

的条件下,混合溶剂 A 作为夹带剂,经超临界 CO₂ 萃取后其有害成分——银杏酚酸可完全被脱除,而活性成分银杏黄酮、内酯却几乎没有损失。此工艺步骤少,易操作,生产周期短,成品可以用于生产药品和保健食品,有很大的市场前景。

References

[1] Lu D Q, Chen J. Pharmacological studies on ginkgolide [J]. *J Jiangsu Univ Sci Tech- Natural Sci* (江苏理工大学学报·自然科学版), 2001, 22(2): 5-9.
[2] Yang Y F, Wu G Y. Survey of pharmacological studies on *Ginkgo biloba* leaves (I) [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国

现代应用药学), 1995, 12(5): 12-15.
[3] Yang Y F, Wu G Y. Survey of pharmacological studies on *Ginkgo biloba* leaves (II) [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 1995, 12(6): 5-8.
[4] Zhang D Q, He Z F. *Chemical Studies on Resources of Ginkgo biloba Leaves* (银杏叶资源化学研究) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999.
[5] Yao W X, Yang C, Tian Y. Rapid determination of ginkgolides and bilobalide in leaves of *Ginkgo biloba* Lour and its extracts by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(1): 38-41.
[6] Han J Y, Li H J, Zhu Q W. Progress in the research of ginkgolides from *Ginkgo biloba* [J]. *Prog Chem Ind Eng* (化工进展), 2000, (2): 23-25.

刺五加提取物中五加苷 B E含量的 RP-HPLC测定方法的改进

惠玉虎*

(西安天诚医药生物工程有限公司,陕西 西安 710075)

刺五加提取物是从五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎中提取的有效成分经喷雾干燥而得,其中主要含有各种苷类如五加苷 B、E(又分别称为丁香苷和紫丁香树脂苷)及多种木脂素类、异秦皮啶和黄酮类成分^[1]。关于五加苷 B 的测定已有文献报道^[2-3],笔者也曾采用 RP-HPLC法对五加苷 B、E 的含量进行了测定,但有些样品中五加苷 B 存在分离不完全的情况^[4]。为了准确地测定刺五加提取物中五加苷 B、E 的含量,我们对该方法进行了改进和研究,采用梯度方法对五加苷 B、E 的含量进行了测定。结果该方法准确、可靠可用于刺五加提取物的质量控制。

1 仪器与试剂

美国 Waters600 型高效液相色谱仪, Waters717型自动进样器, Waters486型紫外检测器,北京精瑞计算机技术公司色谱工作站 (GS2010 型), KQ-250型超声波清洗器。

五加苷 B、E对照品 (含量 99%)均由美国 Alpha 实验室提供,刺五加提取物为西安天诚医药生物工程有限公司生产。甲醇、乙腈为分析纯,水为二次重蒸馏水。

2 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-水;流速: 1.0 mL/min;检测波

长: 220 nm;灵敏度: 0.01 AUFS;柱温: 25℃。梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相的梯度洗脱

Table 1 Gradient elution of mobile phase		
时间	A相: 乙腈-水 (8: 92)	B相: 乙腈-水 (20: 80)
0	100%	0%
30	0%	100%

在上述色谱条件下,五加苷 B、E 与杂质完全分离,五加苷 B、E 保留时间分别约 11、25 min (图 1)。

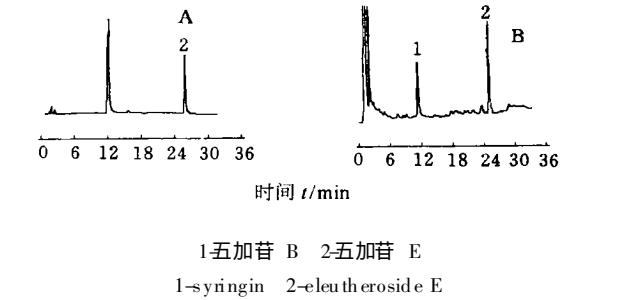


图 1 五加苷 B、E 对照品 (A) 和刺五加提取物 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 Chromatograms of syringin, eleutheroside E reference substance (A) and extraction (B)

3 方法及结果

- 3.1 对照品溶液的制备: 精密称取五加苷 B、E 对照品各约 1.50 mg, 于 25 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇溶解并定容至刻度, 即得对照品溶液。
- 3.2 供试样品溶液的制备: 精密称取刺五加提取物样品适量于 25 mL 容量瓶中, 加入 80% 甲醇约 20

* 收稿日期: 2002-07-02

m L,超声振荡 30 min后,静置至室温,定容。用 0. 45 μ m的微孔滤膜过滤,即得供试样品溶液。

3. 3 线性关系考察: 分别精密称取五加苷 B、E对照品各 5 mg,用 80% 甲醇溶解,定容至 25 mL,分别吸取 1. 5, 2. 5, 4. 0, 5. 0, 7. 5, 10. 0 mL于 10. 0 mL容量瓶中,用 80% 甲醇定容。进样 10μ L,在上述色谱条件下测定峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,由标准曲线可知: 五加苷 B、E在 0. 3~ 2. 0μ g具有良好的线性关系,线性回归方程: 五加苷 B为 $Y=1.3913X-0.0009$, $r=0.9999$; 五加苷 E为 $Y=0.5479X-0.0032$, $r=0.9999$ 。

3. 4 精密度试验: 精密吸取五加苷 B、E对照品溶液分别连续进样 5次,每次进样 10μ L,测定峰面积。五加苷 B峰面积 RSD为 0. 44% ($n=5$),五加苷 E峰面积 RSD为 0. 60% ($n=5$)。

3. 5 重现性试验: 精密称取同一批号刺五加提取物样品(批号为 020406)适量,按供试样品处理方法测定 5份,结果五加苷 B平均含量为 0. 31%, RSD为 0. 67% ($n=5$); 五加苷 E平均含量为 0. 51%, RSD为 0. 73% ($n=5$)。

3. 6 稳定性试验: 精密吸取刺五加供试品溶液,每隔 2 h进样测定 1次,进样量 10μ L,测定峰面积,五加苷 B的 RSD为 0. 53% ($n=6$),五加苷 E的 RSD为 0. 68% ($n=6$)。结果表明供试品溶液在 12 h内基本稳定。

3. 7 回收率试验: 精密称取已知含量的刺五加提取物样品,分别添加一定量的五加苷 B、E对照品,按供试样品处理方法测定。五加苷 B平均回收率为 99. 3%, RSD为 0. 42% ($n=4$); 五加苷 E平均回收率为 99. 0%, RSD为 0. 78% ($n=4$)。

3. 8 样品测定: 精密称取刺五加提取物样品 10批,按供试样品处理方法,测定结果见表 2。

表 2 刺五加提取物中五加苷 B、E的含量测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of determination of syringin and eleutheroside E in extraction ($n=3$)			
批 号	五加苷 B/%	五加苷 E/%	总含量/%
020406	0. 31	0. 51	0. 82
020407	0. 32	0. 52	0. 84
020501	0. 30	0. 52	0. 82
020512	0. 31	0. 51	0. 82
020701	0. 33	0. 50	0. 83
020703	0. 32	0. 52	0. 84
020704	0. 31	0. 51	0. 82
020705	0. 30	0. 52	0. 82
020706	0. 32	0. 50	0. 82
020710	0. 32	0. 51	0. 83

4 讨论

4. 1 检测波长的选择: 经紫外扫描,五加苷 B、E对照品的 80% 甲醇溶液在 190~ 700 nm波长内,最大吸收波长为 220 nm,故选择 220 nm作为最大检测波长。

4. 2 波动相比比例的确定: 在上述色谱条件下,本实验对流动相 A相、B相分别选择了不同比例的甲醇-水、乙腈-水和多种梯度条件进行试验。结果证明: 流动相选择乙腈-水进行梯度洗脱,五加苷 B、E与杂质分离效果最好。

4. 3 该方法灵敏、准确可靠,可以作为刺五加提取物中五加苷 B、E含量测定方法。

References

[1] Chen F K. *Determination of Active Constituents in Common Chinese Herbal Medicine* (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.

[2] Zhang S W, Zhao Y L, Lu X Z. Determination of syringin in extraction of *Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi* by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(9): 660-661.

[3] Chen G Y, Lu C Q, Ma S C. Determination of syringin in Ci-wujia Tablet by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(8): 472-473.

[4] Liu Y, Hui Y H. Determination of syringin and eleutheroside E in extraction of *Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(8): 587-588.

欢迎订阅《中草药》杂志 2002年增刊

为了加快中药现代化的进程,交流中药指纹图谱研究的经验,讨论入世后我国中药产业面临的挑战和对策,本刊在 2002 年 10月底出版以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容的增刊。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅。定价: 60. 00元,另加 5. 00元邮费,款到寄刊。

本刊另有 1996- 2001年增刊,欢迎订阅。
编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308号
邮编: 300193 电话: (022) 27474913 23006821 传真: (022) 23006821 E-mail: zcyzzbjb@ tjipr. com