

层定性鉴别, 人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 为人参、三七和西洋参的共有成分, 为区别于人参或三七, 加入西洋参的特异性成分拟人参皂苷 F_{11} 进行考察, 薄层结果斑点清晰, 干扰较少, 专属性强。

本文建立了洋参养胃颗粒的人参皂苷含量测定的方法, 对洋参养胃颗粒的西洋参人参皂苷进行了乙醇提取浓度、提取体积、提取时间的考察^[7]。在乙醇浓度(40 %、60 %、80 %乙醇)考察中, 结果显示 80 % 乙醇提取皂苷的峰面积最大; 提取体积(25, 50, 100 mL)考察中, 提取体积 50 mL 结果优于 25 mL 和 100 mL; 提取时间 (1, 1.5, 2 h) 考察中, 提取 2 h 与 1.5 h 比较, 结果相差不大, 为了提取完全, 选择提取时间 2 h。本方法用乙醇作为提取溶剂, 提取后即可通过高效液相色谱法进行含量测定, 操作简便、省时、重复性好, 具有实用价值。

参考《中国药典》西洋参皂苷的测定^[4], 对色谱柱、流动相及流速进行了筛选, 流动相中用水代替 0.1 % 的磷酸溶液, 梯度洗脱时间进行了优化。本研究建立的洋参养胃颗粒的薄层鉴别及人参皂苷含

量测定方法, 为洋参养胃颗粒的质量标准控制提供了科学依据。

参考文献:

- [1] Yuan CS, Wang CZ, Wicks SM, et al. Chemical and pharmacological studies of saponins with a focus on American ginseng[J]. J Ginseng Res, 2010, 34(3): 160–167.
- [2] Lemmon HR, Sham J, Chau LA, et al. High molecular weight polysaccharides are key immunomodulators in North American ginseng extracts: characterization of the ginseng genetic signature in primary human immune cells[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 142(1): 1–13.
- [3] Li B, Wang CZ, He TC. Antioxidants potentiate American ginseng-induced killing of colorectal cancer cells[J]. Cancer Lett, 2010, 289(1): 62–70.
- [4] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 122–123.
- [5] 李光荣, 张学顺. 参芪益元颗粒质量标准研究[J]. 山东中医杂志, 2012, 31(6): 439–441.
- [6] 陈萍, 朱胤龙, 韦强, 等. 止咳平喘胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2005, 27(3): 275–278.
- [7] 李素婷, 刘郁. 正交试验法优选西洋参提取工艺[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(6): 478–479.

(编辑: 宋威)

HPLC 法测定毛冬青中毛冬青苷 B 的含量

童国勇¹, 陈汀波^{1,2}, 强 皎¹, 林 丽¹, 周 华², 刘 良², 张 军¹(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510006; 2. 中药质量研究国家重点实验室, 澳门科技大学, 澳门)

摘要: **目的** 建立毛冬青药材中毛冬青苷 B 的 HPLC 测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Kromasil C_{18} 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 流动相: 以乙腈–0.1 %磷酸梯度洗脱; 检测波长为 329 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹。**结果** 毛冬青苷 B 在 0.3672~3.672 μ g 线性关系良好($r=0.9998$), 平均回收率为 97.26 %, RSD=1.16 %。**结论** 该方法准确、简便、重现性好, 适用于毛冬青苷 B 的含量测定, 有助于完善毛冬青药材的质量控制。

关键词: 毛冬青苷 B; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0503-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.020

Determination of Pubescenoside B in Radix Ilicis Pupescensis by HPLC

TONG Guoyong¹, CHEN Tingbo^{1,2}, QIANG Jiao¹, LIN Li¹, ZHOU Hua², LIU Liang², ZHANG Jun¹(1. Research and Development for New Drugs, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. State Key Laboratory for Quality Research of Chinese Herbal Medicine, Macau University of Science and

收稿日期: 2013-04-27

作者简介: 童国勇, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药新药药学研究。Email: tongguoyong008@126.com。通讯作者: 张军, 研究员, 研究方向: 中药新药药学研究。Email: zhjxsh@yahoo.com.cn。

基金项目: 重大新药创制专项“有效部位组方的现代中药冠心康泰临床前研究”(2009ZX09103-360); 广东省国际合作项目(2011B050300021)。

Technology, Macau, China)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography(HPLC) method for the determination of pubescenoside B in Radix Ilicus Pubescentis. **Methods** Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)column was adopted. The mobile phase consisted of acetonitrile(A) and 0.1 % phosphoric acid solution(B) in gradient elution mode. The detection wavelength was set at 329 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Results** The linear range of pubescenoside B was within 0.3672~3.672 μg($r=0.9998$). The average recovery was 97.26 %, and RSD=1.16 %. **Conclusion** The established method is simple, feasible and reproducible. It can be used for the quality control of Radix Ilicus Pubescentis.

Keywords: Radix Ilicus Pubescentis; Pubescenoside B; Content determination; High performance liquid chromatography

毛冬青为冬青科 Aquifoliaceae 冬青属植物毛冬青 *Ilex pubescens* Hook. et. Arn.的干燥根, 性味苦、涩、寒。药理研究^[1-2]表明, 毛冬青具有抗菌、镇咳、祛痰的作用, 还具有扩张冠状动脉、抑制血小板聚集等活性。临床上广泛用于治疗冠心病、心绞痛和脉管炎等疾病^[3]。目前, 已有多种含毛冬青药材的成方制剂收载于部颁标准, 如毛冬青胶囊(WS3-B-1290-93), 毛冬青注射液(WS3-B-3786-98)及复方毛冬青氯贝酸铝片(WSI-XG-2002)等^[4]。毛冬青含有皂苷类、酚酸类、木脂素类、环烯醚萜类、蒽醌类、植物甾醇等多种化学成分。其中, 三萜及其苷类是其主要成分^[4-9]。现代药理研究^[10]表明, 毛冬青苷 B 具有强效的抗血小板凝集活性, 但未见其药材中含量测定方法及结果。本实验采用高效液相色谱法, 建立了测定毛冬青苷 B 含量测定的方法, 并对多批次的毛冬青药材中毛冬青苷 B 的含量进行了测定, 有助于完善毛冬青药材的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-20A 高效液相色谱仪(包括 UV 检测器, LC-20AT 泵, SIL-20A 自动进样器, Labsolution 色谱工作站, 日本岛津); KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器(江苏昆山超声仪器有限公司); CP225D 型电子分析天平(十万分之一, 美国 Mettler Toledo); AB204-N 型电子分析天平(万分之一, 美国 Mettler Toledo)。

1.2 试剂 对照品毛冬青苷 B 为广州中医药大学新药开发研究中心制备、鉴定, 经面积归一化法确定纯度大于 98 %; 乙腈、甲醇为色谱纯; 液相用水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。毛冬青饮片分别购于康美药业股份有限公司和广州大翔药业有限公司, 样品经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定为毛冬青植物 *Ilex pubescens* Hook. et. Arn.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 经优选色谱条件, 确定固定相为 Kromasil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: A(乙腈)-B(0.1 %磷酸), 按表 1 进行梯度洗脱, 检测波长为 329 nm; 柱温为室温; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL, HPLC 色谱图见图 1。结果显示, 色谱峰分离良好。

表 1 流动相时间梯度表

Table 1 Gradient elution of mobile phase

时间 /min	流动相 A /%	流动相 B /%
0~18	11	89
18~20	11→17	89→83
20~28	17	83

2.2 对照品溶液的制备 取毛冬青苷 B 对照品适量, 精密称定 4.59 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得毛冬青苷 B 对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 称取毛冬青药材粉末, 过 4 号筛, 精密称定 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 1.5 h, 取出, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 减压浓缩至干, 残渣加甲醇使溶解, 并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

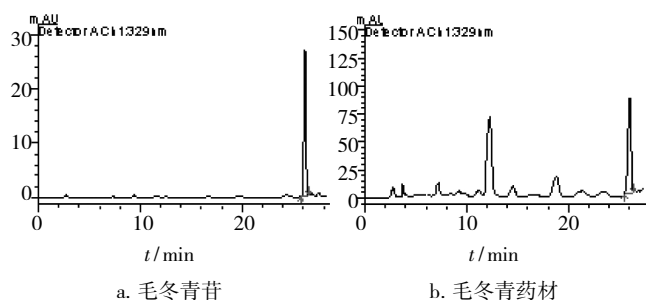


图 1 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取 2.2 项下对照品溶液各 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL , 注入高效液相色谱仪, 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积, 以进样量 (μg) 对峰面积绘制标准曲线, 毛冬青苷 B 回归方程为: $Y=961389X+27629(r=0.9998)$ 。结果表明, 在上述色谱条件下, 毛冬青苷 B 在 0.3672~3.672 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL , 连续进样 6 次, 测定毛冬青苷 B 的峰面积, 测得毛冬青苷 B 平均峰面积为 1792739, $\text{RSD}=0.34\%$, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批次的毛冬青药材粉末(康美 110319)共 6 份, 按照 2.3 项下方法分别制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL , 按 2.1 项下方法测定并计算毛冬青苷 B 的含量, 测得其平均含量为 0.053%, RSD 为 1.73%, 表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样, 测定毛冬青苷 B 的峰面积。测得毛冬青苷 B 的平均峰面积为 544627, $\text{RSD}=1.36\%$, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的毛冬青药材(康美 110319)各 6 份, 分别精密加入毛冬青苷 B 对照品适量, 按 2.3 项下制备方法操作, 测定并计算毛冬青苷 B 的回收率, 结果见表 2, 毛冬青苷 B 的平均回收率为 97.26%, $\text{RSD}=1.16\%$, 表明该法具有良好的回收率。

表 2 加样回收率试验结果($n=6$)

Table 2 Recovery of pubescenoside B in the samples

试验号	取样量/g	含量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.5037	0.2670	0.2654	0.5305	99.28	97.26	1.16
2	0.5122	0.2715	0.2654	0.5284	96.80		
3	0.5164	0.2737	0.2654	0.5330	97.70		
4	0.5049	0.2676	0.2654	0.5225	96.04		
5	0.5004	0.2652	0.2654	0.5224	96.91		
6	0.5016	0.2658	0.2654	0.5227	96.80		

2.9 样品的测定 取 18 批样品, 按照 2.3 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 按照 2.2 项下色谱条件进行测定, 结果见表 3, 18 批药材平均含量为 0.51 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 含量多在 0.30~0.70 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 范围内。

3 讨论

根据指标成分的性质, 考察了超声与回流两种提

表 3 18 批毛冬青药材中毛冬青苷 B 含量测定结果($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 3 Quantitative determination results of 18 batches of samples

批次	含量	批次	含量	平均含量
康美 110210	0.30	大翔 0410	0.32	0.51
康美 110215	0.40	大翔 0415	0.60	
康美 110225	0.64	大翔 0420	1.30	
康美 110310	0.29	大翔 0610	0.70	
康美 110319	0.54	大翔 0615	0.62	
康美 110325	0.39	大翔 0618	0.73	
大翔 0312	-	大翔 0621	0.22	
大翔 0315	0.36	大翔 0625	-	
大翔 0318	0.26	大翔 0628	1.53	

注: “-”表示未检出含有毛冬青苷 B。

取方法, 毛冬青苷 B 的保留率分别为 0.045% 和 0.050%, 因超声提取操作简便、能耗较低, 故选取超声提取的方法; 考察了提取溶剂的种类, 如 20% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、甲醇等进行提取, 毛冬青苷 B 的保留率分别为 0.049%、0.050%、0.053%、0.056%, 甲醇提取效果最佳, 故选择甲醇为溶剂; 分别考察了 20, 50, 100 mL 甲醇用量, 毛冬青苷 B 保留率分别为 0.047%、0.057%、0.056%, 因 50 mL 提取效果好, 用量少、成本低, 故选择 50 mL 的甲醇; 分别考察了提取 0.5, 1, 1.5 h 对毛冬青苷 B 保留率的影响, 保留率依次为 0.048%、0.052%、0.057%, 提取时间为 1.5 h 时, 药材测得含量最高, 故选择 1.5 h。综上确定了供试品溶液的制备方法。采用二极管阵列检测器对检测波长进行选择, 结果表明, 检测波长为 329 nm 时, 对照品有最大吸收波长。

目前, 市售的大多数毛冬青制剂均以毛冬青根中不含有的芦丁为指标性成分控制制剂中总黄酮的含量^[1], 这种不科学的质量控制方法导致市售毛冬青的品种混乱, 质量千差万别, 药材的药效无法得以保证。本实验建立了毛冬青药材中特征成分毛冬青苷 B 的含量测定方法, 对于药材质量控制的完善意义重大。通过比较多批次的毛冬青药材可知, 不同批次药材的毛冬青苷 B 含量差异较大, 最低的样本无法检测, 而最高的样本含量为 1.53 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。本实验采用高效液相色谱法测定毛冬青中毛冬青苷 B 的含量, 灵敏度高、准确性和精密度好、操作简单、色谱峰分离优良、回收率高, 为毛冬青的合理利用奠定了一定的基础。

参考文献:

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 199-200.

- [2] 周中流. 毛冬青化学成分的研究[D]. 南宁: 广西师范大学, 2007.
- [3] 邓六勤, 钟鸣, 马志玲. 毛冬青化学成分、药理作用及应用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2006, 4(10): 24-26.
- [4] 余成霞, 柳文媛, 冯锋, 等. 毛冬青药材的指纹图谱[J]. 中国天然药物, 2008, 6(6): 439-443.
- [5] 尹文清, 周中流, 邹节明, 等. 毛冬青根中化学成分的分离[J]. 中草药, 2007, 38(7): 995-997.
- [6] Zhang CX, Lin CZ, Xiong TQ, et al. New triterpene saponins from the root of *Ilex pubescens*[J]. Fitoterapia, 2010, 81(7): 788-792.
- [7] 赵钟祥, 金晶, 林朝展, 等. 毛冬青根中三萜苷类成分的研究[J]. 中国药师, 2011, 14(5): 599-601.
- [8] 赵钟祥, 曾瑞鑫, 金晶, 等. 毛冬青根中的新三萜苷类[J]. 中草药, 2012, 43(7): 1267-1269.
- [9] 冯锋, 朱明晓, 谢宁. 毛冬青化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(10): 732-736.
- [10] Jiang ZH, Wang JR, Li M, et al. Hemiterpene Glucosides with Anti-Platelet Aggregation Activities from *Ilex pubescens*[J]. J. Nat. Prod, 2005, 68: 397-399.
- [11] 刘毅, 方芳, 袁海龙, 等. 毛冬青药材中 neopubescensin 的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(2): 144-145.
- (编辑: 宋威)

近红外光谱法快速分析广升麻药材

肖浩¹, 严小红², 江英桥², 王自², 侯惠婵²(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州市药品检验所, 广东 广州 510160)

摘要: **目的** 建立广升麻药材快速分析方法。**方法** 建立广升麻药材一致性模型与聚类分析模型, 运用最小偏二乘法(PLS)建立广升麻中蜕皮甾酮含量与其近红外光谱之间的校正模型, 并对未知样品进行含量预测。**结果** 利用一致性模型与聚类分析模型能够准确的区分广升麻药材与其混用品, 定量校正模型决定系数 R^2 为 92.34, 内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.94, 外部验证均方差(RMSEP)为 0.33。**结论** 该方法准确、快速, 为广升麻药材的快速分析方法的建立提供了科学依据。

关键词: 近红外光谱法; 广升麻; 快速分析

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0506-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.021

Rapid Analysis of Radix Serratulae Chinensis by Near-Infrared Spectroscopy

XIAO Hao¹, YAN Xiaohong², JIANG Yingqiao², WANG Zi², HOU Huichan²(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To develop a method for rapid analysis of Radix Serratulae Chinensis. **Methods** We established conformity model and cluster analysis model for Radix Serratulae Chinensis, and partial least squares were used to establish the calibration model for content of ecdysone in Radix Serratulae Chinensis and near-infrared spectrum. **Results** The conformity and cluster analysis model can be used to accurately identify Radix Serratulae Chinensis and its adulterants, the determination coefficient of calibration was 92.34, root mean square error of cross validation(RMSECV) was 0.94, and root mean square error of prediction deviation(RMSEP) was 0.33. **Conclusion** The near-infrared spectroscopy method is accurate and rapid, which provides the scientific basis for the rapid analysis of Radix Serratulae Chinensis.

Keywords: Near-infrared spectroscopy; Radix Serratulae Chinensis; Rapid analysis

收稿日期: 2013-07-01

作者简介: 肖浩, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药分析。Email: haoshawn@163.com。通讯作者: 江英桥, 主任中药师, 研究方向: 中药分析。Email: jiangyq@gzfdca.gov.cn。

基金项目: 国家药品标准提高暨 2015 版药典科研项目。