

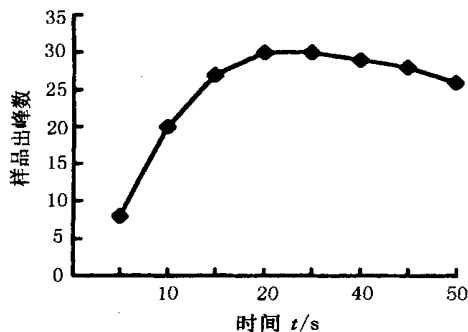


图 4 裂解时间与出峰数的关系

Fig. 4 Effect of pyrolysis time on peak number

3 结论

3.1 裂解色谱法用于中药材指纹图谱测定具有快速、灵敏度高、操作简单、重现性好的优点,尤其是样品不需要进行复杂的前处理过程,只要样品来源稳定,用这种方法测定指纹图谱是比较稳定的。同时还可以减少提取过程造成的测试误差,提高工作效率和减少因使用溶剂萃取时造成环境污染。

3.2 结合先进的数据处理手段——模糊聚类分析,能比较全面、综合地反映不同产地药材裂解指纹图谱的关系,从而选出比较有代表性的图谱。

3.3 裂解色谱法适用面广,对一些不能直接用气相色谱测定的药材如板蓝根、地黄、芦根等也能用裂解色谱测定,这样给中药材品质鉴定带来很大的方便。

3.4 裂解温度、裂解时间是实验是否获得成功的关键,不同的药材,要求不同的裂解温度与时间。

3.5 在一定条件下,特定的样品有其特征的裂解行为,如特征裂解产物和产物的含量。中药材裂解指纹图谱的特点主要是产物的含量的变化,如果能结合色质联用,对所测定药材所含的组分有更深入的了解,采用裂解色谱指纹图谱判断药材的质量将会更全面些。

3.6 不同来源的广藿香指纹图谱既具有相似性,但又不完全相同,裂解色谱指纹图谱与水提挥发油测定指纹图谱的方法比较,结果比较一致。

References

- [1] Liu T L, Qiu Q, Zhao Y. *et al.* Analyzed the volatile oil of *Pogostemon cablin* by GC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, (30) 12: 903-904.
- [2] Xie P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, (22) 6: 391-394.
- [3] Xu Z Y. Lecture on pyrolysis gas chromatography part 4: biomedical and other application [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1990, (8) 1: 21-24.
- [4] Fu R N, Liu H W. *High Resolution Gas Chromatography and Pyrolysis Gas Chromatography* [M]. Beijing: Beijing Institute of Technology Publishing House, 1992.
- [5] Zeng Z, Yang D G, Song L F. *et al.* The identification of *Isatis indigotica* Fort. by high performance liquid chromatographic fingerprint [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, (30) 7: 849-852.
- [6] Guo A L, Fang C X, Zhang L Z. *et al.* Cluster analysis based on pyrolysis gas chromatography of whole cell of bacillus [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 1999, (18) 6: 30-32.
- [7] Liang X Y, Lu C X, Li X L. *et al.* Fuzzy cluster analysis evaluating the reproducibility of pyrolysis gas chromatography of carbon fibers [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1998, (16) 5: 439-441.
- [8] Zhang C, Wang Z H, Jin D Z. Comparative study on HPLC-FPS of Chinese red ginseng and Korean ginseng [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, (23) 3: 160-163.

HPLC法测定地黄中地黄苷 D含量

李更生,王慧森*

(河南省中医药研究院中药研究所,河南 郑州 450004)

摘要:目的 建立地黄中地黄苷 D 的 HPLC测定方法,提出地黄苷 D 的含量限度。方法 Hypersil C₁₈分析柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水 (4:96),流速为 1 mL/min,柱温为室温,检测波长为 205 nm。结果地黄苷 D 回收率为 100.6%, RSD 为 2.1%, 8个产地的 16份完整药材中地黄苷 D 的含量为 0.13%~0.69%。结论 方法快速、简便、准确,可用于地黄质量控制,建议地黄苷 D 的含量应不低于 0.15%。

关键词: 地黄;地黄苷 D; HPLC

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)09-0000-00

* 收稿日期: 2002-10-27

基金项目: “九五”国家攻关课题 (No. 969030204); 国家中医药局青年基金课题 (95Y 3411, 95C018)

作者简介: 李更生 (1962-) 男,河南信阳市人,硕士,副研究员,1994年获北京医科大学硕士学位,主要从事天然药物化学、中药分析的研究,主持和参加多项国家局、省自然科学基金项目,获国家中医药管理局科技进步二等奖 1项,省科技进步二等奖 2项,省中医药科技进步一等奖 2项,发表学术论文 26篇。Tel 0371-6336574 E-mail lgshir@sohu.com

Determination of rehmannioside D in root of *Rehmannia glutinosa* by HPLC

LI Geng-sheng, WANG Hui-sen

(Institute of Chinese Materia Medica, Henan Academy of TCM, Zhengzhou 450004, China)

Abstract Object To establish an HPLC method for the determination of rehmannioside D in the root of *Rehmannia glutinosa* (Gaert.) Libosch. ex Fisch et Mey and provide a limitation for the lowest content of rehmannioside D. **Methods** Chromatographic conditions Hypersil C₈ (200 mm× 4.6 mm, 5 μ m) column, mobile phase acetonitrile-water (4:96), flow-rate 1 mL/min, room temperature, detection wavelength 205 nm. **Results** The recovery was 100.6%, and RSD was 2.1% for rehmannioside D. From eight different regions 16 samples of *R. glutinosa* were quantitatively analysed and the contents of rehmannioside D in *R. glutinosa* were 0.137% - 0.691%. **Conclusion** The method is rapid, simple and accurate, and can be used for the quality control of *R. glutinosa*. The proposed content of rehmannioside D must be no less than 0.15%.

Key words the root of *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch et Mey; rehmannioside D; HPLC

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. et Mey. 的新鲜或干燥块根, 为重要的补益中药, 在临床上应用比较广泛。国内外学者对其进行了较多的研究, 从中分离得到地黄的苷类成分有 23 种之多, 其中主要活性成分为环烯醚萜苷类, 此类成分结构近似, 极性较大, 稳定性较差^[1]。曾对地黄中环烯醚萜苷类成分梓醇进行分离制备^[2], 研究发现地黄从鲜品加工成生地黄及熟地黄, 梓醇的含量降低至原来的 1/10^[3], 而地黄苷 D 比较稳定, 生地、熟地中含量均较高。且地黄苷 D 具有滋阴补血的作用^[4], 为地黄的主要有效成分, 故测定其含量对考察地黄药材质量具有一定意义。国内外尚未见测定地黄中地黄苷 D 含量的报道。本实验采用 HPLC 法测定了 8 个产地 16 批生地黄中地黄苷 D 的含量, 其结果对药材质量评价及控制具有重要参考价值。

1 仪器与试剂

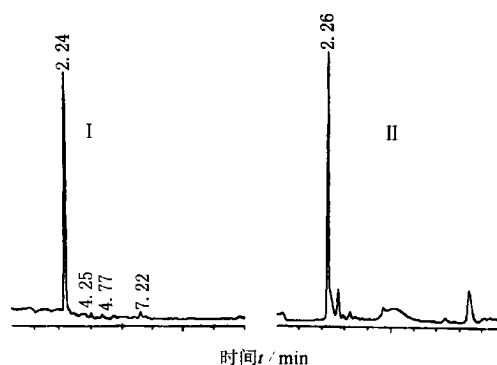
高效液相色谱仪为美国 Beckman 公司产品, 126 泵, 166 紫外检测器, System Gold 操作软件。乙腈为色谱纯 (山东申威精细化工有限公司), 水为双蒸水, 甲醇为分析纯 (北京化工厂)。

对照品地黄苷 D 为自行提取精制, 并经 UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 鉴定结构, HPLC 测定纯度为 98%。药材采自 8 个不同产地的 16 份完整药材, 经本院都恒青研究员鉴定为 *R. glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. et Mey.

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Hypersil C₈ (200 mm× 4.6 mm, 5 μ m) (大连江申分离科学技术公司), 流

动相为 4% 乙腈, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 205 nm。理论塔板数按地黄苷 D 峰计算应不低于 2000。在此色谱条件下, 样品分离良好, 见图 1。



I 地黄苷 D 对照品 II 地黄样品
I -re rehmannioside D II -sample of root of *R. glutinosa*
图 1 地黄的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of root of *R. glutinosa*

2.2 线性关系考察: 精密称取地黄苷 D 对照品, 置 50 mL 容量瓶中, 以 10% 乙腈溶解制成 0.59 mg/mL 的对照品液, 依次吸取 1, 2, 3, 4, 5 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加 10% 乙腈稀释至刻度, 制成系列对照品液, 分别进样 10 μ L, 测定峰面积, 以峰面积为横坐标, 对照品含量为纵坐标进行回归, 得回归方程为: $Y = 1.0477X + 0.1273$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.59~2.95 μ g。

2.3 精密度的试验: 取对照品溶液 10 μ L 重复进样 5 次, 测定峰面积 RSD = 0.6%。

2.4 稳定性试验: 取对照品溶液在配制后 0, 2, 4, 6, 8 h 分别进样 10 μ L, 记录峰面积值, 结果地黄苷 D 峰面积的 RSD 为 1.8%, 表明对照品溶液在 8 h 内稳定。

2.5 重现性试验:取同一地黄药材 5份,平行进行提取测定,求得地黄苷 D的含量为 0.337%, 0.351%, 0.332%, 0.341%, 0.343%; *RSD*为 1.9%。

2.6 加样回收率试验:准确称取已知含量的同一地黄样品粗粉 6份,每份 1.0 g,分别加入不同浓度对照品溶液,按样品溶液制备方法进行提取,以“2.1 色谱条件”进行测定,测得地黄苷 D的加样回收率为 100.6%, *RSD*= 2.1%。

2.7 样品的测定:将地黄药材粉碎过二号筛,精密称取 1.0 g,置圆底烧瓶中,加 100 mL 80% 甲醇,水浴加热回流 2 h,放冷,过滤定容于 100 mL 量瓶,取 10 mL,挥干,加 10% 乙腈定容于 50 mL,以微孔滤膜过滤,滤液作为供试品溶液,进样 20 μ L,测得地黄苷 D的峰面积,按外标一点法计算含量,结果见表 1

表 1 不同产地地黄中地黄苷 D的含量 %

Table 1 Rehmannioside D in *R. glutinosa* from different areas %

编号	产 地	级 别	地黄苷 D
1	山东嘉祥县	一级品	0.387
2	山东嘉祥县	三级品	0.193
3	山东济宁市效	一级品	0.344
4	山东济宁市效	二级品	0.230
5	山西襄汾县	二级品	0.154
6	山西襄汾县	三级品	0.149
7	山西曲沃县	一级品	0.345
8	山西曲沃县	二级品	0.342
9	河南温县	二级品	0.200
10	河南温县	三级品	0.185
11	河南武陟县	一级品	0.333
12	河南武陟县	三级品	0.137
13	河南博爱县	一级品	0.691
14	河南博爱县	二级品	0.547
15	陕西渭南	一级品	0.396
16	陕西渭南	二级品	0.230

由上述含量测定结果可见,地黄药材中地黄苷 D的含量为 0.137%~ 0.691%。建议地黄药材中地黄苷 D的含量应不低于 0.15%。

3 讨论

3.1 在样品提取条件的筛选试验中,曾分别采用水、20% 甲醇、50% 甲醇、80% 甲醇、甲醇、20% 乙醇、50% 乙醇、80% 乙醇、乙醇回流提取,提取液过滤,定容,作为供试品溶液。进样 10 μ L测定地黄苷 D的峰面积,结果表明 80% 甲醇回流提取 2 h,地黄苷 D的提取率较高,杂质较少,故采用本法制备样品供试品液。另外选 1%~ 6% 的甲醇或乙腈作为流动相,结果表明,流动相以 4% 乙腈水可获得较好的分离。

3.2 地黄药材由于其产地及品质的不同,其地黄苷 D含量有显著差别。从 8个不同产地的 16份完整药材样品中地黄苷 D的含量测定结果显示,以道地优级药材地黄苷 D的含量较高,质次三级药材含量较低。为控制地黄药材的质量,建议地黄优级药材中地黄苷 D的含量应不低于 0.15%。

References

- [1] Zhang L, Xu X G, Shi Y Z, *et al.* Studies on the extracting conditions of Dihuang (*Rehmannia glutinosa*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(5): 308.
- [2] Li G S, Wang H S, Du H Q, *et al.* Separation and preparation of active component of *Radix Rehmanniae* Catalpol by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 36.
- [3] Wang H J, Bian B L, Yang J, *et al.* A study on catalpol content changes in *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. under certain conditions [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(7): 408.
- [4] Yu Z, Wang J, Li G S, *et al.* Experimental study on rehmannioside D in action of nourishing Yin, enriching the blood and reducing the blood sugar [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2001, 28(4): 240.

HPLC法测定马先蒿属三种药用植物中桃叶珊瑚苷的含量

李发荣^{1,2},杨建雄²,田先华^{2*}

(1. 西安交通大学电信学院,陕西 西安 710049; 2. 陕西师范大学生命科学学院,陕西 西安 710062)

摘 要:目的 建立马先蒿属 3种植物中桃叶珊瑚苷的测定方法。方法 药材用乙醚脱脂后,甲醇提取,Varian C₁₈柱;流动相:甲醇-水(15: 85);检测波长: 204 nm;流速: 0.5 mL/min。结果 桃叶珊瑚苷在太白参、扭盔马先蒿、短茎马先蒿中的含量分别为 0.90%, 1.94%, 0.95%;回收率分别为 102.3%, 98.2%, 97.6%。结论 马先蒿属植物具有较好的药用开发前景,并为其质量评价提供参考。

关键词:马先蒿属;桃叶珊瑚苷;HPLC

中图分类号: R282.02

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670(2003)08- 0000- 00

* 收稿日期: 2002-11-06

基金项目: 陕西省自然科学基金项目(2000SM20)

作者简介: 李发荣(1972-),男,陕西白水人,陕西师范大学生命科学学院,讲师,西安交通大学在读博士,主要从事中药药理学研究,发表论文 10篇。Tel (029) 5308451, E-mail Lifarong12@sohu.com