

对照液, 130微升 孔, 37℃ 湿盒中孵育, 2 h后倒掉反应液并晾干, 洗 3 3 min, 晾干。

③ 酶标记反应: 加入酶标二抗, 100微升 孔, 37℃ 孵育 1 h, 洗 3 3 min, 晾干。

④ 显色反应: 1 mg 底物+ 2.5 mL 底物液 A+ 42 μ L底物液 B, 待底物充分溶解后加入酶标板, 100微升 孔, 37℃ 15 min后加入终止液, 40微升 孔。

⑤ 测定: 酶标仪 490 nm测定吸收值。

3.3 计算

① 求出各孔的吸收校正值: 吸收校正值= 吸收实测值- 空白对照孔吸收值(均值)。

② 求出待测样的吸收值: 吸收(%)= [吸收校正值÷ 阴性对照孔吸收校正值(均值)] × 100%。

③ 求出待测样 AFB₁含量 (ng/g): 将待测样的吸收(%)值带入标准竞争抑制曲线, 算出 AFB₁含量。结果见表 1。

4 讨论

ELISA法检测限达 0.01 ng, 操作比较简单, 样品不用经过纯化是其优越性。本文所用试剂盒为单

表 1 中药材和中成药的 AFB₁含量

药材名称	AFB ₁ 含量 (ng/g)	药材名称	AFB ₁ 含量 (ng/g)
神曲	49.3	山楂	28
青皮	25.7	白术	15
白芍	2.3	黄芩	16.9
泻叶	100	麦冬	0
黄芪	200	胖大海	19
陈皮	106	枳实	23.5
柴胡	10	续断	44.7
丹皮	2.5	姜黄	17
地丁	14.6	茯苓	0
金钱草	12	银翘解毒丸	29.5
板蓝根	100	清眩治瘫丸	23.7

克隆抗体, 与文献所用多克隆抗体方法的检测结果相比, 所测中药材和中成药的 AFB₁含量低得多, 但据了解该试剂盒的单克隆抗体未检验过中药成分, 尚需证实含香豆素或黄酮类化合物的中药对检测 AFB₁有无干扰。

参考文献

- 1 杜平华, 杨晓峰. 药物分析杂志, 1995, 15 (2): 34
- 2 任凤兰, 马宏伟. 药物分析杂志, 1997, 17 (4): 280

(1999-07-08收稿)

刺五加提取物中紫丁香苷、紫丁香树脂苷的 HPLC测定法

西安天诚医药生物工程有限公司 (710075) 刘莹 惠玉虎*

摘要 以 C₁₈柱, 甲醇-水 (28: 72) 为流动相, 在 270 nm 检测波长下, 建立了刺五加提取物中紫丁香苷 (简称苷 B)、紫丁香树脂苷 (简称苷 E) 的反相高效液相色谱同时测定方法。该方法快速、准确、灵敏。方法回收率苷 B 为 97.3%, RSD 1.9%; 苷 E 为 96.8%, RSD 1.50%。

关键词 刺五加 紫丁香苷 紫丁香树脂苷 HPLC

刺五加提取物是从五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎中提取有效成分后喷雾干燥而成。其中主要含有各种苷类如紫丁香苷 (苷 B)、紫丁香树脂苷 (苷 E) 及多种木脂素类、异秦皮定和黄酮类等成分^[1]。关于苷 B 的测定已有报道, 为 HPLC 法, 流动相为甲醇-水-冰醋酸^[2,3], 氯仿-异辛烷-冰醋酸^[1]; 也有分光光度法^[1]。为了更好地控制产品质量, 根据客户要求, 我们对其中的苷 B、苷 E 的测定方法进行了研究, 建立了苷 B、苷 E 的反相高效液相色谱同时测定方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器, 大连化学物理研究所色谱工作站 (WDL-95), KQ-250 型超声波清洗器。

对照品: 苷 B、苷 E 均由美国 Alpha 实验室提供, 刺五加提取物为西安天诚医药生物工程有限公司生产 (批号为 991107, 991108, 991109, 991110, 991111)。甲醇为分析纯, 水为二次重蒸馏水。

2 色谱条件

色谱柱: Supelcosel LC-18-DB 4.6 mm × 150 mm 5 μ m; 流动相: 甲醇-水 (28: 72); 流速: 1.0

* Address: Hui Yuhu, Xi'an Tiancheng Drugs & Bioengineering Co. Ltd., Xi'an

惠玉虎 男, 理学硕士学位, 高级工程师。1989年毕业于吉林农业大学农业环保专业, 研究方向为农药残留分析。工作期间主要从事农药质量检测及科技推广工作, 共发表研究论文 8 篇, 译文 7 篇。现在西安天诚医药生物工程有限公司主要从事中草药提取物的检测和农药残留分析检测等工作。

m L/min;检测波长: 270 nm;灵敏度: 0. 01 AUFS;柱温: 室温。在上述色谱条件下,苷 B 苷 E 与杂质分离效果较好 (图 1)。

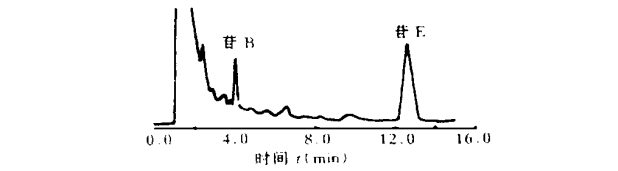


图 1 刺五加提取物样品色谱图

3 实验方法

3. 1 对照品溶液的制备: 精密称取苷 B 苷 E 对照品各 1. 00 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加 30% 甲醇溶解,必要时可超声振荡,待对照品完全溶解后定容至刻度,即得对照品溶液

3. 2 供试样品溶液的制备: 精密称取刺五加提取物样品约 400 mg,于 25 mL 容量瓶中,加入 30% 甲醇约 20 mL,超声振荡 30 min 后,放置室温,用 0. 45 μ m 的微孔滤膜过滤,即得供试样品溶液

4 实验结果

4. 1 线性关系: 分别精密吸取苷 B 苷 E 对照品溶液 1. 5, 2. 5, 5. 0, 7. 5, 10. 0 μ L,在上述色谱条件下进样测定峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,由标准曲线可知: 苷 B 在 0. 166 5~ 0. 832 5 μ g 范围内具有良好的线性关系,线性回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X + 666. 7, r = 0. 999 6$; 苷 E 在 0. 204~ 1. 02 μ g 范围内具有良好的线性关系,线性回归方程 $Y = 164 912 X - 2 186. 7, r = 0. 999 9$

4. 2 精密度: 精密吸取苷 B 苷 E 对照品溶液分别连续进样 5 次,每次进样 5 μ L 测定峰面积 苷 B RSD 为 1. 63% (n = 5), 苷 E: RSD 为 0. 48% (n = 5)。

4. 3 供试样品测定结果: 在上述色谱条件下,分别进样测定刺五加提取物中苷 B 苷 E 的含量,进样量 5 μ L (表 1)。

4. 4 回收率: 精密称取已知含量的刺五加提取物样

表 1 刺五加提取物中苷 B 苷 E 含量测定结果 (%)

批号	苷 B	苷 E	总含量
991107	0. 343	0. 484	0. 827
991108	0. 347	0. 538	0. 885
991109	0. 343	0. 496	0. 839
991110	0. 349	0. 505	0. 854
991111	0. 363	0. 534	0. 897

品,添加一定量的苷 B 苷 E 对照品,按供试样品处理方法测定 苷 B 回收率为 97. 3%, RSD 为 1. 95% (n = 3); 苷 E 回收率为 96. 8%, RSD 为 1. 50% (n = 3)。

5 讨论

5. 1 检测波长的选择: 经紫外扫描,苷 B 吸收波长为 264 nm (最大), 219 nm (最小); 苷 E 吸收波长为 206 nm (最大), 270 nm (最小) 为了进一步验证结果的准确性,在本文色谱条件下,作者选用 206 nm 波长对刺五加提取物中苷 B 苷 E 的含量进行了测定,其结果与 270 nm 波长下的测定结果一致。为了避免杂质的干扰,故选择 270 nm 波长检测为宜

5. 2 流动相比比例确定: 在上述色谱条件下,同一样品用甲醇-水 (28: 72) 流动相同时测定苷 B 苷 E 的结果与分别用流动相甲醇-水 (20: 80)^[3]检测苷 B 和用流动相甲醇-水 (30: 70) 检测 苷 E 所得结果相吻合。说明甲醇-水 (28: 72) 的流动相不但可用作同时测定刺五加提取物中苷 B 苷 E 含量,而且苷 B 苷 E 与杂质能完全分离,峰形无拖尾现象。

5. 3 提取溶剂的选择: 有文献报道用 95% 乙醇回流提取^[2]和甲醇超声波法^[3]提取 本文采用 30% 甲醇作为提取溶剂,经过超声振荡不同时间的提取实验,选用 30 min 提取时间与甲醇^[2, 3]提取结果基本吻合。

参考文献

1 陈发奎主编. 常用中草药有效成分含量测定. 北京: 人民卫生出版社, 1997 年第 1 版
2 张世伟, 赵咏丽, 鲁学照, 等. 中草药, 1999, 30(9): 660
3 陈广耀, 卢承前, 马双成. 中国中药杂志, 1999, 24(8): 472

(1999-12-30 收稿)