

流动相: 甲醇-乙腈-水 (25 : 35 : 40), 图 A~C 分别为样品经液/液萃取、 C_{18} 及 Al_2O_3 柱固相萃取后的 HPLC, 峰 1 为: cephalomannine, 峰 2 为: paclitaxel, 其停留时间: 32 min, 峰 3 为: 7-epitaxol

图 1 云南红豆杉浸膏 HPLC 分析

峰 1 为: paclitaxel, 其停留时间: 15 min

图 2 红豆杉培养细胞浸膏氧化铝萃取后 HPLC 图

参考文献

- 1 Harvey S D, *et al.* J Chromatogr, 1991, 587, 300
- 2 Kopycki W J, *et al.* J of Liq Chromatogr, 1994, 17, 2569
- 3 Yungi Wu, *et al.* J Liq Chromatogr, 1997, 20, 314
- 4 Lillian K S, *et al.* Anal Chem, 1997, 69, 2008

- 5 王文芝. 色谱, 1997, 15(3): 254
- 6 Dauh-Rurng Wu, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 702, 233

(1998-04-23 收稿)

Determination of Paclitaxel in Yew (*Taxus*) by $\gamma-Al_2O_3$

Solid-phase Extraction and RP-HPLC

Zhang Zhiqiang, Wei Xingui, Tian Guilian, *et al.* (Institute of Biochemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012)

Abstract A new RP-HPLC method for the determination of paclitaxel in *Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu and the callus cultures of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. is described. The crude extract may be fractionally partitioned using $\gamma-Al_2O_3$ solid-phase extraction, this fraction can then be assayed directly by means of HPLC on a C_{18} column with methanol : acetonitrile : water (25 : 45 : 30) as mobile phase and UV detector at 227 nm. The calibration curve was linear between the peak area and the amount of paclitaxel over the range of 0.4~19.2 μg with a correlation coefficient of 0.9996.

Key words solid-phase extraction RP-HPLC paclitaxel

胶束电动毛细管电泳法测定柑橘属 药材中柚皮苷和橙皮苷的含量

湖南省中医药研究院中药研究所(长沙 410013) 杨 瑛* 王实强 彭源贵

摘要 建立了一种测定芸香科柑橘属药材中柚皮苷及橙皮苷含量的新方法,即以苯甲酸钠为内标物,采用胶束电动毛细管电泳法,可将上述药材中柚皮苷、橙皮苷和内标物较好分离。加样回收率柚皮苷为 98.5%,橙皮苷为 96.7%。该方法简便、准确、重现性好,可作为柚皮苷和橙皮苷的含量控制方法。

关键词 胶束电动毛细管电泳法 芸香科柑橘属 中药材 柚皮苷 橙皮苷

芸香科柑橘属药用植物来源广泛,1995 年版药典收载的中药材主要有 6 种,即化橘

* Address: Yang Ying, Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changsha

杨 瑛, 1986 年湖南中医学院中药系毕业, 学士学位, 助理研究员。主要从事中药新药的制剂工艺和质量标准的研究工作。曾负责卫生部四类新药“八珍胶囊”的制剂学研究, 三类新药“烧伤净软膏”的质量标准研究等。参与部、省级科研课题多项, 获得省厅级中医药科技进步奖三项。在国家级及部省级杂志上发表论文多篇。

红、佛手、陈皮、青皮、枳实、枳壳。该属植物主要含挥发油及黄酮类成分,尤以柚皮苷和橙皮苷为其代表成分。上述两种成分有多种分析方法^[1~6]。我们采用胶束电动毛细管电泳法同时测定芸香科柑橘属药材中柚皮苷和橙皮苷的含量,取得了较满意的结果。

1 仪器与试剂

HP-3D 高效毛细管电泳仪(惠普公司),柚皮苷和橙皮苷购自中国药品生物制品检定所,6 种药材购自本院中药房,所用化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 电泳条件:石英毛细管,直径 50 μm ,长度 64.5 cm,有效长度 56 cm;缓冲液 pH=9.0,0.02 mol/L 的硼砂,0.05 mol/L 十二烷基硫酸钠(SDS),10%的乙腈,电压 20 kV;温度 25℃;检测波长 $\lambda=213\text{ nm}$;进样量为 10 kPa.s。在上述条件下,各药材中柚皮苷、橙皮苷及内标物迁移时间分别为 6.5、6.8 和 10.4 min。各成分分离较好,见图 1。

2.2 对照品溶液的配制:精称取柚皮苷和橙皮苷适量,用 50%甲醇溶解,滴加氨水调 pH 值 8~9,分别制成 200 mg/L 和 92 mg/L 的溶液。

2.3 内标溶液的配制:精密称取苯甲酸钠,加水溶解成 200 mg/L 的溶液,备用。

2.4 样品溶液的配制:化橘红、佛手剪成极细条,陈皮、青皮、枳实、枳壳等粉碎成细粉,过筛,分别称约 0.5 g,置于 50 mL 容量瓶内,加 50%甲醇超声提取 30 min,放冷至室温,补充损失的溶剂,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.5 标准曲线与线性关系:分别吸取柚皮苷、橙皮苷、苯甲酸钠不同浓度的混合液,进样,以柚皮苷、橙皮苷的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。柚皮苷在 200~1 000 μg 、橙皮苷 100~600 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,回归方程:柚皮苷为 $Y=0.185X-0.824$, $r=0.9995$;橙皮苷为 $Y=0.106X-0.994$, $r=0.995$ 。

2.6 加样回收试验:以柚皮苷和橙皮苷含量较高的枳壳为代表,测定加样回收率。精确称取上述两种对照品适量,加入已知含量的枳壳药材 0.25 g 中,依上法操作,结果平均回收率:柚皮苷为 98.5%, $RSD\%=2.14$;橙皮苷为 96.7%, $RSD\%=3.68(n=5)$ 。

2.7 样品测定:取上述 6 种药材每份约 0.5 g,精密称定,按上述方法提取并测定 3 次,用内标峰面积法计算,各药材中柚皮苷和橙皮苷的含量见表 1。

表 1 各药材中柚皮苷和橙皮苷的含量($n=3$)

药材	学名	柚皮苷(%)	橙皮苷(%)
化橘红	<i>Citrus grandis</i> (L.) Osbeck	1.55	— *
佛手	<i>C. medica</i> L. var. <i>sarcodictylis</i> Swingle	— *	— *
陈皮	<i>C. reticulata</i> Blanco	0.32	3.36
青皮	<i>C. reticulata</i> Blanco	— *	0.66
枳壳	<i>C. aurantium</i> L.	6.98	3.10
枳实	<i>C. aurantium</i> L.	1.05	0.99

* 在上述对照品浓度范围内几乎测不出。

3 讨论

3.1 芸香科柑橘属药材来源广泛,不同产地,药材名称不一,本文仅对 95 版药典内所载 6 个品种作一次含量测定方法的探讨,未进一步分析各品种与产地间的含量差异。

3.2 95 版药典所载陈皮中橙皮苷的含量测定方法为分光光度法,操作较为繁冗,化橘红中柚皮苷含量测定采用 HPLC 法,理论塔板数要求不低于 1 000,相比之下,本法前处理简单,分析速度快,样品需要量很小,使用很简单的缓冲液作为载体,几乎不产生废液,分析耗费低,柱效高,理论塔板数均达到 100 000 以上。分离效率要高两个数量级。在上述药材中,由于柚皮苷和橙皮苷含量差异较大,在 HPLC 法中同时测定,国内文献中未见报道。

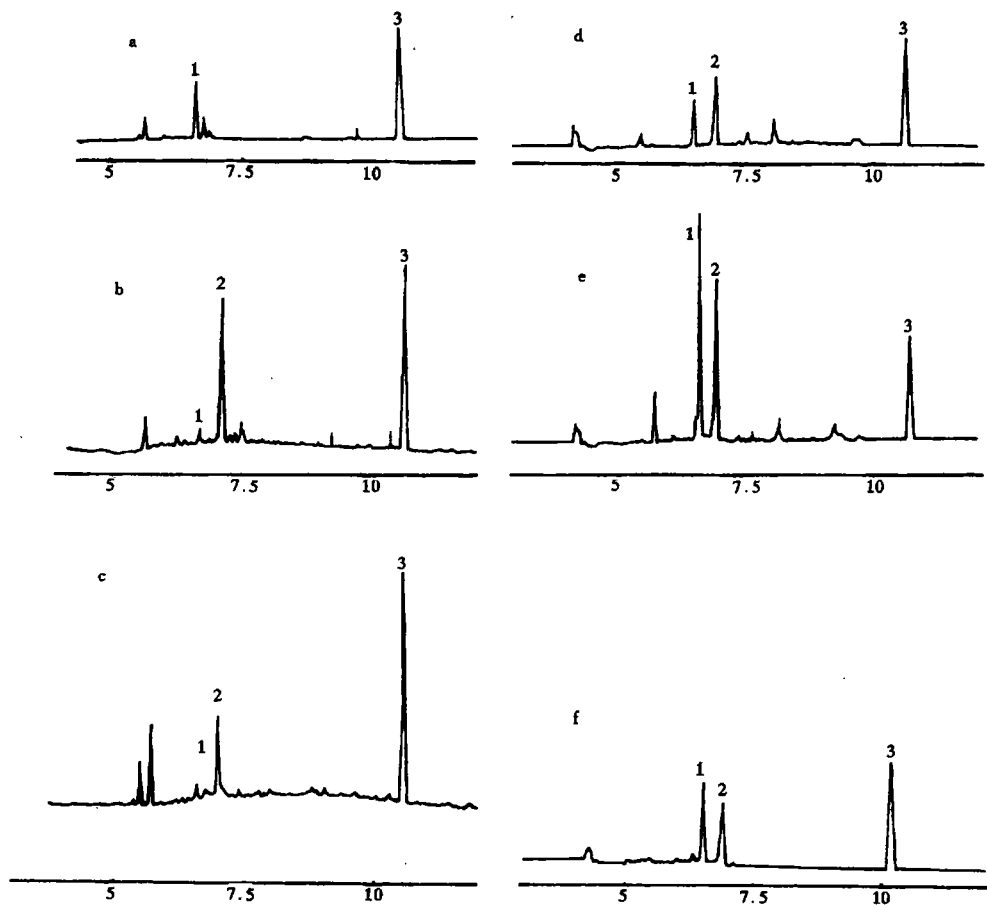
3.3 在分离中性成分时于操作缓冲液中加入表面活性剂 SDS,单个的表面活性剂分子之间聚集而成胶束,样品中各组分极性的差异而致胶束与中性分子间的相互作用有强有弱,从而引起各组分迁移速率的快慢达到分离的目的。

3.4 选择苯甲酸钠为内标物,在本法测定条件下,可与柚皮苷和橙皮苷分离完全,迁移时

间相隔 4 min,有利于内标物与上述药材中其它杂质峰的分离。

3.5 曾以枳壳为代表,选择不同前处理方

法,结果采用甲醇回流法与用 50% 甲醇超声提取法结果较接近,而以水煮加热提取法为最低,约为超声法含量的 85%。



时间 t (min)
1-柚皮苷 2-橙皮苷 3-苯甲酸钠 a-化橘红 b-陈皮 c-青皮 d-枳实 e-枳壳 f-对照品

图 1 胶束电动毛细管电泳图

致谢:本所生药室谢昭明助理研究员代作生药鉴定。

参考文献

- 1 Kaito T, *et al.* 药剂学, 1979, 39: 210
- 2 陈光表. 药学通报, 1981, 16(8): 18

- 3 卢日刚. 中成药研究, 1987, (8): 8
- 4 李国权. 中草药, 1994, 25(7): 359
- 5 王静竹, 等. 中国中药杂志, 1994, 19(7): 424
- 6 何燕萍, 等. 中草药, 1997, 28(4): 205

(1998-06-26 收稿)

Determination of Naringin and Hesperidin in *Citrus* by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography

Yang Ying, Wang Shiqiang and Peng Yuanguai (Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changsha 410013)

Abstract A micellar electrokinetic capillary chromatographic method (MECC), using sodium benzoate as internal standard, for the determination of naringin and hesperidin in Chinese materia medica of *Citrus* L. was established. The recoverise of naringin and hesperidin were 98.5% and 96.7% respectively, which showed that this method is simple, accurate, and reproducible and can be used for the quality control

应用离子对色谱技术同时测定天仙子中的三种生物碱

天津医科大学(300070) 李惠芬* 张庆伟 张晓梅 董伟林

摘 要 应用离子对色谱技术,同时测定天仙子中山莨菪碱、东莨菪碱、阿托品 3 种有效成分。色谱条件为 YWG-C₁₈柱,4.6 mm×250 mm,灵敏度:0.04 AUFS,柱温:室温,进样量:20 μL。山莨菪碱、东莨菪碱、阿托品的回收率分别为 98.8%,RSD=0.56%;100.4%,RSD=1.2%;101.5%,RSD=0.40%。

关键词 离子对色谱 山莨菪碱 东莨菪碱 阿托品

天仙子为茄科莨菪 *Hyoscyamus niger* L. 的干燥成熟种子^[1],所含的生物碱具有重要的医疗用途,但因其有大毒,5~10 mg 即能产出显著中毒的症状^[2]。因此,新药审批要求,处方中无论是作为君药还是臣药都必须检测。我们曾用薄层扫描法,对所含的生物碱做了分别测定^[3~5]。笔者应用离子对色谱技术,反复优化分离条件^[6~7],不经分离同时测定了天仙子中山莨菪碱,东莨菪碱和阿托品 3 种有效成分的含量。此法与 TLC 测定方法比较,其操作简便、准确。

1 仪器、试剂及试药

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪及 SPD-2AS 紫外检测,CR-3A 色谱数据处理机。乙腈(色谱纯),水(二次重蒸水),氢溴酸山莨菪碱、氢溴酸东莨菪碱、硫酸阿托品(中国药品生物制品检定所),天仙子分别由山西、宁波、辽宁、内蒙古、河北药材仓库购得。

2 色谱条件

色谱柱:YWG-C₁₈ 4.6 mm×250 mm,流动相为乙腈-0.05 mol/L 庚烷磺酸钠水溶液(35:65),流速:1.5 mL/min,检测波长 210 nm,灵敏度:0.04 AUFS,柱温:室温,进样量:20 μL。在上述条件下有关标准品及供试品溶液的分离情况见图 1。

3 标准曲线制备

精密称取氢溴酸山莨菪碱、氢溴酸东莨菪碱、阿托品各 10 mg,置 10 mL 容量瓶中,分别加入流动相溶解并稀释至刻度,摇匀、备用,作为各自的标准品贮备液 1、2、3。

精密移取上述标准溶液 0.25、0.50、1.0、2.0、3.5 mL 置 10 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀进样,得回归方程为:

$$Y_{\text{氢溴酸山莨菪碱}} = 2687.335 + 518.6081C, r = 0.9998$$

$$Y_{\text{氢溴酸东莨菪碱}} = 3279.663 + 548.6010C, r = 0.9993$$

$$Y_{\text{硫酸阿托品}} = 271.8794 + 616.1999C, r = 0.9995$$

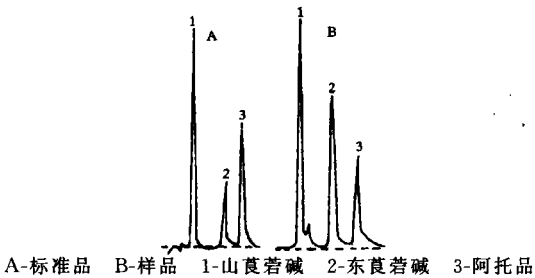


图 1 样品色谱图

4 样品测定

精密称取山西、宁波、辽宁、河北、内蒙古 5 个地区的样品粉末各 4 g,装袋于索氏提取器中,加石油醚去脂 6 h,取出,挥干石油醚,滴加氨水 5 mL 润湿,密闭 50 min,挥去多余

* Address:Li Huifen, Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin