表 1　样品含量测定结果(%)($n=3$)

成分	采收期(月)						
	5	6	7	8	9	10	11
M-1	0.1052	0.1309	0.4016	0.2999	0.4516	0.5156	0.6008
M-4	—	0.0287	0.3589	0.2057	0.2649	0.3974	0.4796
M-5	0.3779	1.170	2.645	2.272	2.694	2.576	3.394

6.5　展开剂中的水分对分离具有关键的作用，不加水时斑点严重拖尾，影响分离，但水量过大则展开剂变混浊。

致谢：本所植化室林茂研究员提供对照品，表示感谢。

参 考 文 献

1　马天波，等．中草药，1987，18(3)：105
2　林　茂，等．药学学报，1993，28(6)：437
3　中国医学科学院药物研究所编著．中草药现代研究．第三卷．北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1997：222
4　Cheng G F, *et al*. Phytomedicine, 1994, 1: 209
5　杨东旭，等．药学学报，1995，30(2)：254
6　周同惠，等编著．纸色谱和薄层色谱．北京：科学出版社，1989：296

(1998-12-14 收稿)

HPLC 法测定冬虫夏草中腺苷含量

福建省药品检验所(福州 350001)　吴春敏*　叶榕平**

摘　要　采用甲醇为溶剂，提取冬虫夏草及其虫体、子座中的核苷类成分，用 HPLC 法测定腺苷的含量；色谱条件以 μBondapak C_{18}(4.6 mm×250 mm，10 μm)为色谱柱，0.01 mol/L 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液(pH6.5)-甲醇(85∶15)为流动相，检测波长 UV260 nm；$r=0.9999$，线性范围 0.2～1 μg，回收率 104.5%。

关键词　HPLC　冬虫夏草　腺苷

Determination of Adenosine in Dongchongxiachao (*Cordyceps sinensis*) by HPLC

Wu Chunmin and Ye Rongping (Fujian Institute of Drug Control, Fuzhou 350001)

Abstract　A method has been developed for the determination of adenosine in *Cordycepes sinensis* (Berk.) Sacc. by HPLC. Nucleosides in both worm body and stroma were extracted with MeOH. A μ Bondapak C_{18} column was used, with phosphate buffer (0.01 mol/L of a mixture of NaH_2PO_4 and Na_2HPO_4 of pH 6.5)-MeOH (85∶15) as the mobile phase, and detected at a wavelength of 260 nm. The linear range was 0.2～1.0 μg, $r=0.9999$. The average recovery was 104.5%.

Key words　*Cordyceps sinensis*　adenosine

冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 是我国传统名贵中药材之一。近年来，人们对人工发酵虫草菌粉提出了质量评测方法[1～3]，而针对天然虫草的质量评价方法却显得相对匮乏。为了有效地控制天然虫草的质量，我们拟定以其有效成分之一的核苷类化合物腺苷(adenosine)为检测指标[1,4]，采用 HPLC 法对西藏和青海虫草进行定量分析，为冬虫夏草的质量评定提供了一种快捷、有效的检测方法。

* Address: Wu Chunmin, Fujian Institute for Drug Control, Fuzhou
** 为福建中医学院 93 级实习生

1 仪器与试药

1.1 仪器：高效液相色谱仪(PE I -4000)

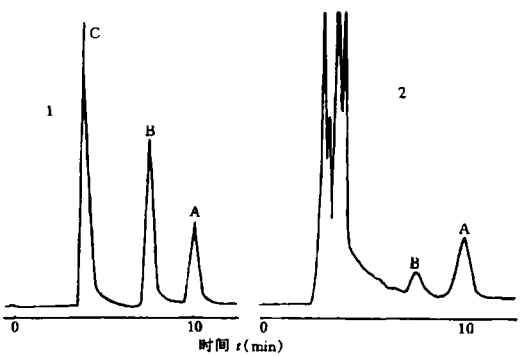
1.2 试剂：腺苷(中科院上海生化所东风生化技术公司，层析纯)；尿苷(SIGMA)、腺嘌呤(上海丽珠东风生物技术有限公司)；尿嘧啶(上海试剂二厂)，甲醇(GR)，超纯水，其余均为分析纯。

1.3 试验材料：青海虫草(青海省药检所提供，分别来自玉树州、果洛州、海北州)，西藏虫草(购自西藏药材公司)。

2 方法与结果

2.1 分析条件：色谱柱：μBondapak C_{18}(4.6 mm×250 mm，10 μm)；流动相：0.01 mol/L 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液(pH6.5)-甲醇(85∶15)，流速 1.0 mL/min。理论板数按腺苷峰计不低于 2 000；检测波长：UV260 nm。

2.2 标准品色谱参数：精密称取尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、腺苷各 10 mg 于 10 mL 容量瓶中，加 50%乙醇近刻度，超声助溶后放至室温，定容，摇匀。精密移取上述溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中，50%乙醇定容，摇匀。将此溶液在拟定条件下分析，腺苷与前一样品峰可达到完全分离，分离度 2.41，保留时间 9.9 min(见图 1)。



1-混合标准品　2-西藏虫草
A-腺苷　B-腺嘌呤　C-尿苷+尿嘧啶

图 1 虫草色谱图

2.3 标准曲线制备：精密称取腺苷 25 mg 于 25 mL 量瓶中，加 50%乙醇近刻度，超声助溶后放至室温，定容，摇匀。准确量取 1，2，3，4，5 mL 分置于 10 mL 量瓶中，用同一溶剂定容，在拟定色谱条件下进样 20 μL 测定峰面积。以峰面积-浓度作图，腺苷在 0.2～1.0 μg 范围内呈良好的线性关系，回归方程为 $Y=19169467.51X+338019.1$，相关系数 $r=0.9999$。

2.4 样品预处理：称取虫草样品适量，粉碎，过 2 号筛，备用。精密称取虫草 0.5 g 于索氏提取器中，加甲醇 80 mL，回流提取 4.5 h。提取液蒸干，50%乙醇定容至 5 mL，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，滤液即为供试液。

2.5 回收率试验：采用加样回收法。精密称取虫草粉 0.25 g 于索氏提取套筒中，精密量取 100 μg/mL 腺苷标准液 1 mL 于盛有虫草粉的纸筒内，使虫草粉均匀润湿。将加样后的虫草粉连同索氏提取套筒移入恒温干燥箱中，于 60℃烘烤 2 h，按 2.4 所述方法处理，以此法平行操作 5 份样品，进样 20 μL 后测得腺苷峰面积，求出平均回收率为 104.56%，$RSD=2.33\%$。

2.6 精密度试验：取经预处理的样品(以海北州虫草为例)在拟定的色谱条件下连续进样 5 次，得峰面积，$RSD=0.91\%$。

2.7 重现性试验：以拟定提取方法平行提取 5 份样品(以西藏虫草为例)，在拟定色谱条件下分别测定腺苷含量，$RSD=4.21\%$。

2.8 样品分析：依拟定方法分别测定 4 种虫草样品，进样量 20 μL，按外标法以峰面积计算腺苷含量。结果见表 1，色谱图见图 1。

表 1 样品测定结果

	样品	虫体 (mg/g)	子座 (mg/g)	全体 (mg/g)
青海	西藏虫草	0.362	0.582	0.385
	海北虫草	0.112	0.326	0.201
	玉树虫草	0.141	0.339	0.192
	果洛虫草	0.166	0.395	0.240

3 讨论

3.1 样品预处理是天然虫草运用 HPLC 法测定腺苷含量的关键之一。经试验，我们用甲醇索氏回流提取，可完全杜绝蛋白质的溶出，从而保护了色谱柱。经方法学各项试验，结果令人满

意。提取时间以 4～5 h 为宜(见表 2)。样品于 2 ℃～4 ℃储存,36 h 内腺苷含量稳定。

3.2 流动相中磷酸盐缓冲液与甲醇配比为 90∶10 时,标准品各峰分离良好,但腺苷保留时间偏长。最终选定二者配比为 85∶15,虽然尿嘧啶与尿苷无法分离,但均可作为杂质并入杂质峰中,样品中腺苷仍可与杂质峰完全分离,保留时间较为适宜,有利于快速分析。

表 2 西藏虫草提取时间比较

提取时间(h)	1	2	3	4	5	6	7
腺苷含量(mg/g)	0.201	0.233	0.379	0.390	0.391	0.378	0.360

3.3 试验中,我们分别测定了冬虫夏草 2 个主产省区的 4 个样品中腺苷的含量。结果表明,青海 3 个产地的虫草中腺苷含量基本相同,但较西藏虫草明显偏低。比较两省区的虫草样品外观,青海产虫草的虫体显著大于西藏虫草。经腺苷含量比较试验却发现,西藏虫草的虫体与子座中腺苷含量均高于青海虫草。同时,各虫草子座中腺苷的单位含量均高于虫体,这与文献报道相吻合[5]。以上结果对冬虫夏草以虫体大小决定质量优劣的外观评定方法提出置疑。

参 考 文 献

1 姜丽霞,等. 中成药,1993,15(5):33
2 潘锡强,等. 中成药,1994,16(10):12
3 李来生. 色谱,1995,133(4):305
4 毛丽珍,等. 中草药,1993,24(9):467
5 杨世海,等. 中草药,1994,25(9):488

(1999-02-06 收稿)

刺五加提取物中丁香苷的 HPLC 法测定

中国医药研究开发中心(北京 102206) 张世伟* 赵咏丽 鲁学照

摘 要 以 C_{18} 柱,甲醇-水-醋酸(150∶850∶15)为流动相,检测波长为 270 nm,建立了刺五加提取物中主要有效成分丁香苷的 HPLC 法测定。结果表明:本法快速、灵敏、简便、准确。

关键词 刺五加 丁香苷 HPLC

刺五加提取物是从刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎中提取有效部位后喷雾干燥而成。其中主要含有丁香苷、异秦皮定、总黄酮等成分。为了更好地控制产品质量,我们探讨并建立了采用 HPLC 法测定该提取物的主要有效成分丁香苷含量的方法。

1 仪器与试药

仪器:Waters 高效液相色谱仪,501 泵,490 多波长检测器,740 数据处理机。对照品:丁香苷由本室自制。样品:刺五加提取物(吉林白山正茂药业公司生产,批号为 921120,930319,951209,960142,970351)。甲醇、醋酸,均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱:YWQ-C_{18} 4.6 mm×250 mm。流动相:甲醇-水-醋酸(150∶850∶15);流速:1.0 moL/min。检测波长:270 nm;柱温:室温;在此条件下丁香苷的保留时间为 18.3 min,丁香苷能与其它成分很好分开(见图 1)。

3 实验方法

3.1 对照品溶液的制备:称取丁香苷 2.00 mg 置于 50 mL 容量瓶中,加 95%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀。再从中精密吸取 1 mL,

* Address:Zhang Shiwei, National Institute of Pharmaceutical Research & Development, Beijing
张世伟 男,1986 年 7 月毕业于华东理工大学生化工程系,获学士学位,毕业后一直在中国医药研究开发中心工作,副研究员;目前主要从事中药的研究开发工作。