

不同粒径藏茜草粉体中大叶茜草素的含量分析与比较研究

马玉花¹ 张小龙² 李容榕¹

(1. 青海民族大学药学院, 青海省青藏高原植物化学重点实验室, 青海 西宁 810007;

2. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041)

摘要:目的 考察不同粒径的藏茜草粉体中大叶茜草素含量变化特征和规律。方法 制备 10~300 目的藏茜草粉样品, 采用高效液相色谱法测定大叶茜草素含量, 色谱柱为 Kromasil C₁₈(4.6mm×250mm) 流动相甲醇-水-四氢呋喃(343:90:3) 检测波长 250nm。结果 大叶茜草素对照品在 0.52~2.60μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好线性关系, 回归方程为 $Y=306042.1X+103512.3$ $r=0.9993$, 平均回收率为 99.5% RSD 为 2.61%, 具有较好的精密度和重复性。结论 大叶茜草素的含量随着藏茜草粉粒径的变小而增加, 当粉碎到 80 目以上时, 大叶茜草素的含量不再随粒径的减小而增加。

关键词: 藏茜草; 大叶茜草素; 不同粒径; 高效液相色谱

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2015.12.038

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2015)12-2914-02

藏茜草为茜草科植物西藏茜草的干燥根及根茎^[1], 具有凉血止血、活血通经的功效^[2], 是藏药成方制剂中常用的藏药材, 多采用原药材打粉入药^[3]。相关研究表明, 淫羊藿、葛根等药材的粒径不同, 其有效成分的含量也不同^[4-5]。药粉粒径对某些中药材活性成分的溶出也有影响^[6-7], 因此粒径的变化会导致粉体表面积的改变, 可能引起药物溶出速率的改变, 进而影响药物的吸收和疗效。作者将藏茜草加工成不同粒径, 以大叶茜草素为藏茜草代表有效成分^[8-9], 采用 HPLC 法对不同粒径藏茜草粉体中大叶茜草素的含量进行了分析比较研究, 以期探寻藏茜草的粒径与大叶茜草素的含量之间的变化规律, 为藏茜草制剂研究和藏茜草资源的合理利用提供理论依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LK-2000A 粉碎机(新昌县城关红利数控制造厂); RT-25 超微粉碎机(北京兴时利和科技发展有限公司); 日本岛津高效液相色谱仪 LC-10AP 二元泵, Rheodyne7725 进样器, SPD10AVP 二极管阵列检测器, Class-VP 液相色谱工作站; SB-5200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); BS210S 电子分析天平(德国 Satorius 公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

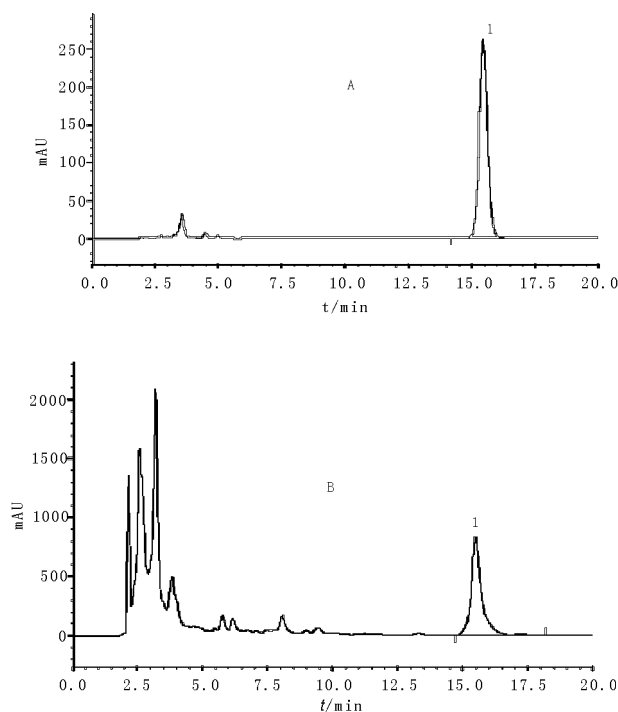
1.2 试剂 藏茜草药材购于九康药材市场, 由中国科学院西北高原生物研究所纪兰菊副研究员鉴定; 大叶茜草素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110884-200604); 流动相所用甲醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司); 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 藏茜草粉体的制备 用粉碎机将干燥的藏茜草粉碎, 分别过 10、24、50、65、80、100、120、150、200、240、300 目的标准筛, 制得不同粒径藏茜草粉体。

2.2 HPLC 分析条件 色谱柱 Kromasil C₁₈(4.6mm×250mm); 流动相: 甲醇-水-四氢呋喃(343:90:3); 流速: 1ml·min⁻¹; 检

测波长: 250nm; 柱温: 30℃; 在上述条件下, 大叶茜草素与其他成分的色谱峰分离度良好, 理论塔板数不低于 4000。对照品溶液、藏茜草供试品溶液的色谱图见图 1。



1. 大叶茜草素

图 1 对照品(A)、藏茜草供试品(B) HPLC 图

2.3 溶液的制备 精密称取大叶茜草素对照品适量, 加甲醇制成 0.13 mg·ml⁻¹ 的对照品溶液, 即得对照品溶液。取藏茜草粉末约 2g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 25ml, 称定重量, 浸泡过夜, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 再用甲醇稀释 5 倍, 即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密吸取大叶茜草素对照品溶液(0.13mg·ml⁻¹) 4.0、8.0、12.0、16.0、20.0μl, 依次进样, 测定其峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 进样量(μg)为横坐标, 绘制标准曲

收稿日期: 2015-04-24; 修订日期: 2015-09-10

基金项目: 青海省自然科学基金(No. 2010-Z-746)

作者简介: 马玉花(1978-), 女(回族), 青海西宁人, 青海民族大学药学院副教授, 硕士学位, 主要从事药物制剂及分析的教学与科研工作。

线。结果表明,大叶茜草素对照品在 0.52~2.60 μg 范围内,进样量与峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $Y = 306042.1X + 103512.3$ $r = 0.9993$ 。

2.5 精密度试验 精密吸取“2.3”项下对照品溶液各 20 μl ,连续进样 5 次,记录各色谱峰的峰面积,大叶茜草素峰面积的 RSD 为 0.41%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于配置后的 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 20 μl ,记录各色谱峰的峰面积,大叶茜草素峰面积的 RSD 为 0.82%,表明供试品溶液在常温下 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一藏茜草粉末(100 目),按照“2.3”项下方法平行制备供试品溶液 5 份,进样 20 μl ,测定峰面积,计算含量,样品中大叶茜草素质量分数平均值为 6.081 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 为 2.55%,表明方法重复性良好。

2.8 回收率试验 取已知含量的样品粉末(100 目)约 1.0 g,精密称定 5 份,各精密加入大叶茜草素对照品溶液(0.13 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 5 ml。按供试品溶液的制备方法制备待测液,进样 20 μl ,依次测定。结果见表 1。

表 1 大叶茜草素的加样回收率

称样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 / %	平均回收 率 / %	RSD / %
1.0007	6.0853	0.650	6.7332	99.68		
1.0026	6.0968	0.650	6.7370	98.49		
1.0018	6.0919	0.650	6.7204	96.69	99.60	2.61
0.9998	6.0798	0.650	6.7259	99.40		
0.9992	6.0761	0.650	6.7493	103.57		

$n = 5$

2.9 样品测定 分别取 10, 24, 50, 65, 80, 100, 120, 150, 200, 240 和 300 目的藏茜草粉,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,进样 20 μl ,依次测定,计算大叶茜草素的含量。结果见表 2 及图 2。

表 2 藏茜草粉中大叶茜草素的含量测定结果

粒径目	含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	粒径目	含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
10	1.860	120	5.100
24	2.446	150	5.264
50	3.789	200	5.548
65	4.709	240	5.245
80	6.254	300	5.448
100	6.084		

$n = 2$

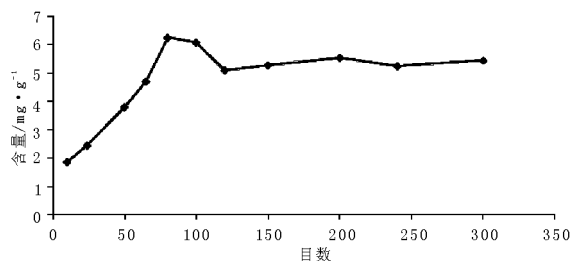


图 2 藏茜草粉中大叶茜草素的含量测定结果

3 讨论

分别考察回流、超声和振摇三种提取方式的提取效果,发现

回流和超声的提取率高,考虑到超声简便,故确定提取方法为超声。

考察了体积分数为 50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇和乙醇等溶剂对供试品溶液制备效果的影响,结果表明,70% 甲醇、甲醇、乙醇溶剂的供试品溶液中大叶茜草素的含量基本一致,用甲醇提取的供试品溶液,杂质峰较少,故选择甲醇作为提取溶剂。

分别考察超声提取 20, 30, 40, 50, 60 min 的提取率,超声处理 30 min,含量不再增加,即可提取完全,因此超声时间定为 30 min。

在流动相的选择上,根据参考文献资料^[10-11]分别考察了甲醇-水(80:20)、甲醇-乙腈-0.2% 磷酸(25:52:23)、甲醇-水-水-四氢呋喃(310:90:3)、甲醇-水-水-四氢呋喃(343:90:3)等流动相,结果表明,甲醇-水-水-四氢呋喃(343:90:3)得到的色谱峰对称,分离度好。

由表 2 和图 2 可知,大叶茜草素含量随着藏茜草粒径的变小而增加,当粉碎到 80 目时,大叶茜草素的含量达到最高,之后含量不再随粒径的减小而增加,200、240 及 300 目的超微粉并没有增加大叶茜草素的含量,这与药材粒径变小,比表面积增大,增大了和溶出介质间的有效接触面积,缩短了溶剂进入颗粒中心的距离,从而有利于有效成分溶出的理论是不一致的^[12],主要是由于藏茜草超微粉后粉体之间容易团聚,阻碍了大叶茜草素的溶出,所以超微粉后溶出效果并没有得到改善。为了保证有效成分的溶出及节约生产成本,将藏茜草粉粒径控制在 80 目即可。

参考文献:

- [1] 青海省卫生厅. 青海省藏药标准[S]. 1992: 38.
- [2] 张振英, 黄显峰. 茜草药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志 2007, 16(15): 2172.
- [3] 国家卫生部. 药品标准·藏药. 第一册[S]. 1992: 326.
- [4] 谷宇峰, 刘兆颖, 孙志良. 高效液相色谱法测定不同粒径淫羊藿中淫羊藿苷的溶出量[J]. 中国畜牧兽医 2013, 40(3): 224.
- [5] 刘蕊, 戴娜, 李健, 等. 不同粒径粉碎对葛根主要有效成分葛根素溶出影响的研究[J]. 中兽医医药杂志 2011, 1: 40.
- [6] 何洁, 向丽, 张水寒, 等. 不同粒径的防风粉体外溶出度研究[J]. 中国药房 2012, 23(47): 4449.
- [7] 鹿丽丽, 萧伟, 徐连明, 等. 不同粒径三七粉物理性质及体外溶出度的比较研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化 2013, 15(2): 305.
- [8] 李鹏, 胡正海. 茜草的生物学及化学成分与生物活性研究进展[J]. 中草药 2013, 44(14): 2009.
- [9] 王静, 王晋, 高荣, 等. 茜草提取方法及活性成分的药理作用研究[J]. 疾病监测与控制杂志 2012, 6(4): 225.
- [10] 薛丽, 陈世忠, 索菲娅, 等. HPLC 法测定茜草饮片中大叶茜草素的含量[J]. 药物分析杂志 2009, 29(3): 363.
- [11] 唐宇伟, 孙彬贤, 黄德杰. 参茜固经颗粒中大叶茜草素含量测定[J]. 中成药 2005, 27(1): 28.
- [12] 丁志平, 乔延江. 不同粒径黄连粉体中小檗碱体外溶出研究[J]. 中国实验方剂学杂志 2004, 10(3): 5.