

构比均具有较大差异。

3.2 夏枯草、山菠菜、硬毛夏枯草 3 个不同品种的夏枯草药材中咖啡酸、迷迭香酸、芦丁、槲皮素 4 种成分的量及组分结构比均存在较大差异。其中安徽夏枯草和江苏山菠菜 4 种成分的量及组成结构比较相似, 分别为 1.0 : 14.7 : 3.9 : 1.0 和 1.0 : 14.8 : 4.0 : 0.8。推测原因可能是江苏、安徽两产地地域相近, 生长环境相似。本实验结果说明不同产地、不同品种夏枯草药材中的咖啡酸、迷迭香酸、芦丁、槲皮素成分量及组成结构比存在着较大差异。

3.3 在分析的九产地夏枯草药材中, 江西夏枯草中咖啡酸、迷迭香酸、芦丁、槲皮素成分量均最高, 但在对 A549 和 SPG-A-1 细胞的药效评价中, 其 IC_{50} 分别为 58.43 和 52.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[7], 按照南美抗肿瘤药物研发办公室制定的植物提取物细胞筛选实验 $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g}$ 提取物/ mL 认为有效的标准^[8], 对肺癌细胞的抑制效果并不明显。而安徽夏枯草和江苏山菠菜此 4 类成分量均较低, 但 4 类成分间的结构比相似, 在对 A549 和 SPG-A-1 细胞的药效评价中, 均表现出了很强的肺癌细胞抑制活性。结合各

产地夏枯草属药材的药效分析^[7], 单纯的某一类或某几类成分的量较高并不一定具有更好的疗效, 即量高低与疗效强弱并无明确的相关性, 而成分间的结构比(各成分量比例)与药效具有密切相关性。这表明这种组分结构比的差异可能是造成夏枯草药材药效差异的根本原因。为保证临床疗效, 夏枯草属药材的质量应从成分量和结构比两方面进行严格控制。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 孟歌, 张可杰, 张明智. 夏枯草的化学成分和抗癌活性研究[J]. 西北药学杂志, 2007, 22(4): 211-213
- [3] 封亮, 贾晓斌, 陈彦, 等. 夏枯草化学成分及抗肿瘤机制研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 428-433
- [4] 贾晓斌, 封亮, 陈彦, 等. 夏枯草肺癌化学预防物质基础研究思路与方法[J]. 中草药, 2009, 40(2): 316-318
- [5] 刘光敏, 贾晓斌, 王恒斌, 等. 夏枯草防治肿瘤化学成分/组分及作用机制研究进展[J]. 中药材, 2009, 32(12): 114-120
- [6] 贾晓斌, 陈彦, 李霞, 等. 中药复方物质基础研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-425
- [7] 封亮. 夏枯草防治肺癌物质基础筛选体系的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2009
- [8] Mans D R, Rocha A B, Schwartzmann G. Anti cancer drugs discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti cancer compounds [J]. *Oncologist*, 2000, 5(3): 185-198

HPLC 法同时测定救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷

毕福钧¹, 钟顺好², 陈 蕊³, 顾利红^{1*}

(1. 广州市药品检验所, 广东 广州 510160; 2 天祥(广州) 技术服务有限公司, 广东 广州 510730;

3. 广东药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 建立 HPLC 同时测定救必应药材中紫丁香苷(syringin)和长梗冬青苷(pedunculoside)的方法。方法 采用 Dikma C_{18} 色谱柱(200 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 乙腈水(10:90)为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 210 nm。结果 紫丁香苷线性范围为 0.198 0~3.465 0 μg , $r = 0.999 9$ ($n = 8$), 平均回收率为 97.1% ($n = 6$), RSD 为 1.9%; 长梗冬青苷线性范围为 0.539 8~9.446 5 μg , $r = 0.999 9$ ($n = 8$), 平均回收率为 99.2% ($n = 6$), RSD 为 1.6%。结论 本法操作简便、准确, 具有良好的重现性, 为救必应药材的合理利用与质量控制奠定基础。

关键词: 救必应; 紫丁香苷; 长梗冬青苷; 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(2010)08-1386-03

救必应为冬青科植物铁冬青 *Ilex rotunda* Thunb. 的干燥树皮, 《中国药典》1977 年版一部曾经有过收载, 目前收载于《广东省中药材标准》第一册。救必应具有清热解暑、凉血止血、行气止痛等功效, 用于治疗痲疹发热, 感冒发热, 乳蛾, 脘腹胀痛,

腹泻, 痢疾; 外用治烧烫伤^[1]。据文献报道, 救必应药材中含黄酮、酚类、木脂素和皂苷等化合物^[2], 其中紫丁香苷和长梗冬青苷是主要的有效成分^[3-4], 因此, 本实验采用 HPLC 法同时测定救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷的量, 该方法简便, 分离效果

* 收稿日期: 2009-12-15

作者简介: 毕福钧(1982-), 男, 硕士, 药师, 主要从事药品检验和质量标准的研究工作。

Tel: (020) 26282368-335 E-mail: bifu@hot.com

* 通讯作者 顾利红 Tel: (020) 26282368-335 E-mail: gulh@gzfd.gov.cn

好,为更好地控制救必应药材的质量提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(紫外检测器,脱气机,四元梯度泵,化学工作站);CQF-I-6 型超声波清洗仪(上海音波电科技公司);Mill-Q 超纯水仪(Millipore)。

紫丁香苷对照品(批号 111574-200201),购自中国药品生物制品检定所;长梗冬青苷对照品(由广州市医药工业研究所提供,其结构通过 IR、HPLC-MS、NMR 数据与文献数据对照进行了确证,经 HPLC 归一化法测定,质量分数为 99.7%)。乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

10 批收集于不同产地的药材均由广州市药品检验所中药室刘柏英老师鉴定,见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验: Dikma C₁₈ 色谱柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温 30 °C;流动相为乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~20 min, 10%~40% A; 20~30 min, 40% A);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 210 nm;进样量 10 μL。理论板数按紫丁香苷峰计算不低于 3 000,紫丁香苷、长梗冬青苷与相邻峰分离度均大于 1.5。

2.2 对照品溶液制备:取紫丁香苷对照品、长梗冬青苷对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成分别为 0.1 mg/mL 紫丁香苷,0.3 mg/mL 长梗冬青苷的混合溶液。

2.3 供试品溶液制备:取药材粉末(过 3 号筛)约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,摇匀,称定质量,超声处理 30 min(功率 250 W,频率 40 kHz),放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线绘制:分别精密吸取混合对照品溶液(紫丁香苷的质量浓度为 99.0 μg/mL,长梗冬青苷的质量浓度为 269.9 μg/mL) 2、5、10、15、20、25、30 和 35 μL 进样,测定其峰面积。分别以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得紫丁香苷回归方程: $Y = 3.074.6X + 61.13, r = 0.9999$;长梗冬青苷回归方程: $Y = 316.42X + 2.8039, r = 0.9999$ 。结果表明,紫丁香苷和长梗冬青苷分别在 0.1980~3.4650 μg 和 0.5398~9.4465 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 10

μL,重复进样 6 次,在上述色谱条件下测定峰面积,紫丁香苷、长梗冬青苷峰面积的 RSD 分别为 0.5%、0.3%。

2.6 重现性试验:取同一批样品(编号 1),精密称取 6 份,按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下测定紫丁香苷、长梗冬青苷的量,结果紫丁香苷、长梗冬青苷的质量分数分别为 2.3%、8.9%,RSD 分别为 1.5%、1.1%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,在室温下放置,分别于 0、2、4、8、12、16、24 h 测定紫丁香苷、长梗冬青苷的量,RSD 分别为 0.3%、1.9% ($n = 7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验:精密称取 6 份已测定紫丁香苷、长梗冬青苷的同一批样品(编号 1) 0.05 g,置具塞锥形瓶中,分别精密加入长梗冬青苷对照品 4 mg,紫丁香苷对照品溶液 25 mL (46.65 μg/mL),依法制成供试品溶液,在上述色谱条件下测定,紫丁香苷的平均回收率为 97.1%,RSD 为 1.9%;长梗冬青苷的平均回收率为 99.2%,RSD 分别为 1.6%。

2.9 样品测定:分别吸取对照品溶液与供试品溶液,在上述色谱条件下测定,以外标法计算各样品中紫丁香苷、长梗冬青苷的量,结果见表 1, HPLC 色谱图见图 1。

表 1 不同产地救必应中紫丁香苷和长梗冬青苷量的测定结果 ($n = 2$)

Table 1 Determination of syringin and pedunculoside in *Ilicis Rotundae* Cortex from different habitats ($n = 2$)

编号	产地	质量分数/%	
		紫丁香苷	长梗冬青苷
1	广东阳山	2.3	8.9
2	广东肇庆	3.1	7.0
3	广东翁源	2.9	12.0
4	广东连州	1.3	11.8
5	韶关曲江	2.9	9.5
6	广西灵山	1.7	8.9
7	广西博白	3.3	6.3
8	福建	1.3	6.8
9	江西赣州	1.0	2.5
10	湖南永州	2.3	8.9

3 讨论

3.1 救必应药材及其制剂多以紫丁香苷为测定的指标^[5],也有单独测定救必应药材中长梗冬青苷量的报道^[6]。本实验首次建立同时测定救必应中紫丁香苷和长梗冬青苷量的高效液相色谱法,方法简便,准确,重现性好,能够更全面地控制救必应药材的质量。

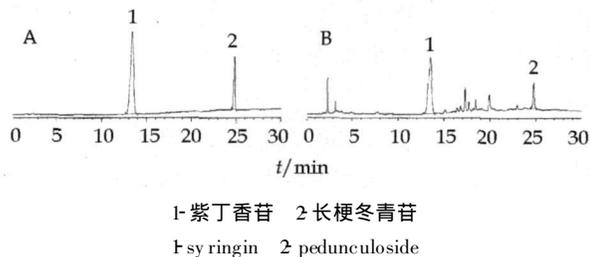


图 1 对照品 (A) 与样品 (B) HPLC 色谱图

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

3.2 检测波长的选择: 通过对紫丁香苷、长梗冬青苷对照品溶液进行紫外波长扫描, 结果表明, 两者在 210 nm 波长处均有较强的吸收, 因此选择 210 nm 紫外检测波长。

3.3 实验中比较了不同提取溶剂 (甲醇、乙醇、水、20% 甲醇、50% 甲醇和 80% 甲醇) 以及不同提取方法 (超声提取、加热回流提取和索氏回流提取) 对紫丁香苷和长梗冬青苷的提取效果, 结果显示, 50% 甲醇超声提取的效果最理想; 另外, 对超声提取时间 (15、30、45、60min) 进行了考察, 结果表明

超声提取 30 min 即可将两个成分提取完全。因此, 最终确定供试品溶液的制备方法为 50% 甲醇超声提取 30 min。

3.4 从样品的测定结果来看, 不同产地救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷的量差异较大, 这可能与救必应的生长环境、生长时间、药用部位 (枝皮或树干皮) 等因素有关。

致谢: 方法研究中使用的具柄冬青苷对照品由原广州市医药工业研究所刘国樵高级工程师及原广州市药品检验所朱品业主任药师提供, 特此感谢。

参考文献:

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准 (第一册) [M]. 广州: 广东科技出版社, 2004
- [2] 蒋涛滔, 张榕文, 范庆亚. 救必应研究进展 [J]. 中医药导报, 2007, 13(2): 82-84
- [3] 谢培山, 杨赞熹. 救必应化学成分的研究—止血成分救必应乙素的分离、鉴定 [J]. 药学学报, 1980, 15(5): 303-305
- [4] 李超生. 具柄冬青苷的制备方法及应用 [P]. 中国专利: CN 101099754A, 2008-01-09
- [5] 林 彤, 梁广华. 高效液相色谱法测定救必应及其制剂中丁香苷的含量 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(11): 671-672
- [6] 李超生, 张 婷, 李林国, 等. 高效液相色谱法测定救必应药材中具柄冬青苷的含量 [J]. 特产研究, 2007, 4: 45-47

多种药用裸子植物中双黄酮的定量测定

鲁来凤, 曹 园, 王 强*

(中国药科大学, 江苏 南京 210009)

摘 要: 目的 用 HPLC 法同时测定多种药用裸子植物中穗花杉双黄酮、扁柏双黄酮及银杏双黄酮的量。方法 采用 Hanbon Lichrospher C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱, 甲醇 0-100% 甲酸水梯度洗脱, 检测波长 337 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C。结果 所测样品中双黄酮类成分的量差异大, 其中, 穗花杉双黄酮的量在 0.08~4.61 mg/g; 扁柏双黄酮的量在 0.03~4.68 mg/g; 银杏双黄酮的量在 0.10~3.03 mg/g。穗花杉双黄酮在所测样品中存在比较普遍, 而银杏双黄酮则相对较少。此方法加样回收率和线性范围均符合要求。结论 本方法结果准确、灵敏度高、重现性好, 可作为部分药用裸子植物中双黄酮类成分的质量控制定量方法。

关键词: 药用裸子植物; 穗花杉双黄酮; 扁柏双黄酮; 银杏双黄酮

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)07-1388-03

裸子植物分布在世界各地, 特别是北半球亚热带高山地区及温带至寒温带地区。药用裸子植物的化学成分主要有黄酮类、生物碱、有机酸及甾酮等。其中, 黄酮类及双黄酮类成分是裸子植物的特征性成分^[1]。双黄酮具有抗肿瘤、抗病毒、消除自由基等药理作用^[2-4], 提示该类化合物在治疗心血管疾病及抗肿瘤方面具有广阔的前景。因此, 合理开发利

用裸子植物中双黄酮类成分资源具有重要的意义。虽然裸子植物的分析研究已有报道, 但药用裸子植物中双黄酮的定量测定未见系统报道, 因此本实验采用 HPLC-DAD 方法考察了多种不同药用裸子植物中双黄酮类成分量差异, 为今后利用药用裸子植物中双黄酮类成分提供科学依据。

1 仪器与试剂

* 收稿日期: 2009-12-07

作者简介: 鲁来凤 (1981-), 女, 湖南常德人, 硕士研究生, 从事中药及其制剂分析。Tel: 15850686892 E-mail: lulaileng520@126.com

* 通讯作者 王 强 Tel: (025) 83271390 E-mail: qwang49@sohu.com