

图2 天花粉粗多糖(A)和精制多糖(B)的核磁共振谱图
Fig. 2 NMR of crude (A) and refined (B)

of *Radix Trichosanthis* polysaccharide

柱、凝胶色谱柱等手段进行纯化,解决了天花粉中淀粉、蛋白等水溶性高分子化合物以及柠檬酸等阴离子化合物的干扰问题。经苯酚-硫酸分光光度法测定,核磁共振波谱验证,表明获得了纯度较高的天花粉多糖。此结果为进一步开展天花粉多糖的组成及相对分子质量等分析研究,对探讨天花粉多糖的药理、药效,进一步开发天花粉多糖新药具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海:上海人民出版社, 1975.
- [2] 洪 雯,顾海鹏. 天花粉药理研究进展[J]. 北京医药, 1994, 3: 32-35.
- [3] Hikino H, Yoshizawa M A, Suzuki Y, et al. Isolation and hypoglycemic activity of trichosans A, B, C, D, and E; glycans of *Trichosanthes kirilowii* roots [J]. *Planta Med*, 1989, 55: 349-350.
- [4] 金善炜, 孙孝先, 汪绍福, 等. 天花粉蛋白的化学[J]. 化学学报, 1981, 39(9): 917-924.
- [5] 田庚元, 孙孝先, 唐天宝, 等. 低温离心分离、精制天花粉蛋白[J]. 中草药, 1989, 20(2): 13-14.
- [6] 袁惠东, 夏其昌, 张祖传. 用Blue Sepharose CL-6B快速纯化天花粉蛋白[J]. 生物化学与生物物理进展, 1997, 24(4): 369-373.
- [7] 林国庆, 邵靖宇. 天花粉蛋白研究新进展[J]. 科技通报, 1996, 12(2): 122-125.
- [8] 田庚元, 李寿桐, 唐天宝, 等. 天花粉多糖的研究[J]. 生物化学与生物物理学报, 1985, 17(5): 582-586.
- [9] 王 莉, 鲁建江, 顾承志, 等. 天花粉多糖的微波提取及含量测定[J]. 药学实践杂志, 2001, 19(3): 168-169.

淡竹叶中荭草苷的微波萃取-HPLC 法测定

薛月芹, 袁 珂*, 楼炉煊, 葛斌斌

(浙江林学院天然药物研发中心, 浙江 临安 311300)

摘 要:目的 从淡竹叶中提取黄酮苷类成分,并测定荭草苷的量。方法 采用微波萃取技术提取黄酮苷,在640 W的功率下,用10倍量70%乙醇为溶剂微波萃取2 min 制备供试品溶液。并采用RP-HPLC法测定荭草苷。色谱条件:色谱柱为Diamonds C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-冰醋酸(40:70:1);柱温:25℃;检测波长:340 nm。结果 荭草苷在0.014~0.280 mg/mL 线性关系良好;荭草苷的平均回收率为96.18%, RSD为1.96%。浙江、福建产淡竹叶中黄酮苷成分的量比较高,而广西、重庆等地生长的淡竹叶中有效成分的量较低。结论 采用微波萃取技术提取淡竹叶中的荭草苷,并采用HPLC法定量的方法简便、准确,结果稳定、重现性好,可作为淡竹叶及其制剂质量控制的方法。

关键词:淡竹叶;荭草苷;微波萃取;高效液相色谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1665-03

淡竹叶主要分布于江苏、安徽、浙江、福建、湖南、湖北、贵州、云南等省,性淡、微涩、寒,味甘、苦,具有清热除烦、解渴利尿、明目解毒和止血的功能^[1]。淡竹叶在我国具有悠久的药用历史,是一味著名的清热解毒良药。淡竹叶中含有大量对人体有益的活性物质,包括黄酮类、生物活性多糖、氨基酸类、芳香成分和其他微量元素^[2]。竹叶提取物的功能因子主要是黄酮苷,淡竹叶黄酮具有多方面的生物活性,如抗脂质过氧化、抗衰老、清除自由基,阻断亚硝

基化,降低血脂及胆固醇,抗菌消炎、抗病毒,增强免疫功能,抑制移植性肿瘤在宿主体内的生长等方面的作用^[3,4]。淡竹叶黄酮以其巨大的资源优势,良好的药理活性已成为一种非常有前途的天然药物,是具有广阔开发前景的新型药用资源。微波萃取技术以其具有的快速、高效、安全,节省溶剂和能源、尤其是可以避免长时间高温加热引起的有效成分分解等特点已被广泛应用于多种植物的提取,并取得了显著成效^[5]。本实验采用微波萃取方法快速提取淡

收稿日期:2007-12-20

基金项目:浙江省森林培育重中之重学科开放基金项目(200510)

作者简介:薛月芹(1980—),女,山东泰安人,硕士,主要从事药用植物质量控制研究。E-mail: yueqinxue2007@yahoo.com.cn

* 通讯作者 袁 珂 Tel: (0571)63743607 E-mail: yuan_ke001@163.com

竹叶中的黄酮苷,同时采用HPLC法测定了不同产地淡竹叶中荭草苷。所建立的微波萃取-HPLC方法简便、结果稳定,为淡竹叶及其制剂的质量控制提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters 515 型高效液相色谱仪、Waters 2487 双波长检测器(美国 Waters 公司);英谱 2000HS 工作站;NJL07-3 型实验专用微波炉(南京杰全微波设备有限公司,额定功率 800 W);Millipore Simplicity 型超纯水器(美国 Millipore 公司);RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);101-1 型电热恒温干燥箱;瑞士 Mettler AE 240 微量分析天平,微孔滤膜(上海医药工业研究院)。

淡竹叶分别采自浙江、福建、广东、广西、湖北、湖南、重庆、江苏、安徽,经浙江林学院楼焱教授鉴定为淡竹叶 *Lophatherum gracile* Brongn.。荭草苷对照品自制,由 HPLC 面积归一化法标定质量分数为 99.18%。色谱纯甲醇,双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsi C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-冰醋酸(40:70:1);柱温:25℃;检测波长:340 nm;灵敏度:0.5 AUFS。荭草苷的理论塔板数为 6 257,分离度为 2.3。

2.2 标准曲线的制备:精密称取荭草苷对照品 2.80 mg,加超纯水定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,配成 0.28 mg/mL 荭草苷对照品溶液。分别取溶液 0.25、1.0、1.5、2.5、5.0 mL 置 5.0 mL 量瓶中,加超纯水定容至刻度,分别进样 10 μL,记录峰面积。结果荭草苷在 0.014~0.280 mg/mL 线性关系良好,回归方程为 $Y=2.601 \times 10^{-8}X-1.906 \times 10^{-3}$, $r=0.9990$ 。

2.3 供试品溶液的制备:分别精密称定干燥并过 60 目筛的淡竹叶样品各 1 g,在 640 W 的功率下,用 10 倍量 70%乙醇为溶剂微波萃取 2 min。抽滤后放冷,转移至量瓶中,加 70%乙醇定容至 25 mL 量瓶中,即得。

2.4 稳定性试验:取供试品溶液 10 μL,在室温分别放置 0、2、3、4、6、8 h 后进样测定荭草苷峰面积,结果峰面积的 RSD 为 1.24%。

2.5 精密度试验:精密吸取 0.28 mg/mL 荭草苷对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,计算,结果峰面积的 RSD 为 1.49%。

2.6 重现性试验:精密称取浙江临海产的淡竹叶样

品 5 份,每份 1 g,制备供试品溶液,分别吸取 10 μL 进样,测定,记录峰面积,计算,结果荭草苷质量分数的平均值为 1.206 0%,RSD 为 1.26%。

2.7 加样回收率试验:精密称取 5 份浙江临海产的淡竹叶样品,每份 0.5 g,分别精密加入 0.28 mg/mL 荭草苷对照品溶液 2.0 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果荭草苷的平均回收率为 96.18%,RSD 为 1.96%。

2.8 样品测定:取不同产地淡竹叶样品,制备供试品溶液,分别吸取 10 μL 进样,记录荭草苷峰面积,由对应回归方程计算荭草苷的质量分数,结果见表 1。荭草苷对照品及样品色谱图见图 1。生长在不同地区的竹叶中的荭草苷的量存在较大差异,结果显示浙江、福建等竹类生长大省的淡竹叶中黄酮碳苷类成分的量比较高,而广西、重庆等地生长的淡竹叶中有效成分的量较低。

表 1 不同产地淡竹叶中荭草苷的测定结果

Table 1 Determination of orentin in *L. gracile* from different habitats

产地	采集日期	荭草苷/(mg·g ⁻¹)
广东肇庆	2006-08	0.781 5
湖北随州	2006-07	0.431 5
重庆	2006-08	0.373 0
广西桂林	2006-05	0.138 5
江苏江阴	2007-07	0.532 6
福建龙岩	2006-06	1.029 5
浙江临海	2007-08	1.213 0
安徽歙县	2005-06	0.791 5
湖南黔阳	2006-06	0.568 6

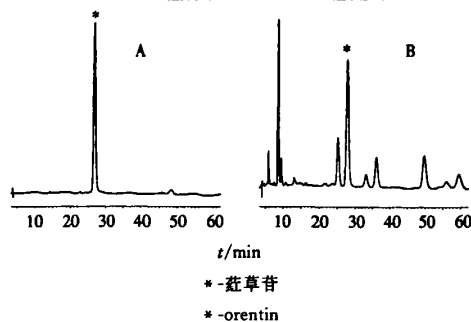


图 1 荭草苷对照品(A)和浙江临海产淡竹叶(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of orentin reference substance (A) and *L. gracile* from Linhai in Zhejiang Province (B)

3 讨论

本研究进行微波萃取时,选用 70%乙醇做溶剂提取,是通过选用 20%、50%、70%、80%乙醇提取,通过紫外法测定总黄酮,发现采用 70%乙醇提取总

黄酮的提取率最高,总黄酮的平均质量分数达1.853%。因此实验选择用70%乙醇做提取用的溶剂。

流动相的选择:黄酮碳苷的测定多采用水-甲醇系统,但在此流动相的不同比例条件下荭草苷与异荭草苷极性很接近,使样品中的两个成分很难达到基线分离,因而实验尝试加入适量酸以增大流动相的极性,结果发现选择甲醇-水-冰醋酸(40:70:1)可以达到理想的分离效果。

本实验采用微波萃取法提取淡竹叶中的黄酮苷,具有溶剂用量少,提取快速,有效成分的提取率

较高的特点。所建立的RP-HPLC测定方法具有方法简便、准确,结果稳定、重复性好的特点,可作为淡竹叶及其制剂质量控制的定量方法。

参考文献:

- [1] 李水福,王如伟,陈琴鸣,等.浅谈竹类的药用现状及开发利用前景[J].中国药业,2002,11(11):53.
- [2] 张胜帮,赵玲玲.淡竹叶中黄酮类化合物的提取研究[J].食品科学,2006,27(10):255-257.
- [3] 宋秋烨,吴启南.中药淡竹叶的研究进展[J].中华中医药学刊,2007,25(3):526-527.
- [4] 宋秋烨,陈梅,吴启南.淡竹叶中总黄酮提取工艺研究[J].中国中医药信息杂志,2007,14(3):46-47.
- [5] 李核,李攻科,张展霞.微波辅助萃取技术的进展[J].分析化学,2003,31(10):1261-1265.

HPLC法测定大豆异黄酮的不确定度评定

饶毅¹,张浩²,李新南²,魏惠珍¹,吴有根²,王跃生¹

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院,江西 南昌 330004)

摘要:目的 对HPLC法测定大豆异黄酮中的大豆苷和染料木苷的测定不确定度进行分析,找出影响不确定度的因素。方法 采用HPLC法测定大豆苷和染料木苷,并根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059-1999)中有关规定评估其不确定度。结果 不确定度评估大豆苷为±0.51%、染料木苷为±0.79%。结论 大豆苷不确定度各分量均较小,而染料木苷不确定度主要由对照品的稀释、样品及对照品的峰面积所引入。

关键词:大豆异黄酮;大豆苷;染料木苷;高效液相色谱;测量不确定度

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1667-04

测量不确定度是表征合理地赋予被测量之值的分散性的参数^[1]。《检测和校准实验室能力的通用要求》规定,检测和校准实验室都必须有对测量结果进行不确定度评定的程序,并应用这些程序对实验结果进行测量不确定度的评定。本实验通过HPLC法测定大豆异黄酮中大豆苷、染料木苷的不确定度评定,建立HPLC测定法的不确定度评定方式。

1 材料

岛津LC-10A高效液相色谱仪,岛津AUW220D电子天平,所用玻璃器皿均为天玻牌A级。

甲醇、乙腈均为色谱纯,所用试剂水均为超纯水;大豆苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,染料木苷对照品由深圳TAUTO生物技术公司提供,质量分数≥99%;大豆异黄酮由华北制药股份有限公司提供,批号:Y0607003。

2 方法与结果

2.1 大豆异黄酮中大豆苷和染料木苷的HPLC法

测定

2.1.1 色谱条件:大连依利特公司C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(15:85);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:40℃;进样量:10 μL。

2.1.2 对照品溶液的配制:精密称取大豆苷对照品10.20 mg置50 mL量瓶,用50%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得大豆苷对照品储备液。精密称取染料木苷对照品12.31 mg置25 mL量瓶,用50%乙醇稀释至刻度,摇匀,再从中取1 mL置10 mL量瓶中,用50%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得染料木苷对照品储备液。分别取大豆苷、染料木苷对照品储备液各1 mL,置10 mL量瓶中,用50%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 供试品溶液的配制:精密称取大豆异黄酮样品10 mg置100 mL量瓶中,加入适量50%乙醇,超声溶解,用50%乙醇加至刻度,摇匀,即得。

收稿日期:2008-03-22

作者简介:饶毅(1964—),男,江西南昌人,教授,博士,主要从事中药质量控制研究工作。

Tel:(0791)7119609 E-mail:raoyi_99@126.com