

120 μ L置于分液漏斗中,挥干甲醇,然后按照 2.4 中最佳实验条件操作,即分别加入 pH值为 3.44的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液 2.2 mL,再加入 0.4 mL溴酚蓝酸性染料溶液,摇匀,加入 7.0 mL氯仿溶液萃取,在 90 min时终止反应,将氯仿层放出,在 406 nm处测定吸光值,以对照品用量为横坐标,以吸光值为纵坐标,进行线性回归,得到以下线性方程: $Y=0.1184-8.98 \times 10^{-3}X$, $r=0.9994$ 此结果表明当标准品用量在 19.56~58.68 μ g 范围内,吸光值与对照品用量呈现良好的线性关系。

2.6 样品含量测定:精密称取待测样品 3份,每份 5 mg,置于 10 mL容量瓶中,加入甲醇定容,作为样品溶液,分别吸取 50 μ L置于分液漏斗中,挥干甲醇,然后分别按照 2.4中最佳实验条件操作,在 406 nm处测定吸光值,并依据 2.5中线性方程计算生物碱的含量。结果见表 4,骆驼蓬种子所含总生物碱约 5%。

表 4 样品含量测定结果

样品浓度 (mg/mL)	加入样品量 (μ g)	平均吸 光值	含量 (%)	折合生药含量 (%)
0.534	26.70	0.304	77.4	5.1
0.520	26.00	0.280	69.2	4.5
0.485	24.25	0.278	73.5	4.8

2.7 加样回收率实验:精密称取 harmine对照品 4.89 mg,置于 10 mL容量瓶中,加入甲醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密吸取样品溶液 (0.534 mg/mL) 3份,每份 50 μ L,置于分液漏斗中,分别加入对照品溶液 30, 40, 50 μ L,挥干甲醇,然后按照 2.4中最佳实验条件操作,在 406 nm处测定吸光值,并计算加样回收率,结果为 91.9% ($n=3$)

3 讨论

关于骆驼蓬种子总生物碱的含量测定,有双波长薄层扫描法、紫外分光光度法以及非水滴定法等多种方法,但是均不十分理想。非水滴定法测定总碱含量所需标准品量过多,且样品溶解于醋酸后颜色太深,致使结晶紫终点变化不明显;双波长薄层扫描法由于不同薄层板间差异较大,所以重现性欠佳。我们对酸性染料比色法进行了比较详细的研究,确定了最佳测试条件,建立了利用酸性染料比色法测定骆驼蓬种子总生物碱含量的方法。

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1977: 1757
- 2 李春杰, 刘德玺, 马特, 等. 新疆医学院学报, 1987, 10(1): 27
- 3 杨小平, 潘启超, 李春杰, 等. 癌症, 1991, 10(6): 463

(1999-12-30收稿)

大叶钩藤中表儿茶素含量的测定[△]

上海中医药大学中药研究所 (200032) 杨君* 宋纯清 陈明 王海燕 胡之璧

摘要 目的: 充分利用中药钩藤的植物资源, 测定并比较大叶钩藤 *Uncaria macrophylla* Wall. 的叶和钩茎中的表儿茶素含量。方法: 利用 RP-HPLC测定。结果: 钩藤钩茎中含表儿茶素 0.38%, 叶中含 0.82%。结论: 大叶钩藤中含有较多的表儿茶素, 叶中含量大于钩茎中含量。

关键词 大叶钩藤 表儿茶素 RP-HPLC

Determination of Epicatechin Content in *Uncaria macrophylla* by HPLC

Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM (Shanghai 200032) Yang Jun, Song Chunqing, Chen Ming, Wang Haiyan and Hu Zhibi

Abstract Epicatechin content in *Uncaria macrophylla* Wall. was determined by RP-HPLC. As a result, the epicatechin contents were 0.38% in the hook and stem, and 0.82% in the leaf. Thus it seemed to be more worthwhile to produce epicatechin from the leaf rather than from the hook and stem.

Key words *Uncaria macrophylla* Wall. epicatechin RP-HPLC

Address: Yang Jun, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai

杨君 1988年毕业于吉林大学物理化学专业, 获硕士学位; 1988~1998年在沈阳药科大学任教, 副教授; 1998年在沈阳药科大学天然药物化学专业获博士学位; 现在上海中医药大学做博士后, 先后从事天然药物化学、微生物学及物理化学方面的研究工作, 参加多项国家和辽宁省课题研究, 已发表 10多篇论文。

[△]“九五”国家重点科技攻关资助项目 (No. 969030203)

大叶钩藤 *Uncaria macrophylla* Wall. 为常用中药,用于治疗头晕目眩、惊痫抽搐、全身麻木等心脑血管和神经系统疾病。化学、药理及应用研究^[1]绝大部分只是针对生物碱部分。为了充分利用我国珍贵的中药材资源,我们对钩藤的非生物碱部分进行了研究,发现含有较多的表儿茶素。儿茶素类化合物具有明显的清除体内自由基、阻断 *N*-亚硝基化合物形成、抑制脂氧化酶活性和脂质过氧化物作用,并有防突变、防癌等药理活性。我们通过建立钩藤中表儿茶素的提取方法和 HPLC 含量测定方法,并对钩藤不同部位中表儿茶素的含量进行比较,为钩藤中表儿茶素的开发利用提供了依据。

1 仪器与实验材料

HP1100型高效液相色谱仪(惠普公司);二极管阵列检测器(DAD); ODS Hypersil 色谱柱(5 μ m, 250 mm \times 4 mm)

对照品表儿茶素由本室自制,经 MP UV、IR、¹H NMR、¹³C NMR、¹H-¹³C COSY、¹H-¹H COSY、HMBC 及 MS 鉴定核实。水为双重蒸水;甲醇为分析纯经重蒸;其余试剂均为分析纯。

大叶钩藤 *Uncaria macrophylla* 购自广西,由浙江省中药研究所孙昌高高级工程师鉴定。

2 实验方法与结果

2.1 样品制备:精密称取样品(钩藤叶、钩茎)1 g,置 100 mL 具塞三角瓶中,加入 50 mL 50% 的甲醇,密闭,冷浸过夜,超声 15 min 后滤过,减压浓缩除甲醇,浓缩液用水稀释至 50 mL,滴加 HCl 酸化至 pH = 3,过滤除沉淀后,用 EtOAc 50 mL 萃取 3 次,合并萃取液,减压回收溶剂至干,用甲醇溶解,滤过到 5 mL 量瓶中用少量甲醇洗涤并稀释至刻度,低温避光贮存备用。

2.2 液相色谱条件:流动相为乙腈-甲醇-水-冰乙酸(18:2:79.5:0.5);柱温 25 $^{\circ}$ C;检测波长 234 nm;流速 0.5 mL/min。

2.3 标准曲线的制备:精密称取对照品表儿茶素 2.516 mg,置于 5 mL 容量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度,配成 0.503 mg/mL 的对照品溶液。自动进

样器分别进样 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 25.0 和 50.0 μ L 进行分析测定。由 HP1100 化学工作站数据处理系统给出峰面积值,以对照品的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标做图,得到标准曲线,线性关系良好,回归方程为 $Y = 1499X + 4302$, $r = 0.9999$,线性范围 1.26~25.15 μ g。

2.4 精密度实验:取浓度为 0.503 mg/mL 的对照品溶液,进样 6 次,每次进样 10 μ L, RSD 为 3.2%。

2.5 重现性实验:精密称取同一样品 5 份,分别制成样品溶液,测定表儿茶素的含量, RSD 为 5.0%。

2.6 加样回收实验:精密称取 5 份样品各 1 g,其中 3 份分别精确加入表儿茶素对照品适量,按样品制备和测定项下所述方法,进行表儿茶素的含量测定,平均回收率为 98%, RSD 为 1.0%。

2.7 样品测定:精密量取样品贮备液,自动进样,按上述条件进行含量测定。结果表明,钩茎中平均含儿茶素 0.38%,叶中含 0.82%, RSD 分别为 1.1% 和 3.7%。

3 结果讨论

3.1 由于所测化合物极性较大,所以采用甲醇-乙醇-水作为提取溶剂,比较了单一溶剂和混合溶剂,最后选定 50% 甲醇水溶液作为最佳提取液。

由于儿茶素类经长时间加热易氧化,因此宜采用短时间加热、冷浸、超声波等提取方法。结果表明,热回流提取的提取液中表儿茶素很少。据文献报道,可能是在高温下表儿茶素异化成儿茶素^[2],所以最终选定冷浸过夜,超声 15 min 提取的方法。因钩藤中含有较多的生物碱,为避免干扰,先酸化除去生物碱及酸化后的沉淀物。

3.2 钩藤入药都是用其钩茎,叶作为无用部分而丢弃,造成了药材资源的浪费。从本实验的结果可以看出,钩藤叶中含有较多的表儿茶素,完全可以作为表儿茶素的来源之一而加以利用。

参考文献

- 刘贵,冯孝章. 中国药学杂志, 1991, 26(10): 583
- 米松伸一,久延羲弘,西乡英昭. 日本食品工业协会志, 1992, 39(2): 178

(1999-12-14收稿)

《中草药》杂志被确定为中国医学类核心期刊并被编入

《中文核心期刊要目总览》2000年版(第三版)

最近接到《中文核心期刊要目总览》2000年版(第三版)编委会通知:依据文献计量法的原理和方法,经过研究人员对相关文献的检索、计算和分析,并请学科专家鉴定,《中草药》杂志被确定为中国医学类的核心期刊,并被编入《中文核心期刊要目总览》2000年版(第三版)。

(聂荣海)