别在 0.008 1~0.162 6 g·L⁻¹和 0.023 8~0.475 6 g·L⁻¹线性关系良好($r=0.999 8$ 和 0.999 7),样品平均加样回收率为 99.67% (RSD 1.27%)和 99.36% (RSD 1.53%)。结论:该方法简单、快速准确、重复性好,适用于加味逍遥丸的质量控制。

[关键词] 高效毛细管电泳;加味逍遥丸;芍药苷;栀子苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0146-04

Determination of Paeoniflorin and Geniposide in Jiawei Xiaoyao Pills by High Performance Capillary Electrophoresis

CHEN Yu-jie*

(College of Basic and Forensic Medicine, Jining Medical College, Jining 272067, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new high performance capillary electrophoresis (HPCE) method for determination of paeoniflorin and geniposide in Jiawei Xiaoyao pills. **Method:** Paeoniflorin and geniposide in Jiawei Xiaoyao pill were determined by using HPCE. The background electrolyte system selected was 25 mmol·L⁻¹ sodium borate buffer (pH was adjusted to 10.5 by caustic soda). Capillary electrophoresis was performed using 60 cm×50 μm fused silica capillary column, applied voltage was 25 kV; temperature was 25℃. The detection wavelength was set at 230 nm. **Result:** The linear range of paeoniflorin and geniposide was 0.008 1-0.162 6 g·L⁻¹ and 0.023 8-0.475 6 g·L⁻¹ ($r=0.999 8$ and 0.999 7), and the average recovery was 99.67% (RSD 1.27%) and 99.36% (RSD 1.53%). **Conclusion:** The method is simple, rapid and reproducible, and could be used for the quality control of Jiawei Xiaoyao pills.

[Key words] HPCE; Jiawei Xiaoyao pills; paeoniflorin; geniposide

加味逍遥丸是由柴胡、白芍、甘草、牡丹皮、栀子、薄荷等 9 味药材制成的中药成方制剂,具有舒肝清热,健脾养血功效,用于肝郁血虚、肝脾不和、两胁胀痛、头晕目眩、倦怠食少、月经不调、脐腹胀痛等的治疗^[1]。芍药苷和栀子苷为本制剂成分之一,芍药苷具有保肝、促进造血细胞增殖^[2],栀子苷具有保肝利胆降血脂等药理作用^[3]。目前芍药苷和栀子

苷的现行标准采用高效液相色谱法^[4]、毛细管电泳法^[5],但毛细管电泳法同时测定芍药苷和栀子苷鲜有报道。为进一步评价该制剂的质量,本文建立了高效毛细管电泳法同时测定芍药苷和栀子苷的含量,可以用于加味逍遥丸的质量控制。

1 仪器与试剂

P/ACE MDQ 型高效毛细管电泳系统(配有二极管阵列检测器,全自动进样)(美国 Beckman 公司),熔融石英毛细管(60 cm×50 μm)(河北永年光导纤维厂),AE-240 型双量程电子分析天平(1/万,1/10 万,梅特勒-托利多上海有限公司),KQ100-DE 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限

[收稿日期] 20110928(012)

[通讯作者] * 陈玉杰,研究生,讲师,从事生物活性成分的分
离与鉴定, Tel: 1528804547, E-mail: yje79 @
126.com

公司)。

芍药苷(批号 110569-200912)、栀子苷(批号 110763-200923)对照品均购自中国药品生物制品检定所,质量分数均 $\geq 98\%$;保济丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号 20100912,20101010,20101202)。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 电泳条件 运行缓冲液为 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂缓冲液,用氢氧化钠调 pH 10.5,柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$,恒定电压 25 kV ,压力进样 3.25 kPa ,时间 5 s ,检测波长为 230 nm 。运行缓冲液和样品溶液均经 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤并经超声脱气后使用。每次开机用超纯水冲洗 3 min ,后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠冲洗 3 min ,再用超纯水冲洗 3 min ,然后运行缓冲液冲洗 3 min 。每次测定之间用运行缓冲液冲洗 1.5 min 。

2.2 溶液的制备

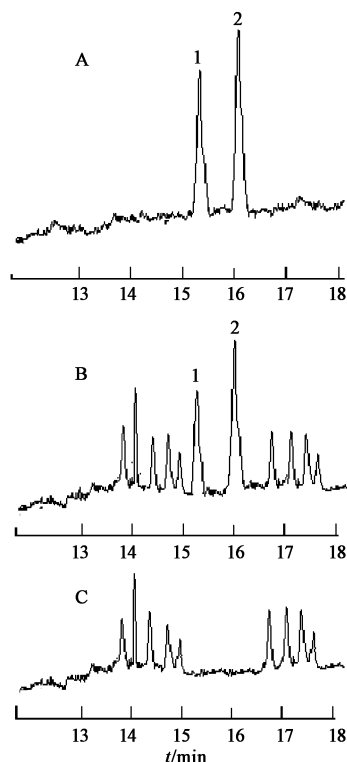
2.2.1 对照品溶液 分别取芍药苷、栀子苷对照品适量,精密称定,加入甲醇溶解并定容配成质量浓度分别为 0.325 1 , $0.951 \text{ 2 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液,精密吸取上述对照品储备液各 5 mL 于 20 mL 量瓶中,混合均匀,甲醇定容, $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,既得芍药苷和栀子苷质量浓度分别为 0.081 3 , $0.237 \text{ 8 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液用 取本品研细,取约 1 g ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL ,密塞,称定质量,超声处理(功率 260 W ,频率 40 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,过 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取处方中除白芍、牡丹皮、栀子以外的其余成份按照加味逍遥丸的处方比例和生产工艺制备阴性样品,按照 2.2.2 项下的制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 精密吸取对照品混合溶液、供试品溶液和阴性样品溶液,按照 2.1 项下色谱条件,分别进样分析,记录色谱图。结果供试品中芍药苷、栀子苷色谱峰和相应对照品色谱峰时间保持一致,阴性对照在相同的保留时间处无此特征峰,表明其他成分对测定组分无干扰,见图 1。

2.4 线性关系 精密吸取 $0.325 \text{ 1 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 芍药苷对照品储备液和约 $0.951 \text{ 2 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 栀子苷对照品储备液适量,用甲醇稀释成含芍药苷分别为 0.008 1 , 0.032 5 , 0.065 0 , 0.097 5 , 0.130 0 , $0.162 \text{ 6 g} \cdot \text{L}^{-1}$, 栀子苷分别为 0.023 8 , 0.095 1 , 0.190 2 , 0.285 4 ,



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 芍药苷;2. 栀子苷
图 1 保济丸高效毛细管电泳色谱图

0.380 5 , $0.475 \text{ 6 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混和对照品溶液,按实验方法进样。分别以芍药苷和栀子苷峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归,得回归方程分别为 $Y_{\text{芍药苷}} = 0.483X + 0.116$ ($r = 0.999 \text{ 8}$), $Y_{\text{栀子苷}} = 0.821X + 0.262$ ($r = 0.999 \text{ 7}$)。表明芍药苷和栀子苷分别在 $0.008 \text{ 1} \sim 0.162 \text{ 6}$, $0.023 \text{ 8} \sim 0.475 \text{ 6 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5 稳定性试验 取同一批号的供试品溶液分别在制备后 $0, 2, 4, 6, 8, 12 \text{ h}$ 进样,按照 2.1 项下色谱条件测得峰面积,计算芍药苷和栀子苷峰面积 RSD 分别为 1.12% , 1.07% ,表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 精密度试验 取含芍药苷 $0.081 \text{ 3 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、栀子苷和 $0.237 \text{ 8 g} \cdot \text{L}^{-1}$ 混合对照品溶液,连续进样 6 次,测得峰面积。结果芍药苷和栀子苷的峰面积 RSD 分别为 1.17% , 1.21% 。

2.7 重复性试验 按照 2.2.2 项下方法称取样品 6 份制成供试品溶液,按照 2.1 项下色谱条件进行测定。结果芍药苷和栀子苷的平均质量分数各为 1.971 1 , $5.912 \text{ 5 mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 各为 1.19% , 1.25% ,表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取同一批号样品(批号 20100912,芍药苷和栀子苷的质量分数分别

为 1.971 1, 5.912 5 mg·g⁻¹) 6 份, 每份 0.5 g, 精确加入对照品储备液各 3 mL。按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 甲醇定容, 按照 2.1 项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。芍药苷和栀子苷平均回收率分别为 99.67%, 99.36%, RSD 分别为 1.27%, 1.53%。

表 1 加味逍遥丸中 2 成分加样回收率试验 (n=6)

成分	取样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
芍药苷	0.500 2	0.985 9	0.975 3	1.953 8	99.24	99.67	1.27
	0.500 5	0.986 5	0.975 3	1.964 9	100.32		
	0.500 1	0.985 7	0.975 3	1.947 6	98.63		
	0.500 3	0.986 1	0.975 3	1.959 3	99.78		
	0.500 7	0.986 9	0.975 3	1.976 0	101.41		
	0.500 9	0.987 3	0.975 3	1.950 2	98.73		
栀子苷	0.500 2	2.957 4	2.853 6	5.770 2	98.57	99.36	1.53
	0.500 5	2.959 2	2.853 6	5.808 0	99.83		
	0.500 1	2.956 8	2.853 6	5.792 4	99.37		
	0.500 3	2.958 0	2.853 6	5.780 5	98.91		
	0.500 7	2.960 4	2.853 6	5.838 0	100.84		
	0.500 9	2.961 6	2.853 6	5.776 4	98.64		

表 2 加味逍遥丸中芍药苷和栀子苷含量测定 (n=3)

批号	HPCE				HPLC			
	芍药苷 /mg·g ⁻¹	RSD /%	栀子苷 /mg·g ⁻¹	RSD /%	芍药苷 /mg·g ⁻¹	RSD /%	栀子苷 /mg·g ⁻¹	RSD /%
20100912	1.971 1	1.13	5.912 5	1.31	1.968 3	1.09	5.903 9	1.17
20101010	1.998 3	1.25	5.953 7	1.27	1.987 6	1.25	5.947 2	1.07
20101202	1.983 9	1.17	5.941 8	1.16	1.981 1	1.24	5.940 9	1.22

3.4 分离电压的影响 考察了分离电压 (15 ~ 30 kV) 的影响, 结果发现各组分的迁移率随分离电压的提高而增加, 迁移时间减少, 随着电压增高幅度加大, 基线噪音和焦耳热也增大, 分离度变差。综合考虑两组分的分离度、噪音、焦耳热及分析时间等因素, 选择 25 kV 为分离电压。

3.5 缓冲溶液 pH 的影响^[7] 固定分离电压与进样时间, 考察了 pH 6.0 ~ 11.0 的硼砂缓冲液对迁移时间和峰电流的影响, 每隔 1 个单位进行考察, 结果发现, pH 在低于 6.0 及高于 11.0 时, 分离效果较差, 因此确定缓冲液最佳 pH 范围在 6.0 ~ 11.0。并又在此范围内每隔 0.5 个单位进行系统考察, 结果当缓冲液 pH 10.5 时, 芍药苷和栀子苷能达到基线

2.9 样品测定 取不同批次的加味逍遥丸 1.0 g, 各 3 份, 精密称定, 按照 2.2.2 方法制备供试品溶液, 进样, 记录色谱图, 按外标法计算芍药苷和栀子苷的含量, 并同时参照《中国药典》(2010 年版)“加味逍遥丸”^[1]和“清火栀麦片”^[1]项下 HPLC 测定样品含量, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长的选择 采用紫外-可见分光光度仪对芍药苷和栀子苷的甲醇溶液扫描, 芍药苷的最大吸收波长为 230 nm, 栀子苷的最大吸收波长为 238 nm。考虑到同时测定二者, 试用了 230, 238 nm 等一系列波长检测, 认为 230 nm 较为合适。

3.2 背景电解质的选择 实验中先后采用了硼砂缓冲液、磷酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、磷酸二氢钾-硼砂作为电解缓冲液, 结果表明硼砂的分离效果较好。

3.3 缓冲溶液浓度的影响 在一定范围内增加缓冲液离子强度可以改善柱效, 提高分离度^[6], 考察了缓冲液浓度范围 15 ~ 30 mmol·L⁻¹对 2 种物质分离度及迁移时间的影响, 结果表明运行液浓度过低, 两物质不能达到基线分离。浓度过高, 基电压较大, 背景电流较大, 噪音增大, 信号较差, 发现硼酸浓度为 25 mmol·L⁻¹时, 峰形较好, 故实验选用 25 mmol·L⁻¹的硼酸。

分离, 故选择缓冲液的最佳 pH 10.5。

4 结论

从本实验的分析结果可以看出, HPCE 法对加味逍遥丸中芍药苷、栀子苷的定量是准确有效的, 加味逍遥丸的 HPCE 法与 HPLC 法测定结果基本一致。然而, HPCE 法较 HPLC 法具有高效、快速、进样体积小、溶剂消耗少和抗污染能力强等特点。本法精密度高、稳定性和重复性好, 适用于加味逍遥丸的质量控制。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部 [S]. 2010:667, 113.

不同炮制方法对关木通减毒存效作用的比较

张春红^{1,2}, 曹蕊², 李虔全¹, 张娜¹, 张连学^{2*}, 李旻辉^{1*}

(1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014060; 2. 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

[摘要] 目的: 比较各种炮制方法对关木通减毒存效作用, 选择最佳的关木通炮制方法。方法: 以关木通生品及各炮制品中马兜铃酸 A、齐墩果酸及常春藤皂苷元含量为指标, 比较了 5 种炮制方法(醋炙、蜜炙、姜炙、碱制、盐炙)减毒存效效果。结果: 生品、醋炙品、蜜炙品、姜炙品、碱制品、盐炙品中马兜铃酸 A 含量分别为 0.27%, 0.13%, 0.15%, 0.20%, 0.14%, 0.18%; 齐墩果酸含量分别为 0.21%, 0.15%, 0.20%, 0.13%, 0.01%, 0.01%; 常春藤皂苷元含量分别为 0.11%, 0.08%, 0.09%, 0.07%, 0.01%, 0.01%。结论: 关木通最佳减毒存效炮制方法为蜜炙法。

[关键词] 炮制; 关木通; 减毒存效

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0149-04

Study on Toxicity Attenuation and Efficacy Reservation of Manchurian Dutchmanspipe Stem Following Different Processing Methods

ZHANG Chun-hong^{1,2}, CHAO Rui², LI Qian-quan¹, ZHANG Na¹, ZHANG Lian-xue^{2*}, LI Ming-hui^{1*}

(1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014060, China;
2. Academy of Chinese Traditional Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

[Abstract] **Objective:** Study on toxicity attenuation and efficacy reservation of Manchurian Dutchmanspipe Stem following five different processing methods, and to collect best processing methods. **Method:** Five methods of processing herbs with vinegar, honey, ginger, alkali and salt were compared focusing on the optimal toxicity attenuation effect with content of aristolochic acid, hederagenin and oleanolic acid (OA) from Manchurian Dutchmanspipe Stem as evaluated index detected by RP-HPLC. **Result:** Content of aristolochic acid in raw herbs and the herbs processed with vinegar, honey, ginger, alkali and salt was as follows: 0.27%, 0.12%, 0.15%, 0.20%, 0.14%, 0.18%; content of oleanolic acid (OA) in raw herbs and the herbs processed with

[收稿日期] 2011-11-28

[基金项目] 吉林农业大学博士启动基金项目(2007011)

[第一作者] 张春红, 博士, 副教授, 从事中蒙药活性成分研究, Tel: 0472-7167795, E-mail: zchlhh@126.com

[通讯作者] * 张连学, 教授, 博士生导师, 从事 CAP 规范化种植及中药活性成分的研究, Tel: 0431-4533087, E-mail: zlxbooksea@163.com

* 李旻辉, 教授, 硕士生导师, Tel: 0472-7167795, E-mail: minhui@yahoo.cn

[2] 胡南, 许惠玉, 陈志伟, 等. 芍药苷的药理学研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(9): 1093.
[3] 赵亚南, 张卫明, 钱骅, 等. 栀子苷及其衍生物药理活性的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(1): 1.
[4] 孟宪波, 郑晖. HPLC 测定柴芍丸中芍药苷、栀子苷及丹皮酚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 72.
[5] 孙丽荣, 曹雄, 侯凤青. 芍药苷研究进展[J]. 中国中药

杂志, 2008, 33(18): 2028.

[6] 肖琳, 李静, 孙文基. 毛细管电泳法测定青叶胆中獐牙菜苦苷和异牡荆素的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2040.

[7] 郑春英, 刘松梅, 李宏, 等. 毛细管电泳法同时检测刺五加叶中的芦丁和金丝桃苷含量[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(10): 783.

[责任编辑 蔡仲德]