

相出峰时间较长,浪费试剂。采用甲醇 0.2% 磷酸溶液(80:20)为流动相,节约时间,精密度和重现性较好。

6.3 中医传统理论认为,酒性大热,有活血通络、行药效之功。虎杖以酒炙,酒力有助于增大其有效成分在血脉中运行的速度和力量,以增强虎杖散瘀定痛的功效。实验中酒炙品中大黄素含量增加较多,可能是虎杖吸入酒有助于大黄素的溶出。醋有活血化瘀,引药归经等功效,可协同药物发挥药效。实验中醋炙品中大黄素含量有增加,可能是由于醋的主要成分为醋酸,结合态的大黄素在稀酸的作用下易水解成为游离大黄素,利于大黄素的提取。但实验结果与传统的炮制可改变药效达“增效”理论是否相吻合还有待进一步研究。

6.4 本实验结果表明,虎杖经酒炙、醋炙、盐炙后并不影响白藜芦醇及大黄素含量,且有利于有效成分的溶出。初步建立了薄层扫描法和高效液相色谱法

测定虎杖不同炮制品中大黄素含量测定方法,操作较为简单,重现性好,为制定虎杖现代炮制标准提供了实验参考依据。

#### References:

- [1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [2] Zhang X Y. The chemical constituents and isolation of alkaloids from *Rhizoma Polygomi Cuspidati* [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 1999, 11(3): 13.
- [3] Jiang H Y, Cai S F, Pan Y. Experimental study on *Rhizoma Polygomi Cuspidati* of different processed products [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医药学刊), 2002, 20(8): 426.
- [4] Xiong Y, Shao Y D, Hu G X, et al. Comparison of emodin in *Rhizoma Polygomi Cuspidati* of different processed products [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2000, 12(4): 79.
- [5] Zhong S C, Guo H Q, Sun P C, et al. Determination of emodin of Yigan Qingre Jiedu Capsule by TLC scanning [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1999, 14(5): 198.
- [6] Tang X B, Wu J E, Zhao X Y, et al. Determination of emodin in *Rhizoma Polygomi Cuspidati* by HPLC [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2000, 14(4): 17-18.
- [7] Chen F K. *Determination of Active Composition in Common Traditional Chinese Medicine* (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.

## HPLC法测定火麻仁油中大麻二酚的含量

张 岗,郭江宁,毕开顺\*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**目的 建立 HPLC 法测定火麻仁油中大麻二酚含量的方法。方法 固定相为 Irregular H-C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm),流动相为甲醇-乙腈-水-冰醋酸(25:50:25:0.4),流速为 0.8 mL/min,检测波长为 220 nm,柱温为室温。结果 大麻二酚在 1.2~9.6 μg/mL 呈良好的线性关系( $r = 0.9994$ ),平均回收率为 94.6%, $RSD = 1.9%$  ( $n = 9$ )。结论 本方法简便、准确、重现性好。

**关键词:**火麻仁油;大麻二酚;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2003)05-0415-03

## Determination of cannabidiol in hemp seed oil by HPLC

ZHANG Gang, GUO Jiang-ning, BI Kai-shun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** **Object** To develop the analysis method to determine the content of cannabidiol in the hemp seed oil by HPLC. **Methods** The chromatographic condition was Irregular H-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 10 μm). A mixture of methanol-acetonitrile-water-acetic acid (25:50:25:0.4) was used as the mobile phase with a flow rate of 0.8 mL/min and the detection wavelength was 220 nm at room temperature. **Results** The calibration curve for cannabidiol showed good linear correlation within the concentration range of 1.2 — 9.6 μg/mL ( $r = 0.9994$ ). The average recovery and  $RSD$  was 94.6% and 1.9% ( $n = 9$ ) respectively. **Conclusion** The method is convenient, reliable and with good reappearance.

**Key words:** hemp seed oil; cannabidiol; HPLC

火麻仁为桑科植物大麻 *Cannabis sativa* L. 的干燥成熟果实,有润燥滑肠通便之功效<sup>[1]</sup>。其中油

\* 收稿日期:2002-08-09

作者简介:张 岗(1965—),男,辽宁沈阳人,硕士研究生,研究方向为中药质量控制。 E-mail: gangzhang99@sohu.com

脂成分含量较高,某些地区用此榨油以供食用。但食用过量常有中毒现象发生,其主要毒性成分为大麻酚类化合物<sup>[2]</sup>,而大麻二酚是最重要的生理活性成分之一,具有致幻等毒性作用<sup>[3]</sup>。目前,国内外有关火麻仁油中大麻二酚含量测定,主要采用气相色谱法,但操作烦琐,对仪器要求较高。本实验建立了测定火麻仁油中大麻二酚含量的 HPLC 方法,该方法简便快捷,分离度、重现性均较好,适用于大麻二酚的定量分析,同时也为评价火麻仁油的质量提供了可靠保证。

1 仪器与试剂

日本岛津 LG-10AD 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器, 岛津 C-R6A 数据处理机; CSF-1B 超声波清洗仪(上海超声仪器厂)。甲醇、乙腈(色谱纯,山东禹王实业总公司化工厂),冰醋酸为分析纯试剂;大麻二酚对照品(1 mg/mL,中国药品生物制品检定所)。火麻仁油为黑龙江省肇东市新城乡提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Irregular H-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm), 流动相为甲醇-乙腈-水醋酸(25:50:25:0.4), 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 220 nm, 进样量为 20 μL, 柱温为室温, 纸速为 1 mm/min。按外标法以峰面积定量。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密吸取大麻二酚对照品 0.3 mL(1 mg/mL), 置 5 mL 量瓶中, 用甲醇洗涤 4 次并转移至量瓶中, 用甲醇定容至刻度。摇匀得对照品溶液, 备用。

2.2.2 样品溶液的制备: 取火麻仁油约 1.0 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加入 5 mL 甲醇, 超声提取 15 min, 放冷至室温, 离心, 取上清液。同法提取两次, 合并上清液, 将溶剂挥干, 残留物用甲醇分次溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 取续滤液即得。

2.3 线性关系考察: 分别精密量取对照品溶液 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 mL 置 5 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液按上述色谱条件进行分析。以峰面积为纵坐标(Y), 浓度为横坐标(X)作图, 大麻二酚的回归方程为  $Y = 49\ 943X - 9\ 106.6$ ,  $r = 0.999\ 4$ 。结果表明, 大麻二酚在 1.2~9.6 μg/mL 呈良好线性关系。

2.4 稳定性试验: 取大麻二酚对照品溶液 0.6 mL 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 室温放置。在上述色

谱条件下, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样 20 μL 进行分析, 测定峰面积几乎无变化, 其 RSD 为 1.8%。结果表明, 大麻二酚于甲醇溶液中 12 h 内稳定。

2.5 精密度试验: 精密量取对照品溶液 0.6 mL 置 5 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液连续进样 6 次, 大麻二酚峰面积的 RSD 为 1.4%。

2.6 重现性试验: 精密称取一定量火麻仁油 6 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试液, 在上述色谱条件下吸取续滤液 20 μL, 进样分析, 大麻二酚含量的 RSD 为 1.9%, 表明分析结果重现性较好。

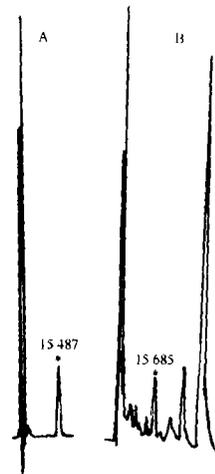
2.7 回收率试验: 精密称取已知含量的火麻仁油 9 份, 分别精密加入一定量的大麻二酚对照品溶液, 按 2.2.2 项下方法操作, 进行回收率测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验(n = 9)

Table 1 Recovery test (n = 9)

编号	加入量/μg	实测量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	15.96	15.03	94.2		
2	15.96	15.18	95.1		
3	15.96	14.75	92.4		
4	23.04	21.50	93.3		
5	23.04	21.40	92.9	94.6	1.9
6	23.04	24.02	94.8		
7	37.44	36.39	97.2		
8	37.44	34.82	93.0		
9	37.44	36.73	98.1		

2.8 样品测定: 取 6 份样品溶液按上述色谱条件进行分析, 根据标准曲线回归方程计算大麻二酚的含量。黑龙江产火麻仁油中大麻二酚含量为 15.21 μg/g (n = 6)。火麻仁油与大麻二酚对照品的 HPLC 色谱图见图 1。



\* - 大麻二酚  
\* - cannabidiol

图 1 大麻二酚(A)和火麻仁油(B)的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC chromatograms of cannabidiol (A) and hemp seed oil (B)

### 3 讨论

3.1 火麻仁油中化学成分复杂,主要含有几种高级脂肪酸及其甲酯,大麻二酚与其性质相近,其他方法不易分离提取。本实验所用方法简便快速,提取效率高,同时比较了提取时间、提取次数及所用溶剂量对提取的影响。结果表明:采用5 mL 甲醇,提取15 min,提取两次的效果最好。

3.2 紫外扫描结果显示,大麻二酚在258 nm有一最大吸收峰,但在220 nm处仍有较强吸收,因此,本实验根据参考文献<sup>[4,5]</sup>选择220 nm作为检测波长,灵敏度高,干扰小。

3.3 目前国内外对火麻仁油中大麻酚类化合物的分析多采用气相色谱法,但操作烦琐,因此本实验采用HPLC法对其主要活性成分大麻二酚进行分析。

结果证明本方法简便易行,结果准确可靠,适宜测定火麻仁油中大麻二酚的含量。

#### References:

- [1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [2] Li F C. Clinical analysis of 15 cases on hemp seed oil poisoning [J]. *Shanxi Med J* (山西医药杂志), 1978, 6: 33.
- [3] Ferioli V, Rustichelli C, Pavesi G, et al. Analytical characterisation of hashish samples [J]. *Chromatographia*, 2000, 52: 39-44.
- [4] Ndjoko K, Wolfender J L, Hostettmann K. Analysis of cannabinoids by liquid chromatography-themospray mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 1998, 47(12): 72-76.
- [5] Rustichelli C, Ferioli V, Vezzalmi F, et al. Simultaneous separation and identification of hashish constituents by coupled liquid chromatography mass spectrometry (HPLC-MS) [J]. *Chromatographia*, 1996, 43(34): 129-134.

## 生物化学发光法测定酸枣仁的抗氧化活性

王少敏, 李萍\*, 赵明强\*

(中国药科大学 生药教研室, 江苏 南京 210038)

酸枣仁能养肝宁心、敛汗生津,具有养心安神、催眠的功能。主要含有脂肪油、黄酮和皂苷等物质<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明酸枣仁对内毒素诱发发热小鼠超氧化物歧化酶(SOD)的降低具有保护作用<sup>[2]</sup>,提示酸枣仁可能具有抗氧化活性。为进一步确证酸枣仁的抗氧化活性及其有效部位,本实验采用化学发光方法,应用邻苯三酚-鲁米诺(Luminol)-碳酸盐缓冲液,邻菲罗啉-Cu<sup>2+</sup>-抗坏血酸-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-鲁米诺-碳酸盐缓冲液3个产生自由基的体系和中国科学院生物物理研究所改进的BPCL-4微弱发光测定仪,检测了酸枣仁的乙醇提取物、总黄酮和总皂苷部位清除O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, •OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>自由基的能力,为从酸枣仁类中药中寻找和筛选自由基清除剂提供参考依据。

### 1 材料与仪器

酸枣仁采自河北邢台,经中国药科大学生药教研室李会军博士鉴定为酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bge.) Hu ex H. F. Chou 的干燥种子。

BPCL-4微弱发光测定仪及BPCL-APP2.6数据处理工作站(中国科学院北京生物物理研究所);

焦性没食子酸(邻苯三酚,遵义第二化学厂,分析纯),3-氨基邻苯二甲酰肼(鲁米诺, Luminol, Sigma公司),邻菲罗啉(上海试剂三厂,分析纯),其他试剂均为国产分析纯。

### 2 实验方法

2.1 样品制备:实验所用药材粉碎后,精密称取约5.0 g,石油醚索氏提取法除脂后,用70%乙醇热回流(1 h × 2次),提取液浓缩得到半液体状稠膏,用适当体积蒸馏水溶解稠膏得相当于0.6 g生药/mL的原液,作为酸枣仁醇提物的样品,使用时用蒸馏水稀释。

另取粉碎药材200 g,按上述方法进行操作,所得稠膏用适当体积蒸馏水溶解后,用正丁醇萃取;用5%氢氧化钾溶液洗涤正丁醇层,正丁醇层蒸干得总皂苷部位;碱液层用稀盐酸中和至中性后用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯层蒸干得总黄酮部位。用蒸馏水稀释得总黄酮部位原液(1 g生药/mL)和总皂苷部位原液(1 g生药/mL),使用时用蒸馏水稀释。

2.2 O<sub>2</sub><sup>•-</sup>清除能力检测<sup>[3]</sup>:取待测样品各10 μL于测量管中(以蒸馏水做空白对照),加入20 μL 1

\* 收稿日期:2002-08-02

作者简介:王少敏(1978—),女,安徽滁州人,中国药科大学2000级生药学在读硕士,2000年毕业于沈阳药科大学药理学系,获理学学士学位。研究方向为天然药物活性成分的研究。

\* 通讯作者 Tel: (025)5322256 Fax: (025)5322448 E-mail: lipingli@publicl.ptt.js.cn