

15.13%, 平均相对误差为 5.07%, 整体预测效果较好; 而水分的相对误差最大者达 26.39%, 平均相对误差为 11.54%, 整体预测效果较差, 但未出现超标值, 这可能与甲苯法测定水分含量的准确度有关。

4 讨论

4.1 关于水分定量分析 按 2005版《中国药典》规定六味地黄丸合格品的水分含量应为不大于 12%, 属于含量较大的组分, 也是近红外光谱法能够较为准确测定的成分。但从模型的预测结果来看, 与甲苯法测定值存在较大差异, 相对误差最大者达到 26.39%, 说明利用甲苯法测定的水分含量准确度较差, 因此, 要提高模型的预测性能, 水分真值的准确测定方法必须改进。

4.2 关于马钱苷、丹皮酚定量分析 马钱苷和丹皮酚是 2005版《中国药典》规定的两个指标成分, 合格的六味地黄丸(水蜜丸)丹皮酚含量不低于 0.9 mg/g, 马钱苷含量应不低于 0.7 mg/g, 虽然含量较低, 但利用所建模型预测 22个未知样品, 马钱苷的平均误差为 4.28%, 丹皮酚的平均相对误差为 5.07%, 可见模型的预测效果较好, 因这两个指标由 HPLC法测定, 准确度较高, 从而大大提高了建模效果。

通过对六味地黄丸(水蜜丸)进行近红外光谱分析研究, 建立了六味地黄丸水分、丹皮酚和马钱苷含量的近红外光谱定量分

析数学模型, 其预测性能均较高, 可以实现快速分析六味地黄丸中水分、丹皮酚和马钱苷的含量, 表明近红外光谱分析技术在六味地黄丸生产过程中质量控制方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典, I 部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 401.
 [2] 范铭然, 孟庆繁, 林凤, 等. 近红外光谱-偏最小二乘法快速测定八角茴香中莽草酸含量[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1199.
 [3] 史贵连, 叶福丽. 近红外漫反射光谱法在中药材分析中的数学模型及其评价[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 120.
 [4] 陈斌, 严衍禄. 近红外光谱法快速分析葛根中的有效成分[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(6): 976.
 [5] 臧鹏, 陈斌, 严衍禄, 等. 短波近红外光谱法测定葛根中总异黄酮含量[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2614.
 [6] 李军会, 秦西云, 张文娟, 等. 样品装样、测试条件等因素对近红外检测结果的影响与分析误差源比较研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1571.
 [7] 严衍禄, 赵龙莲, 韩东海, 等. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 146.
 [8] 张银, 周孟然. 近红外光谱分析的数据处理方法[J]. 红外技术, 2007, 29(6): 345.

商陆药材中商陆皂苷甲的含量测定

王瑞^{1,2}, 李文艳³, 赵森森^{1,2}, 俞桂新^{1,2}, 王峥涛^{1,2}

(1. 上海中医药大学中药学院·教育部中药标准化重点实验室, 上海 201203

2 上海中药标准化研究中心, 上海 201203

3 上海市浦东新区公利医院, 上海 200135)

摘要:目的 建立商陆药材中商陆皂苷甲的高效液相色谱(HPLC)分析方法。方法 采用 Ultimate AQ-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱, 以乙腈-0.02% 磷酸(32:68)为流动相, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 203 nm, 柱温 30℃。结果 商陆皂苷甲在 1.0~7.0 μg 呈良好的线性关系, r=0.9999, 平均回收率为 99.1% (RSD=2.7%)。8批不同产地商陆药材中商陆皂苷甲的质量分数在 0.25%~0.62%。结论 方法简单、重复性好, 可用于商陆药材的质量控制。

关键词: 商陆; 商陆皂苷甲; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2010)05-1066-02

Determination of Esculentoside A in Radix Phytolaccae by HPLC

WANG Rui^{1,2}, LI Wen-yan³, ZHAO Sen-sen^{1,2}, CHOU Gui-xin^{1,2}, WANG Zheng-tao^{1,2*}

(1 Shanghai University of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China; 2 Shanghai R&D Center for Standardization of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China; 3 Pharmacological Department of Gongli Hospital of Pudong New Area, Shanghai 200135, China)

Abstract Objective To develop a quantitative method for determination of esculentoside A in Radix Phytolaccae. **Methods** The samples were separated at 30°C on a Ultimate AQ-C₁₈ (5 μm, 4.6 mm × 250 mm) column eluted with acetonitrile-0.02% phosphoric acid (32:68) as the mobile phase. Flow rate was set at 1.0 ml/min and the detection wavelength was set at 203 nm. **Results** The calibration curve was linear within the range of 1.0 to 7.0 μg (r=0.9999) and the average recovery was 99.1% (RSD=2.8%). 8 batches of the drugs purchased from different areas were determined and the contents of esculentoside A in Radix Phytolaccae were fluctuated from 0.25% to 0.62%. **Conclusion** The method is simple, repeatable and can be used for the quality control of Radix Phytolaccae.

Key words Radix Phytolaccae; Esculentoside A; HPLC

收稿日期: 2009-09-17 修订日期: 2009-12-02

基金项目: 上海市科委科研项目(No. 06DZ19737)

作者简介: 王瑞(1973-), 女(汉族), 辽宁本溪人, 现任上海中医药大学中药学院副教授, 博士学位, 主要从事中药药效物质基础与质量标准研究工作。

商陆(Radix Phytolaccae)为商陆科植物商陆 *Phytolacca acinosa* Roxb 或垂序商陆 *Phytolacca americana* L. 的干燥根, 具有逐水消肿、通利二便、解毒散结之功效^[1]。商陆中主要含有商陆皂苷活性成分, 具有抗炎、免疫增强、抗肿瘤等多种药理作用, 其中以商陆皂苷甲含量最高^[2,3]。现行《中国药典》标准中商陆项下仅

见药材性状和显微鉴别,无专属性指标成分用于该药材的质量控制。商陆皂苷甲的含量测定方法文献报道较少,仅见双波长薄层扫描法和高效液相色谱法(HPLC-ELSD)^[4,5],但效果不佳。因此,本文建立了商陆中商陆皂苷甲的HPLC-UV含量测定方法,并对不同产地样品进行测定。

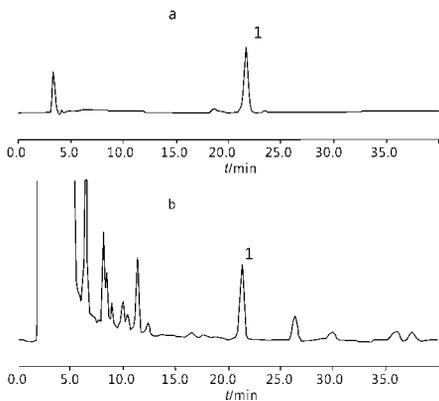
1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津公司,包括四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、工作站);乙腈(色谱纯,德国Merck公司);水(纯净水);其它试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。商陆皂苷甲对照品由上海中药标准化研究中心制备(纯度>98%)。

实验所用商陆药材由上海中药标准化研究中心吴立宏副研究员收集并鉴定,标本保存在上海中药标准化研究中心。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Ultimate AQ-C₁₈色谱柱(4.6mm×250mm,5μm);流动相为乙腈-0.02%磷酸(32:68);检测波长203nm;流速1.0mL/min;柱温30℃;进样量20μL;理论板数按商陆皂苷甲峰计算应不低于3000。对照品和样品的HPLC图见图1。



a-对照品 b-样品 1商陆皂苷甲
图1 对照品及样品的HPLC图

2.2 对照品溶液的制备 取商陆皂苷甲对照品适量,精密称定,加甲醇制成每毫升含150μg的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过3号筛)约1g精密称定,置圆底烧瓶中,精密加80%甲醇20mL称定重量,加热回流1h,放冷,再称定重量,用80%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察 取商陆皂苷甲对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成0.2006mg/mL的对照品溶液,按上述色谱条件测定,分别进样5,10,15,20,25,30,35μL以对照品含量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,得回归方程为Y=633.210X+1.828.3,r=0.999.9,商陆皂苷甲在1.0~7.0μg呈良好的线性关系。

2.5 检测限和定量限 取对照品溶液,用甲醇依次稀释制成系列浓度由高到低的溶液,测得商陆皂苷甲的检测限(S/N=3)为10.0ng,定量限(S/N=10)为24.1ng(RSD=2.2%)。

2.6 精密密度实验 取同一供试品溶液,在上述色谱条件下连续进样6次,测得商陆皂苷甲色谱峰面积的RSD为0.4%,仪器精密密度良好。

2.7 重复性实验 取同一样品粉末6份,精密称定,按“2.3”项下操作,在上述色谱条件下进样测定,测得商陆皂苷甲色谱峰面积并计算含量,RSD为0.9%。

2.8 稳定性实验 取样品粉末约1g精密称定,按“2.3”项下操作,在上述色谱条件下,分别于0,1,2,4,8,12,24,36,48,72h进

样分析,测得商陆皂苷甲色谱峰面积的RSD为0.9%,表明供试品溶液在72h内稳定。

2.9 回收率实验 取已知含量的商陆样品9份约0.5g,精密称定,分别按已知量的50%、100%和150%3个水平加入商陆皂苷甲对照品,按“2.3”项下操作,在上述色谱条件下进样测定。结果见表1。

表1 商陆皂苷甲加样回收率实验结果

称样量 m/g	样品含有 量m/mg	加入量 m/mg	测得量 m/mg	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
0.5015	1.376	0.693	2.043	96.3		
0.5007	1.374	0.693	2.052	97.9		
0.5003	1.373	0.693	2.038	96.0		
0.5022	1.378	1.386	2.803	102.8		
0.5017	1.377	1.386	2.732	97.8	99.1	2.7
0.4998	1.371	1.386	2.715	96.9		
0.4993	1.370	2.079	3.449	100.0		
0.5019	1.377	2.079	3.509	102.5		
0.5001	1.372	2.079	3.485	101.6		

2.10 样品测定 分别取商陆样品粉末约1g精密称定,按“2.3”项下操作,制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20μL进样分析,按干燥品计算商陆皂苷甲(C₄₂H₆₆O₁₆)的含量。结果见表2。

表2 不同产地商陆中商陆皂苷甲的含量测定结果

编号	收集地	水分*(%)	质量分数(%)
1	上海雷允上药业有限公司(2006-08-01)	10.3	0.50
2	上海华宇药业有限公司(2006-03-30)	11.4	0.54
3	安徽亳州(2006-07-25)	10.5	1.13
4	河南郑州(2006-08-12)	12.3	0.46
5	云南昆明(2006-07-25)	11.5	0.66
6	广西南宁(2006-07-25)	10.1	0.68
7	上海中医药大学植物园(2008-10-21)	9.9	0.52
8	上海中医药大学植物园(2008-10-21)	10.1	0.55

*按《中国药典》2005年版I部附录IX H水分测定法第一法测定;n=3

3 讨论

本研究建立了商陆中商陆皂苷甲的HPLC-UV含量测定法,并测定了8批不同产地样品的含量。不同批次商陆中商陆皂苷甲的质量分数在0.25%~0.62%,均值0.35%,差异较大,有必要对其进行质量控制。本方法简便,专属性强,重复性好,可用于商陆的质量控制,为商陆质量标准的完善奠定了基础。

在供试品溶液制备方法上,对提取溶剂(乙醇,80%乙醇,50%乙醇,甲醇,80%甲醇,50%甲醇)、提取方法(冷浸,超声振荡,直接回流)、提取时间(30,60,90min)和提取溶剂量(20,40,60倍)进行考察,最终确定提取方法为1g样品加80%甲醇20mL加热回流1h。

耐受性试验中,对不同色谱柱(Shiseido C₁₈MG, Ultimate XB-C₁₈, Ultimate AQ-C₁₈; 5μm, 4.6mm×250mm)进行考察,结果均符合含量测定要求,耐受性良好。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典, I部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 227.
 [2] 黄康泰. 常用中药成分与药理手册[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 1612.
 [3] 贾金萍, 秦雪梅, 李青山. 商陆化学成分和药理作用的研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2003, 34(1): 89.
 [4] 范大钧, 安登奎, 李修禄, 等. 双波长薄层扫描法测定商陆及制剂中商陆皂苷甲的含量[J]. 药物分析杂志, 1994, 14(6): 44.
 [5] 邢浩, 庞雷. 高效液相色谱法测定商陆植物中皂苷甲的含量[J]. 中日友好医院学报, 2004, 18(5): 304.