

· 技术与方法 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.20.024

高效液相法对不同厂家十八味党参丸中党参炔苷及没食子酸水平的检测研究*

李子璇¹, 李 勇², 罗 超¹, 白彩娟¹, 扎 桑¹, 聂丽娟^{1△}

(西藏大学:1. 医学院;2. 理学院, 拉萨 850000)

[摘要] **目的** 探讨高效液相法检测不同厂家产十八味党参丸中党参炔苷和没食子酸的水平。**方法** 色谱柱均为 VP-DOS C₁₈ 柱(4.6 mm×150.0 mm, 5 μm)。党参炔苷水平测定:流动相乙腈:0.4%冰醋酸洗脱(21:79),流速 1 mL/min,检测波长 267 nm,柱温 25 ℃,试样进样量 10 μL;没食子酸水平测定:流动相甲醇:0.4%冰醋酸洗脱(1:99),流速 1 mL/min,检测波长 280 nm,柱温 25 ℃,试样进样量 10 μL。**结果** 青海格拉萨丹藏药厂十八味党参丸中党参炔苷和没食子酸水平分别是 1.083 5、15.334 0 mg/g,西藏昌都藏药厂为 0.628 9、15.159 5 mg/g,西藏藏医院为 0.306 5、8.762 7 mg/g。**结论** 该方法重现性好、准确性好、操作简单快速;不同生产厂家产的十八味党参丸中党参炔苷水平差异显著,没食子酸水平差别较大,可为十八味党参丸质量控制提供参考。

[关键词] 十八味党参丸;党参炔苷;没食子酸**[中图法分类号]** R286**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)20-2809-03

Study on content determination of lobetyolin and gallic acid in Eighteen Flavors Dangshen Pill from different factories*

Li Zixuan¹, Li Yong², Luo Chao¹, Bai Caijuan¹, Zha Sang¹, Nie Lijuan^{1△}

(1. Medical College; 2. School of Science, Tibet University, Lasha, Tibet 850000, China)

[Abstract] **Objective** To develop a HPLC method for determining the contents of lobetyolin and gallic acid in Eighteen Flavors Dangshen Pill (EFDSP) produced by different factories. **Methods** The HPLC analysis was performed on a VP-DOS C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile and 0.4% glacial acetic acid(21:79) in the determination of lobetyolin content. The detection wavelength was 267 nm and the flow velocity was 1 mL/min, the column temperature was 25 ℃ and the sample size was 10 μL. The mobile phase was methanol and 0.4% glacial acetic acid(1:99) in the determination of gallic acid content. The detection wavelength was 280 nm. The column temperature was 25 ℃ and the sample size was 10 μL. **Results** The contents of lobetyolin and gallic acid in EFDSP were 1.0835 mg·g⁻¹ and 15.334 0 mg/g for Qinghai Gela Dandong Tibetan Pharmaceutical Factory; 0.628 9 mg/g and 15.159 5 mg/g for Changdu Tibet Medicine Factory; 0.306 5 mg/g and 8.762 7 mg/g for Tibetan Hospital of Tibet. **Conclusion** This method has the advantages of good reproducibility, good accuracy, simple and fast operation. The contents of lobetyolin and gallic acid in EFDSP produced by different manufacturers are significantly different. The gallic acid content has greater difference. It provides the reference for quality control of EFDSP

[Key words] eighteen flavors dangshen pill; lobetyolin; gallic acid

藏药是中国民族医药中重要的组成部分,许多具有非常显著的疗效,尤其对于疑难杂症更有一些其他药物所无法比拟的治疗效果^[1]。藏药与西药不同,成分复杂且不清晰,其疗效也不是众多成分作用简单的加合,由于现在对藏药基础研究较为薄弱,缺乏现代质量控制方法,极大地制约了藏医药的发展^[1]。十八味党参丸是经典的藏药品种,由藏党参、决明子、川贝、渣驯膏、高山紫堇、藏菖蒲、宽筋藤、手参、诃子、人工麝香、毛诃子、乳香、黄葵子、安息香、儿茶、巴夏嘎、木香、余甘子十八味药组成。具有消炎止痛,愈疮疡、除黄水,用于痹病,“冈巴”病,四肢关节红肿疼痛,伸屈不利,湿疹,牛皮癣,陷蚀癣,疔痛,亚玛虫病及麻风病。目前国内外对十八味党参丸的研究甚少,仅限于对过敏性紫癜、风湿病、关节炎、银屑病、牛皮癣等疾病的影响^[2-8]。藏党参中的党参炔苷对乙醇造成的胃黏膜损伤有较好的保护作用,为党参胃黏膜保护作用的主要活性成分;余甘子的活性成分没食子酸具有抑制并杀死肿瘤、抗菌抑菌、抗氧化

性等作用。本文选取十八味党参丸中专属性成分党参炔苷及主要药效成分没食子酸两个指标作为研究对象,对其水平进行测定,为十八味党参丸质量控制提供参考。

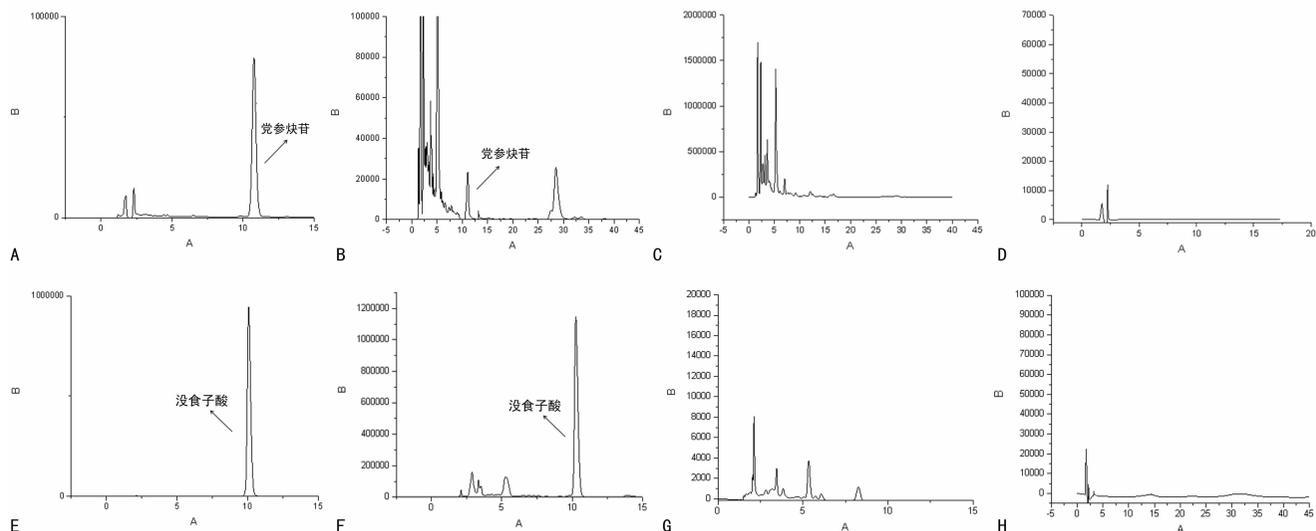
1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 仪器 HT2010A 液相色谱(日本岛津公司);KT-250DE 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);FA2004B 万分之一电子天平(上海精密科学仪器有限公司);XP6 百万分之一电子天平(瑞士 MET-TLER TOLEDO 公司);小型高速粉碎机(YS-08);液相用容积过滤器(DL-01)。

1.1.2 药品与试剂 甲醇(色谱纯,韩国德山药品工业);乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司);甲醇(分析纯,成都金山化学试剂有限公司);冰醋酸(成都金山化学试剂有限公司);液相用水为娃哈哈瓶装纯净水。党参炔苷对照品(批号:20151028,北京生物科学与技术有限公司),没食子酸对照品

* 基金项目:西藏大学青年培育基金(ZDPJZK1511);西藏自治区自然科学基金资助项目(2016ZR-15-10)。 作者简介:李子璇(1979-),讲师,硕士,主要从事药用植物方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:771310824@qq.com。



A: 党参炔苷对照品; B: 党参炔苷样品; C: 党参炔苷阴性对照; D: 党参炔苷空白对照; E: 没食子酸对照品; F: 没食子酸样品; G: 没食子酸阴性对照; H: 没食子酸空白对照

图 1 十八味党参丸中党参炔苷和没食子酸样品、对照品及阴性对照的 HPLC 色谱图

(批号:20142019,中国药品生物制品检定所)。

1.1.3 实验材料 实验用十八味党参丸分别来自:西藏藏医学院(生产批号:150405)、青海格拉丹东藏药厂(生产批号:1507101)、西藏昌都藏药厂(生产批号:150601)。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱均为 VP-DOS C_{18} 柱(4.6 mm×150.0 mm,5 μ m)。党参炔苷水平测定:流动相乙腈:0.4%冰醋酸洗脱(21:79),流速 1 mL/min,检测波长 267 nm,柱温 25 $^{\circ}$ C,试样进样量 10 μ L;没食子酸水平测定:流动相甲醇:0.4%冰醋酸洗脱(1:99),流速 1 mL/min,检测波长 280 nm,柱温 25 $^{\circ}$ C,试样进样量 10 μ L。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取党参炔苷对照品 3.680 mg 置 25 mL 量瓶,加甲醇溶解并定容,得 147.2 μ g/mL 的党参炔苷储备溶液。将该储备溶液分别稀释至 58.88、29.44、14.72、11.78 μ g/mL 作为对照品溶液,低温保存备用。精密称取没食子酸对照品 16.090 mg 置于 25 mL 量瓶中,加入 30% 甲醇溶解并定容,得 643.6 μ g/mL 的没食子酸储备溶液。将该储备溶液分别稀释至 275.440、128.720、51.488、25.744、5.1488 μ g/mL 作为对照品溶液,低温保存备用。

1.2.3 供试品溶液的制备 将十八味党参丸样品粉碎、过筛,作为供试样品备用。精密称取供试品 2 g,加入甲醇 20 mL,密封,称定其质量;超声提取 60 min(250 W,40 kHz),放至室温后再次称定,加甲醇补足损失的质量;提取液经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,即为党参炔苷供试品溶液。精密称取供试样品 0.25 g,加入 30% 甲醇 20 mL,密封,称定其质量;浸泡提取 24 h,再次称定,加 30% 甲醇补足损失的质量;提取液经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,即为没食子酸供试品溶液。

2 结果

2.1 系统适应性实验 按色谱条件进行操作,分别取对照品和供试品进行测定,并记录色谱图。

2.2 线性 党参炔苷的回归方程为: $Y=5\ 043.8X-1\ 059.6$, $r^2=0.999\ 93$;表明党参炔苷进样量在 0.117~1.472 μ g,线性范围良好;没食子酸的回归方程为: $Y=24\ 374X+32\ 571$, $r^2=0.999\ 95$;表明没食子酸进样量在 5.1488~643.6 μ g,线性范

围良好。

2.3 重复性试验 取同一批样品(西藏昌都藏药厂,生产批号:150601),制备 6 份样品液,按色谱条件进行测定,结果党参炔苷及没食子酸面积 RSD 分别为 1.0%、0.5%,远小于中国药典关于重复性的要求,表明重复性良好。

2.4 精密度实验 取党参炔苷和没食子酸的对照品,按色谱条件测定,连续进样 6 次,结果党参炔苷及没食子酸面积 RSD 分别为 0.6%、0.4%,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取党参炔苷样品(西藏昌都藏药厂,生产批号:150601)进行提取,分别于 0、1、2、3、4、5 d 按色谱条件测定,测得党参炔苷及没食子酸面积 RSD 分别为:1.2%、1.8%,均小于中国药典关于重现性的要求,结果表明待测成分 5 d 内稳定性良好。

2.6 阴性对照及空白对照实验 按样品处方比例分别制备不含藏党参、余甘子的阴性样品溶液,及纯甲醇作为空白,色谱图在对照品色谱峰停留时间处无色谱峰出现,表明阴性对照品及空白对照无干扰。见图 1。

2.7 加样回收率实验 取已知含量的十八味党参丸成药样品 6 份(西藏昌都藏药厂,生产批号:150601),分别加入适量对照品储备液,计算加样回收率。党参炔苷和没食子酸 RSD 分别为 3.1%、1.1%。表明检测方法准确度良好。见表 1、2。

表 1 党参炔苷加样回收实验结果

样品量(g)	样品中含量(μ g)	加标量(μ g)	测定结果(μ g)	回收率(%)	RSD(%)
1.002 5	704.14	426.73	1074.28	92.0	
1.001 7	600.85	426.73	987.57	93.3	
1.000 5	630.25	426.73	974.63	90.1	3.1
1.002 6	654.81	426.73	1 068.39	97.9	
1.001 5	628.11	426.73	996.50	90.7	
1.000 7	617.59	426.73	979.98	91.2	

2.8 样品测定 党参炔苷和没食子酸的水平见表 3。

表 2 没食子酸加样回收实验结果

样品量(g)	样品中含量(μg)	加标量(μg)	测定结果(μg)	回收率(%)	RSD(%)
0.251 8	4 254.30	5 362.13	9 626.53	100.2	
0.251 1	4 221.05	5 362.13	9 500.20	98.4	
0.251 9	4 288.90	5 362.13	9 598.78	99.0	1.1
0.250 1	4 260.27	5 362.13	9 487.69	97.5	
0.251 5	4 340.28	5 362.13	9 721.04	100.4	
0.250 4	4 244.12	5 362.13	9 512.12	98.2	

表 3 不同生产厂家样品中党参炔苷和没食子酸的水平比较

厂家(生产批号)	党参炔苷(mg/g)	没食子酸(mg/g)
青海格拉丹东藏药厂(批号:1507101)	1.083 5	15.334 0
西藏昌都藏药厂(批号:150601)	0.628 9	15.159 5
西藏藏医学院(批号:150405)	0.306 5	8.762 7

3 讨 论

本实验就十八味党参丸中党参炔苷和没食子酸的提取方法和色谱条件中流动相系统进行了考察。由于传统醇类回流提取耗时较长、操作相对繁杂,本实验采取了超声方法和浸泡的方法提取党参炔苷和没食子酸。在考察党参炔苷的提取方法时,结合查阅的文献^[9-11],采用是否浸泡再超声、不同量的甲醇及不同的提取时间进行提取,结果发现提取效率较高,针对所选用的色谱柱,流动相选用乙腈:0.4%冰醋酸水溶液(21:79),分离度最好,能用于十八味党参丸中党参炔苷水平检测。在考察没食子酸的提取方法时,用30%、50%、75%甲醇进行提取,结果发现用30%甲醇提取效果最好,结合所查文献^[12-14],针对所选用的色谱柱,选用甲醇:0.4%冰醋酸水溶液(1:99)分离度最好,可用于没食子酸的水平测定。

本实验的结果表明不同厂家的十八味党参丸中这两种有效成分水平差别较大,说明不同厂家可能在源头上选用的中药材质量存在着差异,或是生产设备及其工艺参数等的不同导致有效成分提取不完全,从而造成这样的差异。这些差异很可能不同程度影响着药品的疗效。提示必须进一步加强对民族药品质

量控制研究,增加有针对性的检验项目,尤其对配方中的名贵药味。本实验由于实验材料购买不便,所用不同药厂的药品均只有一批,按照本文的检测方法,是否同一药厂药品原本就存在较大的批间差异尚需进一步验证。

参考文献

- [1] 张喜民,张怡沛,赵良功.二十五味松石丸的质量标准研究[J].中成药,2009,31(5):815-816.
- [2] 由文峰,白树军.藏药十三味红花散合十八味党参丸治疗过敏性紫癜 15 例小结[J].甘肃中医,2001,14(1):61-62.
- [3] 龙巴.藏医藏药治疗风湿病 88 例临床观察[J].医学文选,2001,20(1):64-65.
- [4] 赵秀花.藏医药浴治疗类风湿性关节炎 78 例临床体会[J].中国民族民间医药,2012,21(12):4.
- [5] 李毛先.藏医药浴治疗强直性脊柱炎的观察与护理[J].青海医药杂志,2013,43(8):42-43.
- [6] 彭毛东,胡燕芹,娘毛才,等.藏医药浴治疗关节病性银屑病 24 例临床分析[J].青海医药杂志,2009,39(6):79-80.
- [7] 冯德海,更桑,安维梅.藏药治疗银屑病 60 例临床疗效观察[J].民族医学,2012,25(5):46-47.
- [8] 拉青才让.藏医治疗牛皮癣的体会[J].医学文选,2005,24(6):954-955.
- [9] 李颖,张宽,叶华,等.高效液相色谱法测定两种不同来源党参中党参炔苷的含量[J].海峡药学,2014,26(6):47-49.
- [10] 孙鑫,张伟,寇文龙,等.秦岭党参质量控制标准研究[J].陕西中医学院学报,2013,36(2):98-107.
- [11] 刘书斌,张樱山,李硕,等.甘肃不同产地党参中表征成分党参炔苷的含量分析[J].甘肃中医学院学报,2014,31(5):15-19.
- [12] 李晓梅,赵琪钟,罗松.HPLC 法测定藏药余甘子中没食子酸的含量测定[J].中国民族医药杂志,2006(5):70-74.
- [13] 王艳萍,赵琪钟,王丽莎.HPLC 法测定余甘子喉片中没食子酸的含量[J].中国药师,2009,12(9):1226-1228.
- [14] 冀静,杨继家,廖琦,等.藏药余甘子中三种黄酮类成分的 HPLC 含量测定研究[J].中药与临床,2013,3(4):14-19.

(收稿日期:2017-02-13 修回日期:2017-04-25)

(上接第 2808 页)

- [6] Stewart BW, Christopher P. World cancer report 2014 [M]. The World Health Organization: IARC Nonserial Publication, 2014.
- [7] 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组/全国幽门螺杆菌研究协作组,刘文忠,谢勇,等.第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J].中华消化杂志,2012,32(10):655-661.
- [8] 房静远,刘文忠,李兆申,等.中国慢性胃炎共识意见[J].

现代消化及介入诊疗,2013,18(2):119-128.

- [9] 李艳,王东林.胃癌动物模型构建的研究进展及多因素比较分析[J].医学研究杂志,2016,45(10):9-11.
- [10] Faustino-Rocha AI, Ferreira R, Oliveira PA, et al. N-Methyl-N-nitrosourea as a mammary carcinogenic agent [J]. Tumour Biol, 2015, 36(12):9095-9117.

(收稿日期:2017-02-07 修回日期:2017-04-12)