

RP-HPLC 法测定苦碟子中腺苷

尹 然, 王 凯, 陈晓辉, 毕开顺*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

苦碟子, 学名抱茎苦蕒菜 *Ixeris sonchifolia* (Bge.) Hance, 为菊科苦蕒菜属 (*Ixeris* Cass.) 植物, 具有清热解毒、凉血、活血、排脓之功效^[1]。现代药理学和临床试验表明, 苦碟子具有镇痛、镇静和心血管等多方面的活性, 可用于冠心病、心绞痛、心肌梗死等症^[2]。苦碟子主要成分有黄酮类、三萜类及腺苷等。研究表明, 腺苷 (adenosine) 具有明显的扩张血管, 改善微循环, 增强组织细胞营养, 改善缺血缺氧的作用, 同时还具有抗血小板聚集, 降低全血粘度的作用^[3]。目前对苦碟子药材中腺苷的测定尚未见文献报道。本实验建立了 RP-HPLC 法测定苦碟子中腺苷的量, 方法简便易行, 分离效果好, 准确可靠。

1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-10A 紫外检测器; N2000 双通道色谱工作站 (浙江大学智能信息工程有限公司); UV-265F 紫外分光光度计 (日本岛津公司); 腺苷对照品 (质量分数: 99%; 百灵威化学技术有限公司); 苦碟子药材 (采自吉林和辽宁抚顺地区, 后者包括不同采收期共3批药材, 分别为5月初、6月初和7月初采收; 均经沈阳药科大学药用植物研究室孙启时教授鉴定); 甲醇为色谱纯, 水为二次重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (大连中汇达科学仪器有限公司); 流动相: 甲醇-水 (9: 91); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 260 nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 取腺苷对照品约 5 mg, 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液, 置冰箱中冷藏备用。

2.3 供试品溶液的制备: 取苦碟子药材粉末约 1.0 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加水 50 mL, 超声提取 30 min, 提取液滤过, 滤液减压浓缩至适量, 转移至 10 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。

2.4 检测波长的选择: 将腺苷对照品的水溶液在波长 200~400 nm 进行 UV 扫描, 在 259.3 nm 处有最大吸收, 选择 260 nm 作为检测波长。

2.5 色谱系统适用性试验: 理论塔板数按腺苷计算不低于 13 000; 腺苷与相邻色谱峰之间的分离度大于 1.5; 腺苷色谱峰的拖尾因子在 0.95~1.05。

2.6 线性关系考察: 精密吸取对照品溶液 0.1、0.3、0.5、1.0、2.0、3.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释并定容至刻度, 摇匀。在上述色谱条件下进行分析, 以腺苷色谱峰面积 (Y) 对质量浓度 (X) 绘制标准曲线。结果表明: 腺苷在 1.02~30.6 μg/mL 峰面积与质量浓度呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 4.635 \times 10^4 X + 1.829 \times 10^4$, $r = 0.9997$ ($n = 6$)。

2.7 精密度试验: 精密吸取同一质量浓度对照品溶液, 在上述色谱条件下连续进样 5 次, 测定腺苷峰面积, 结果 RSD 为 1.3%。

2.8 重现性试验: 取同一生药样品 5 份, 每份约 1.0 g, 精密称定, 按“2.3”项下操作, 按上述色谱条件测定各峰面积, 计算质量分数, RSD 为 1.9%。

2.9 稳定性试验: 取室温放置的同一供试品溶液, 分别于 0、1.5、3.5、7、9 h 在上述色谱条件下进样分析。腺苷峰面积的 RSD 为 1.8%, 结果表明供试品溶液在 9 h 内稳定。

2.10 回收率试验: 称取已知量的同一药材粉末 9 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 分别精密加入一定量的腺苷对照品, 按“2.3”项下操作, 配成高、中、低 3 个质量浓度的供试品溶液, 在上述色谱条件下进样分析, 计算回收率。腺苷的平均回收率为 98.9%, RSD 为 1.8%。

2.11 样品测定: 按上述方法分别对 4 批苦碟子药材进行测定, 进样量 20 μL, 以外标法计算腺苷的量。结果见表 1。色谱图见图 1。

3 讨论

3.1 苦碟子主产于东北及华北等地, 本研究选择了东北两大产区吉林、辽宁的共 4 批苦碟子药材进行

收稿日期: 2005-08-25

作者简介: 尹 然 (1979-), 女, 沈阳药科大学药物分析专业, 硕士研究生。E-mail: yinran5@hotmail.com

* 通讯作者 毕开顺 Tel: (024) 23986296 E-mail: ksbi@mail.sy.ln.cn

表 1 苦碟子中腺苷的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of adenosine
in *I. sonchifolia* ($n=3$)

样品标号	药材来源	腺苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	吉林	0.060
2	辽宁抚顺(5月初)	0.131
3	辽宁抚顺(6月初)	0.099
4	辽宁抚顺(7月初)	0.088

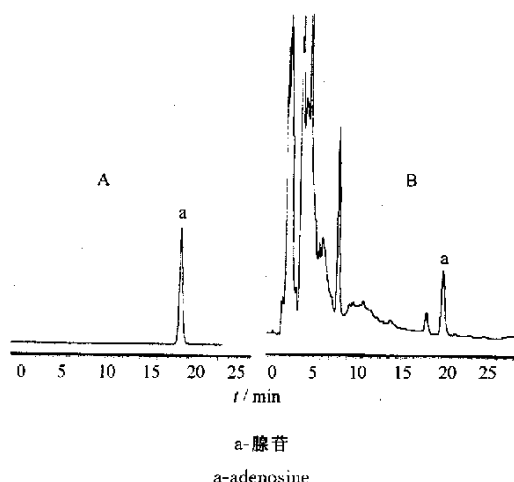


图 1 腺苷对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of adenosine reference substance (A) and sample (B)

测定。由表 1 可见,不同产地的苦碟子药材中腺苷的量有一定差别,相同产地不同采收期的药材中腺苷的量也不同。

3.2 流动相的选择:本实验曾试过不同的流动相系统,结果甲醇-水系统即可获得较好峰形;而甲醇比

例的微小变化就会明显影响分离效果,经过优化后选定甲醇-水(9:91)作为流动相,得到了满意的分离效果。

3.3 提取溶剂的选择:本实验分别以水,甲醇,30%、50%、70%、90%的甲醇和 30%、50%、70%、90%的乙醇作为提取溶剂提取腺苷,平行操作。结果发现,水的提取效果明显优于其他溶剂,故选择水作为提取溶剂,简单方便。

3.4 提取方法的选择:本研究对回流、冷浸、超声波提取法进行了比较,结果表明冷浸法的提取效率最低,回流法和超声波法的提取率无显著差别,由于超声法操作简便,快速,故本研究采用超声提取法。

3.5 提取工艺的优化:本研究采用正交试验设计优化腺苷的提取工艺。选择提取溶剂用量,提取次数,提取时间 3 个因素,每个因素 3 个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,以腺苷的量为考察指标,对正交试验的结果进行直观和方差分析,最后选定最佳提取工艺为 50 倍量水,超声提取 1 次,30 min。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Wang L, Chen M Q, Sui D Y, et al. The protective effects of Diemaling Injection on experimental myocardial infarction in dogs [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2002, 22 (2): 80-82.
- [3] Zheng X K, Feng W S, Bi Y F, et al. Determination of adenosine in *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring by RP-HPLC [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai* (上海中医药大学学报), 2003, 17 (2): 42-44.

RP-HPLC 法测定天葵子中东方唐松草苷

牛 锋^{1,2}, 张国恩¹, 崔 征², 陈发奎², 屠鹏飞^{1,2*}

(1. 北京大学药学院 天然药物化学系, 北京 100083; 2. 沈阳药科大学中药学院 生药教研室, 辽宁 沈阳 110016)

天葵子为《中国药典》2005 版一部收录的中药品种之一,是毛茛科植物天葵 *Semiaquilegia adoxoides* (DC.) Makino 的干燥块根,具有清热解毒、消肿散结、利水通淋等功效,用于痈肿疔疮、乳痈、瘰癧、毒蛇咬伤、热淋、砂淋。天葵子主要含生物碱、内酯、香豆素、酚酸及苷类化合物^[1,2]。东方唐

松草苷为硝基酚苷类成分,在一般植物中比较少见^[3],但在天葵子中的量较高。为了有效控制天葵子的质量,本实验采用 HPLC 法建立了天葵子中东方唐松草苷的定量分析方法。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪;四元泵,在线脱

收稿日期:2005-06-20

基金项目:国家“十五”重大科技专项创新药物与中药现代化(2004AA2Z3730)

作者简介:牛 锋(1977—),内蒙古乌海人,博士研究生,主要从事天然药物化学和中药质量研究工作。

E-mail: niufeng0828@yahoo.com.cn

* 通讯作者 屠鹏飞 Tel: (010) 82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn