

· 论著 ·

独一味总环烯醚萜苷分离纯化工艺的优化

陶锐^{1,2}, 付萌², 曹馨元¹, 李茂星¹ (1. 兰州军区兰州总医院药剂科/全军高原特殊环境损伤防治重点实验室, 甘肃兰州 730050; 2. 银川市妇幼保健院药剂科, 宁夏银川 750001)

[摘要] 目的 优化独一味总环烯醚萜苷的制备工艺, 获取纯度相对较高的总环烯醚萜苷。方法 以甲醇-水为流动相, 梯度洗脱方式建立分离分析独一味总环烯醚萜苷的高效液相色谱方法, 实现各组分最佳分离, 统计、记录其三维吸收图谱, 并结合紫外全波长扫描, 对前期制备的独一味总环烯醚萜苷中影响纯度的杂质特征进行分析, 根据杂质特性优化大孔树脂结合聚酰胺柱制备过程, 紫外实时监测, 剔除杂质, 产品溶液经冷冻干燥获得冻干粉, 并以 HPLC 对比前后制备工艺产品成分差异。结果 工艺优化前产品中环烯醚萜苷含量为 69.06%, 优化后含量为 90.60%, 含量提升 21.54%; 本次制备总产率为 16.70% (以水提取物的质量为参照), 总环烯醚萜苷转移率为 74.72% (相对于水提取物中总环烯醚萜苷的质量)。结论 优化过程简单, 操作步骤可控, 易于实现, 纯化效果显著。

[关键词] 独一味; 环烯醚萜苷; 制备; 工艺优化; 含量

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)05-0416-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.05.009

Optimization of the separation and purification process for iridoid glycosides from *Lamioplomisrotata*

TAO Rui^{1,2}, FU Meng², CAO Xinyuan¹, LI Maoxing¹ (1. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, PLA, Lanzhou 730050, China; 2. Pharmacy of Yinchuan Maternal and Child Health Care Hospital, Yinchuan 750001, China)

[Abstract] **Objective** To obtain iridoid glycosides with relatively high purity by the optimization of the preparation process of iridoid glycosides from *Lamioplomisrotata*. **Methods** Used methanol-water mobile phase with gradient run to set up an HPLC method and achieved the best separation of each composition. Recorded and calculated statistics for its three-dimensional absorption spectrum combined with UV visible wavelength scanning to analyze the characteristics of the impurities, which have affected the purity of previous preparations of iridoid glycosides from *Lamioplomisrotata*. To optimize the process, a macroporous adsorptive resin chromatographic column and a polyamide chromatographic column were used on the basis of characteristics of the impurities. A real time UV visible wavelength scan was applied to monitor the effluent components of each column to remove the impurities. Merged the ethanol elution which had the characteristic absorption at 235 nm and smaller absorptions at other wavelengths. The target solutions were cryodesiccated. Compared the differences of the iridoid glycoside compositions at equal concentrations before and after the experiment by HPLC. **Results** The contents of iridoid glycosides from *Lamioplomisrotata* before and after the purification process were 69.06% and 90.60% respectively. The yield was 16.70% (use the quality of the water extract as a reference). The transfer rate of iridoid glycosides was 74.72% (relative to the quality of water extract of total iridoid glycosides). Compared with the previous preparation technology, the content was increased to 21.54%. **Conclusion** The optimization process was simple and practicable with high efficiency, which made a significant improvement in the purity of the iridoid glycosides from *Lamioplomisrotata*.

[Key words] *Lamioplomisrotata* (Benth.); iridoids glycosides; preparation; process optimization; content

[基金项目] 甘肃省科技重大专项(1102FKDA012); 甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2014-1)

[作者简介] 陶锐, 硕士研究生. 研究方向: 天然药物化学, 中药新药研究与开发. Tel: 15209516673; E-mail: 15002535162@163.com

[通讯作者] 李茂星, 博士, 副主任药师, 硕士生导师. 研究方向: 中药新药研究与开发. Tel: (0931) 8994676; E-mail: limaox2005@aliyun.com

独一味为唇形科的一种高原植物, 生长于海拔 3 000 m 以上的碎石滩或退化、半退化草原^[1], 为藏、蒙、纳西等民族习用药材之一^[2], 随着分离及制剂水平的逐步发展, 独一味药材乃至制剂在全国范围内广泛使用。临床现使用的各种制剂大多以水提取物直接或者间接制成, 其中“独一味片”、“独一味颗粒

剂”、“独一味胶囊”等系列产品,已先后入选《中国药典》和国家药品基本目录,用于治疗创伤骨科,癌性疼痛,外伤、手术出血疼痛,风湿痹痛及崩漏痛经等症,且疗效显著,无严重不良反应发生^[3-6]。为明确独一味有效部位及作用机制,课题组采用大孔树脂结合聚酰胺柱的色谱分离装置对其组成成分进行了分离制备,且获得制备独一味总环烯醚萜苷工艺的国家发明专利^[7]。有大量文献报道,独一味中的环烯醚萜苷类化合物具有很好的镇痛、止血活性^[8-11],具有一定的研究、开发意义和潜能。本研究以获取高纯度独一味环烯醚萜苷产物为目的,以甲醇-水为流动相,梯度洗脱方式建立了分离分析独一味总环烯醚萜苷的高效液相色谱方法(HPLC),实现了各组分最佳分离。通过统计、记录其三维 HPLC 吸收图谱,并结合紫外全波长扫描结果,分析前期制备所得独一味总环烯醚萜苷中影响纯度的杂质特征,根据杂质特性优化大孔树脂结合聚酰胺柱制备过程,紫外实时监测,剔除杂质,产品溶液经冷冻干燥获得纯度大于 90% 的独一味总环烯醚萜苷,达到了以有效部位为主要成分的中药注射剂质量要求,为独一味新剂型的开发及其生物活性的深入研究提供了参考和基础。且此次优化过程简单、操作步骤可控、可重现,易于实现,纯化结果显著。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国, Waters; 包括 waters 1525 型四元泵, waters-2998 型二极管阵列检测器, waters-2707 型自动进样器, waters-TCM 型柱温箱), 紫外可见分光光度计(HP-8453, 美国惠普公司), 电子分析天平(BP210s, Sartorius 公司), 超声波清洗器(SK7200H, 上海科导超声仪器有限公司), 耐压玻璃柱(60x6), 冷冻干燥机(Telster Lyo-Quest-55plus 型, 西班牙)。聚酰胺(20~40 目, 浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂, 批号: 20111228), 大孔吸附树脂(D-101 净品型, 天津市海光化工有限公司, 批号: 130530), 独一味药材(购自玛曲县黄河首曲药源开发有限公司), 95% 乙醇(德州家益康消毒制品有限公司, 批号: 130302), 蒸馏水。

2 基础研究

2.1 溶液配制 精密称取前期制备所得总环烯醚萜苷产物 1 g 并置于 10 ml 容量瓶中, 加入 8 ml 30% 甲醇, 超声处理 30 min 后定容、摇匀, 置于 4 °C 冰箱作为样品溶液母液备用。

2.2 紫外全波长检测 取上述样品母液适量, 以注

射用水稀释至浓度为 50 μg/ml, 并在 200~400 nm 范围内进行紫外全波长扫描, 结果见图 1。实验以 8-乙酰氧基山梔子苷甲酯为标准品, 在 252 nm 下采用一阶导数法获得标准曲线为: $A = -0.001C - 0.0004$ (A 为吸光度, C 表示样品浓度, 单位 μg/ml), 并计算得样品总环烯醚萜苷含量为 69.06%。

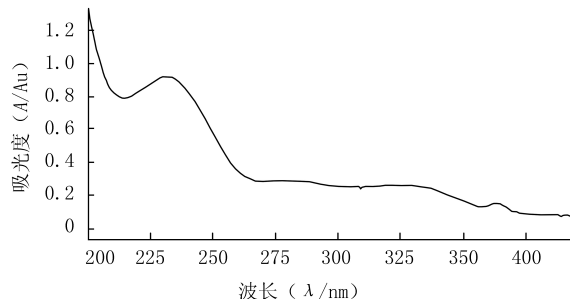


图 1 前期制备所得总环烯醚萜苷的紫外吸收图谱

2.3 HPLC 分离分析色谱柱 Symmetry C₁₈ 制备型色谱柱(10.0 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水, 梯度洗脱: 0~10 min, 10%; 10~12 min, 10%~15%; 12~32 min, 15%; 32~34 min, 15%~30%; 34~60 min, 30%; 60~62 min, 30%~70%; 62 min 后 70% 甲醇; 每个分离流程结束后以 10% 甲醇冲洗 30 min。流速 4.8 ml/min, 检测波长为 235 nm, 柱温 25 °C, 进样量 200 μl。

2.4 结果分析 由图 1 可以看出, 200 nm 处样品具有较强的末端吸收, 且在大于 250 nm 的长波区仍有吸收峰出现。实验以低比例甲醇-水为流动相的反相高效液相色谱法, 梯度洗脱方式对样品所含组分进行了分离, 最大程度确保各组分均实现良好的分离度。为便于分析各组分的紫外吸收情况及影响纯度的杂质特征, 实验统计、记录了其三维吸收图谱, 结果见图 2(该图为 HPLC 分离时各组分紫外吸收的俯视图, 吸收斑点中心即为最大吸收波长)。图中显示横坐标为保留时间, 纵坐标为紫外扫描波长, 18 min 前成分复杂, 但未见独一味环烯醚萜苷类成分(独一味环烯醚萜苷在 230~240 nm 有特征吸收^[12])出现, 并且这些成分均显示出较大的极性。18~70 min 的吸收峰吸收斑点中心均在 230~240 nm 之间, 属环烯醚萜苷类成分。70 min 处有较强吸收, 但未能实现完全分离, 由图可见后续色谱过程中分离出的化合物均非独一味环烯醚萜苷, 提示此部分化合物极性较环烯醚萜苷小。

综上所述, 前期制备所得独一味总环烯醚萜苷含有部分杂质, 且杂质与环烯醚萜苷相比, 极性集中

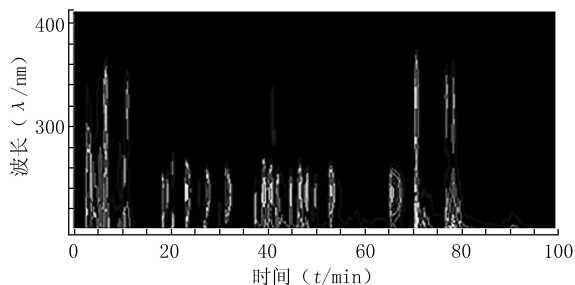


图2 前期制备所得总环烯醚萜苷的 HPLC 三维图谱

于两个极端,易于分离、剔除。

3 分离纯化工工艺的优化

3.1 填料预处理 取聚酰胺 1 600 ml、大孔吸附树脂 1 200 ml,分别置于 2 000 ml 烧杯中,加 500 ml 95% 乙醇搅拌清洗,10 min 后过滤并弃除滤液,重复此过程两次后加 800 ml 95% 乙醇,静置过夜。次日弃去滤液,并以 95% 乙醇反复搅拌清洗(洗至醇水比 1 : 5 不浑浊)。湿法装柱,以水为流动相冲洗至洗脱液中无乙醇味。

3.2 独一味水提取液制备 称取独一味药材 500 g 并粉碎,10 倍量水超声提取,间隔 15 min 取 20 μl 稀释至 3 ml,紫外全波长扫描并记录 λ 为 235 nm (环烯醚萜苷)时的吸收值,提取至环烯醚萜苷成分紫外吸收值不再增加,静置 30 min 后滤出提取液。同法 2 次提取至吸收值不再增加,并以吸收值对时间作图,确定提取终点,结果见图 3。

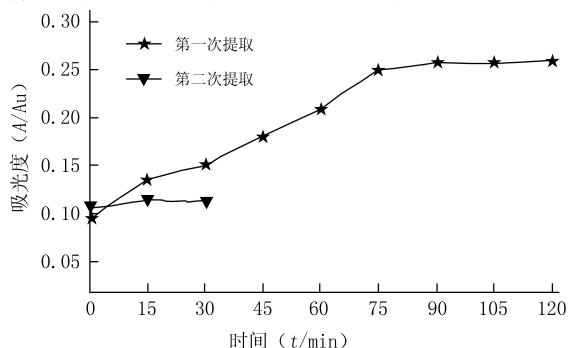


图3 提取液紫外吸光度随提取时间变化图

3.3 制备总环烯醚萜苷 取适量提取液匀速、缓慢注入已预处理好的聚酰胺色谱柱中,紫外全波长扫描实时监测柱下端流出液成分,防止柱填料超载,待完全上样后蒸馏水洗脱,并检测水洗脱液紫外吸收情况。合并上样时柱下端流出液及水洗脱液,并注入已处理好的 D101 型大孔树脂柱中,静置过夜,次日以蒸馏水洗脱大孔吸附树脂柱至流出液紫外吸收近似于水,改用 75% 乙醇继续洗脱,流出液每 50 ml

收集一份,监测至无环烯醚萜苷类成分流出,吸收度对洗脱体积作图得大孔树脂洗脱曲线,如图 4。合并 235 nm 处有特征吸收且其他吸收较少的乙醇洗脱物,40 °C 旋转蒸发浓缩回收溶剂,浓缩液放置于冷冻干燥机内干燥,14 h 后即得总环烯醚萜苷冻干粉。

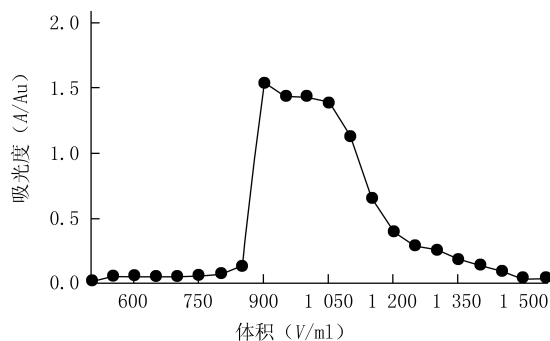


图4 大孔树脂洗脱曲线

4 优化前后产品的纯度对比

4.1 紫外全波长检测 同“2.2”项下操作,对相同浓度的工艺优化前后产品进行紫外扫描。结果见图 5。

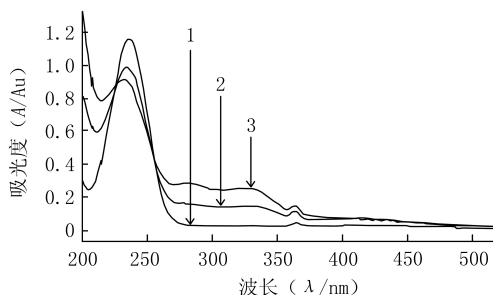


图5 紫外吸收图谱

注:1.独一味总环烯醚萜苷单体——8-乙酰氧基山梔子苷甲酯;2.工艺优化后总环烯醚萜苷;3.工艺优化前总环烯醚萜苷

4.2 HPLC 分离分析 精密称取制备工艺优化前后产品(总环烯醚萜苷)各 10 mg,分别置于 10 ml 容量瓶内,并加入 8 ml 30% 甲醇,超声处理 30 min 后定容、摇匀,得待测样品溶液。

色谱条件:色谱柱为 Symmetry C₁₈ 分析型色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相:甲醇-水,梯度洗脱:0~15 min,15%;15~17 min,15%~30%;17~48 min,30%;48~50 min,30%~70%;50 min 后 70% 甲醇;每个分离流程结束后以 15% 甲醇冲洗 30 min。流速 1.0 ml/min,检测波长为 235 nm,柱温 25 °C,进样量 20 μl。结果见图 6。

5 结果

5.1 药材提取实验 为快速获得用以大孔吸附树

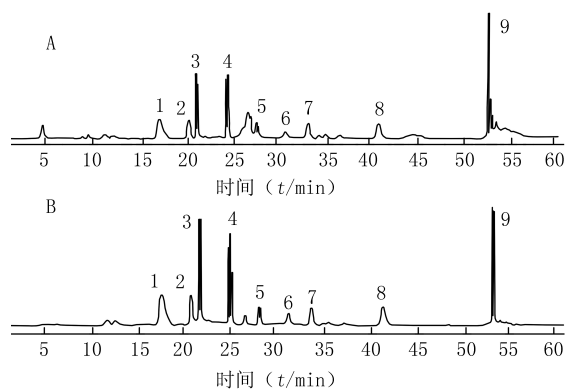


图6 相同浓度制备工艺优化前(A)和
后(B)产品的HPLC色谱图

脂结合聚酰胺柱进行产品分离制备的材料,选择超声提取法获得水提取液,统计数据获得独一味药材超声提取法的相关参数(图3),实验结果表明独一味药材粉碎后加10倍量水超声提取90 min即可完全提取出环烯醚萜苷类成分,不需二次或多次提取。为衡量超声法提取效率,实验对提取液进行分类处理,即取一定量(250 ml)药材提取液冷冻干燥,获得干燥产物,精密称定后计算得本次对500 g独一味使用超声法提取得率为20.56%,且以8-乙酰氧基山栀子苷甲酯为标准品,在252 nm下采用一阶导数法获得标准曲线为: $A = -0.001C - 0.0004$ (A 为吸光度, C 表示样品浓度,单位 $\mu\text{g/ml}$),并计算得提取物中环烯醚萜苷类成分百分含量为20.25%。综上所述,超声法提取独一味药材提取时间较短且完全,很大程度上节省了时间和成本,利于本实验的开展。

5.2 产品制备 大孔树脂柱上样完全后静置过夜,次日以蒸馏水洗脱,并实时监测水洗脱液紫外吸收至近似蒸馏水,改用大孔树脂柱以75%药用乙醇洗脱,实时监测醇洗脱液成分,并以吸光度对洗脱体积作图得大孔树脂洗脱曲线,结果如图4,洗脱液回收有机溶剂后冷冻干燥,即得总环烯醚萜苷,本次制备总产率为16.70% (以水提取物的质量为参照),总环烯醚萜苷转移率为74.72% (相对于水提取物中总环烯醚萜苷的质量)。

5.3 制备工艺 优化前后产品纯度如图5所示,制备工艺优化后总环烯醚萜苷短波处末端吸收较优化前产品吸收值明显下降,相同浓度的产品主峰最大吸收值增加(230~240 nm),长波处吸收降低。以8-乙酰氧基山栀子苷甲酯为标准品,在252 nm下采用一阶导数法计算得工艺优化前产品总环烯醚萜苷含量为69.06%,优化后产品总环烯醚萜苷含量为

90.60%,含量提升21.54%,纯化效果显著。

为全面、准确反映本实验对制备工艺的优化结果,实验采用分析型高效液相色谱,梯度洗脱方式,对相同浓度的制备工艺优化前后产品,在相同色谱条件下进行高效液相色谱分离分析。结果如图6所示,制备工艺优化后产品在本色谱过程中15 min内基线平稳,基本无杂质的微弱吸收,15~45 min内各吸收峰独立,且分离度良好,未见有杂质影响,54 min处出现最大峰,峰型良好、独立。而制备工艺优化前产品在0~15 min内有部分弱吸收出现,15~45 min内各吸收峰相对独立,但27 min处峰型波动,存在干扰成分,且44~47 min基线波动明显,54 min处吸收峰峰型拖尾严重,且含有部分微弱吸收,提示此处非单独化合物。且工艺优化后产品各峰吸收度(峰高)明显较工艺优化前产品高,且峰宽较大,说明工艺优化后产品中环烯醚萜苷的百分含量明显提高。

为准确反映本次制备工艺优化结果,实验对各产品高效液相色谱图中的主要且共有吸收峰的相关信息进行了统计、分析,通过自动积分获取峰面积、保留时间及各峰所占整个体系的百分比。结果显示:1-9号峰保留时间基本一致,但峰面积、峰高均存在不同比例的差异,制备工艺优化前产品各峰面积、峰高均不同程度的小于制备工艺优化后产品,结果见表1。

表1 制备工艺优化前后产品HPLC结果分析表

峰编号	优化前(A)		优化后(B)		峰面积比 B/A
	保留时间 (t/min)	峰面积 ($\mu\text{V} \cdot \text{s}$)	保留时间 (t/min)	峰面积 ($\mu\text{V} \cdot \text{s}$)	
1	17.10	3 067 010	17.18	4 965 229	1.62
2	20.42	1 125 941	20.47	2 242 262	1.99
3	21.33	2 245 574	21.34	4 161 848	1.85
4	24.68	3 687 093	24.72	4 337 472	1.18
5	27.90	786 883	27.93	1 012 921	1.29
6	31.33	523 617	31.18	809 856	1.55
7	33.61	1 436 200	33.67	1 430 227	1.00
8	41.48	1 585 287	41.55	2 167 492	1.37
9	53.65	5 412 587	53.66	6 470 894	1.20
合计		19 870 194		27 598 201	1.39

注:1~9号峰为制备工艺优化前后各产品HPLC图谱中所共有的主要峰

6 讨论

6.1 独一味提取及干燥方法 实验以独一味药材为原材料,采用大孔吸附树脂结合聚酰胺柱的色谱分离装置进行产品分离制备。因此,首先需制得含

环烯醚萜苷的独一味提取物水溶液或水提取液。药用独一味为干燥的地上部分^[12],且多为叶,其中环烯醚萜苷类成分水溶性良好,因此可用多种方法提取。实验为避免前期制备工艺中使用有机溶剂提取后回收溶剂、浓缩、脱脂及提取液冷却等重复操作环节,为节约提取时间和成本,实验选择超声提取法制备独一味水提取液。为衡量超声法提取效率,在药材提取过程中对提取时间进行了考察,便于再次实验,确保实验的可重复性;通过对提取液的处理,获取了本次提取的相关数据(取一定量药材提取液冷冻干燥,得干燥的独一味水提取物,精密称定后计算得本次对独一味使用超声法提取产率为20.56%,环烯醚萜苷类成分的百分含量为20.25%),便于本次制备工艺优化结果的衡量、计算。

前期实验结果发现,独一味提取物经加热处理后出现颜色加深等情况,本次实验为避免样品经高温处理和干燥过程损耗,采用冷冻干燥法。干燥过程物料不受高温影响,且真空环境使得干燥产品堆密度较小,易于溶解且色泽良好。为防止因隔板升温过快导致待干燥物料塌陷、干燥产物堆密度过大难以移出等现象的发生,实验对每段流程进行1或数小时的保温处理,且隔板处于不断加热状态,加速升华,加快干燥速度,方法简单、稳定,无物料的损耗。实验工艺优化结果显示环烯醚萜苷纯度高于90%,且主要成分明确(独一味环烯醚萜苷特征吸收峰均在230~240 nm之间)^[13],有望将其开发为以独一味总环烯醚萜苷为有效部位的中药注射剂。但环烯醚萜苷类化合物的水溶液易于水解,酸、碱稳定性较差^[14],且易发霉,不便保存,因此本实验的相关方法为注射粉针剂等的制备提供了新参考。

6.2 前期制备所得环烯醚萜苷纯度分析 为准确定位前期制备所得独一味总环烯醚萜苷中影响纯度的杂质,实验以甲醇-水为流动相、梯度洗脱方式,最大程度地保证了各个化合物的有效分离。但高效液相色谱图只能体现吸收峰(保留时间、峰形、大小等)的一般特征,不能直观的对其进行定性。因此实验在各类成分达到最佳分离的同时,对HPLC分离过程、结果以其三维HPLC吸收图谱的方式进行了捕捉和体现,结果见图2,图中横坐标为保留时间,纵坐标为紫外扫描波长,吸收斑点中心即为最大吸收波长,由图谱即可直观看出各化合物的特征。为避免待分析、分离样品浓度太小,造成图谱吸收不明显,不便于分析,实验选用了较高的适宜浓度样品。图谱分离结果明显,表现方式直观。

6.3 制备工艺优化 本实验的分离方法、装置及基本参数均基于课题组前期制备独一味总环烯醚萜苷工艺的国家发明专利^[7]。基础研究发现(由图2可知),影响产品纯度的主要因素为部分极性过大与过小成分(反相高效液相色谱),且杂质极性与环烯醚萜苷类成分差异较大。因此,实验对聚酰胺柱、大孔吸附树脂柱上样时严格控制上样和柱下端液体流出速度,避免因流速过快造成待分离组分未能被吸附;且保持上样液高出柱填料1~2 cm,保证色谱柱分离时不受外加压力影响,样品可充分且均匀向填料各方向分散、吸附。课题组前期的制备工艺仅对流速做了相应控制,存在缺陷,结合影响纯度的杂质特征,实验以紫外检测器实时监测各柱下端流出液成分,防止因填料超载,影响纯度。因此实验在保证各色谱柱不超载等前提下,对已上样完毕的大孔吸附树脂柱采取静置过夜处理(环烯醚萜苷类成分被充分吸附),次日低流速蒸馏水冲洗,检测水洗脱液紫外吸收近似于水(确保大极性成分剔除干净),改用75%乙醇冲洗,并得大孔吸附树脂洗脱曲线,如图4。图中数据显示,大孔吸附树脂对于独一味环烯醚萜苷具有很强的吸附及筛分能力,且对解吸附溶剂具有较高的选择性,洗脱过程中环烯醚萜苷较为集中,洗脱曲线似正态分布,提示恰当比例的洗脱溶剂可获得浓度较为集中的独一味环烯醚萜苷类成分,利于产品溶液的浓缩、干燥。

6.4 制备工艺优化前后产品对比分析 图6、表1所示为相同浓度的制备工艺优化前后产品,在相同色谱条件下的高效液相色谱图及谱图信息表,由图可知,工艺优化后产品各峰吸收度(峰高)明显较工艺优化前产品高,且峰宽较大,说明工艺优化后产品中环烯醚萜苷的百分含量明显提高。为准确反映本次制备工艺优化结果,实验对各产品高效液相色谱图中的主要且共有吸收峰的主要信息进行了统计。结果显示:1~9号峰保留时间基本一致,但峰面积存在不同比例的差异,制备工艺优化前产品各峰面积、峰高均不同程度的小于制备工艺优化后产品;紫外全波长扫描结果显示,制备工艺优化前产品含环烯醚萜苷69.06%,优化后环烯醚萜苷含量为90.60%,即制备工艺优化后产品环烯醚萜苷含量为制备工艺优化前产品的1.31倍(见图5)。经此高效液相色谱图峰面积积分计算,两种产品1~9号峰峰面积总值为1.39,(优化后产品比优化前产品,结果见表1)。两种计算结果较为接近,但由于高效液相色谱法只针对环烯醚萜苷吸收峰进行了积分处

(下转第449页)

RSD=0.87% ($n=3$); 0.140 mg/g, RSD=0.89% ($n=3$)。

3 讨论

色谱条件的选择,通过对吸收光谱的分析,黄芩苷在 265 nm 处有最大吸收,灵敏度高,阴性对照在此处没有吸收,故选择 265 nm 作为黄芩苷的检测波长。

流动相乙腈-0.5%磷酸溶液以 26:74 较合适,在本系统条件下理论塔数大于 5 600,试验时间短,辅料不影响含量测定。

对康得灵胶囊测定的结果表明,不同批号制剂的黄芩苷含量具有一定的差异。本实验采用 HPLC 法对制剂中的黄芩苷含量进行测定,该方法准确、简便、重现性好、灵敏度高,可作为该制剂的质量标准含量测定方法。

(上接第 420 页)

理,且为特定化合物的定量统计,结果不受非环烯醚萜苷类成分的影响,而紫外全波长扫描检测是对于化合物整体进行统计,制备工艺优化前产品含杂质成分相对较多,末端吸收及非环烯醚萜苷类成分的紫外特征吸收较高,干扰主峰吸收值(如图 5 所示),因此其总比值略小于 HPLC 测定结果,符合定量方法性质差异,结果证实本研究所使用定量方法结果可靠。综上所述,本次实验对于环烯醚萜苷制备工艺优化取得良好效果,很大程度上提升了总环烯醚萜苷的纯度。

综上所述,本次制备工艺及产品与前期相比优化效果明显,实验依据科学,各步骤数据完整,易于重复,且操作简单合理,独一味总环烯醚萜苷纯度达到了以有效部位为主要成分的中药注射剂质量要求,且所含主要成分明确。

【参考文献】

[1] 孙辉,蒋舜媛,冯成强,等.独一味 *Lamiophlomisrotata* 野生资源现状与存在的问题[J].中国中药杂志,2012,37(22):3500-3504.
[2] 樊鹏程,马慧萍,景临林,等.反相制备液相色谱同时分离制备独一味中 4 种环烯醚萜苷类化合物[J].中草药,2012,43(4):699-701.
[3] 郑晓霞,代大平.独一味胶囊在骨折治疗中的临床观察[J].现代中医药杂志,2002,(5):86

【参考文献】

[1] 陈玉敏,曹红,路军章,等.HPLC 法测定复方竹叶石膏颗粒中野黄芩苷的含量[J].解放军药学学报,2013,29(4):365-366.
[2] 李永钦,周井炎,徐辉碧.黄芩苷的抗氧化作用[J].华中理工大学学报,1999,27(4):110-112.
[3] 王瑞,李玉娟,毕开顺,等.HP-HPLC 法测定解毒直透汤中连翘苷、绿原酸及黄芩苷的含量[J].中药材,2004,24(4):287-288.
[4] 李守拙,李沈明,范书泽.黄芩茎叶中野黄芩苷含量测定[J].中国医药杂志,2008,6(5):40-41.
[5] 舒德忠,郑小敏,胜明智.高效液相色谱法测定消炎止咳糖浆中黄芩苷的含量[J].中国药师,2008,11(8):947-948.
[6] 薛黎明,秦雪梅,张丽增.不同产地黄芩药材的黄芩苷含量测定及指纹图谱研究[J].中成药,2008,30(1):10-13.

【收稿日期】 2014-12-31 【修回日期】 2015-09-28

【本文编辑】 顾文华

[4] 王美华.独一味片治疗药物流产后出血过多和腹痛 120 例[J].湖南中医杂志,2006,22(1):40.
[5] 倪春芳,刘清.盐酸吗啡缓释片联合奇正消痛贴治疗晚期癌性疼痛的临床研究[J].河北医药杂志,2013,35(16):2470-2471.
[6] 叶飞,杨洪彬,徐永旭,等.独一味胶囊治疗类风湿性关节炎 69 例的临床研究[J].世界中医药,2007,2(6):339-340.
[7] 贾正平.从藏药独一味中提取总环烯醚萜苷的方法及其用途[P].中国.200410011679.0.2005-08-31.
[8] Li MX,Shang XF,Zhang RX,et al.Antinociceptive and anti-inflammatory activities of iridoid glycosides extract of *Lamiophlomisrotata* (Benth.) Kudo[J].Fitoterapia,2010,81(3):167-172.
[9] Li MX,Zhang RX,Jia ZP,et al.Isolation and identification of hemostatic ingredients from *Lamiophlomisrotata* (Benth.) Kudo[J].Phytother Res,2009,23(6):816-822.
[10] Li MX,Jia ZP,HuZD,et al.Experimental study on the hemostatic activity of the Tibetan Medicinal Herb *Lamiophlomisrotata*[J].Phytother Res,2008,22(6):759-65.
[11] 张凤,孙连娜,陈万生.独一味的化学成分及药理作用[J].药学实践杂志,2008,26(3):169-171.
[12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2010 年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:245.
[13] 陶锐,李茂星,张泉龙,等.HPLC 结合 PDA、MS 分离制备独一味中 9 种环烯醚萜苷[J].中药材,2014,37(3):439-442.
[14] 徐任生.天然产物化学[M].2 版.上海:科学出版社,2004:184.

【收稿日期】 2015-11-02 【修回日期】 2016-05-17

【本文编辑】 顾文华