

1)为流动相,黄芩苷保留时间为 5 min左右,样品中黄芩苷的分离效果好。

3.3 黄芩提取物的主要活性成分为黄芩苷,我们将原地方标准中的紫外分光光度法测定改为用高效液

相色谱法测定,操作简便、准确,分析快速,相对误差小,重现性好,使原有标准得到提高。该法可作为黄芩提取物的质量控制手段。

HPLC法测定红花中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的含量

刘红亚,黄志芳,罗泽渊

(四川省中药研究所,四川 成都 610041)

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)08-0707-02

红花 *Carthamus tinctorius* L. 为菊科 1年生草本植物红花的干燥花,是一种常用的活血化瘀药,具有活血通络,祛瘀止痛之功效。从红花中分离得到的 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷^[1],经药效学试验证明,具有抑制血小板聚集,对抗去甲肾上腺素引起的血管平滑肌收缩等作用。本文用 RP-HPLC测定了红花中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的含量。方法简便,快速,灵敏,为控制红花药材的质量,提供了一个良好的方法。

1 仪器和药品

HP 1100型高效液相色谱仪 Chemstation 工作站;对照品 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷由红花中分离提纯得到(自制),HPLC 归一法测定其纯度高于 98%。所用试剂均为色谱纯。

样品红花由本所舒光明教授鉴定。

2 方法

2.1 色谱条件: 色谱柱: phenomenex (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (13.5: 86.5, pH= 2.2);流速: 1.5 mL/min;检测波长: 342 nm,柱温 25℃,见图 1。

2.2 检测波长的选择: 配制 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的对照品(甲醇)溶液,用岛津 UV2401 型分光光度计进行扫描,在 254, 342 nm 处有最大吸收,选择 342 nm 波长进行含量测定。

2.3 测定方法: 取干燥红花样品粉碎过 40目筛,精密称取 0.3 g,置 10 mL 具塞试管中,准确加入 60% 乙醇 10 mL,超声处理 30 min^[2],离心 (5 000

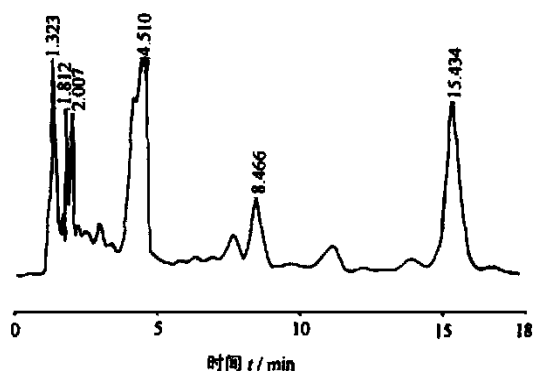


图 1 分离图谱

r/min) 5 min,吸取上清液 10 μL 直接进样,按上述测定条件进行测定,以外标法计算含量。

2.4 线性范围: 精密称取对照品适量,加甲醇配制成 0.1 mg/mL 的溶液。分别吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件,测定峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程: $Y = 1303.9X - 12.14$, $r = 0.9998$ 说明 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷在 0.2~1.0 μg 的范围内有良好的线性关系。

2.5 稳定性: 对照品溶液 (0.132 μg/μL) 5 μL 进样,按色谱条件进行分离、测定,每隔一定时间测定 1 次,结果在 24 h 内均稳定, $RSD = 0.70\%$ 。

2.6 精密度的试验: 取对照品溶液 (0.132 μg/μL) 5 μL 进样,按色谱条件进行分离、测定,重复操作 5 次, $RSD = 1.62\%$,说明本方法精密度良好。

2.7 重复性试验: 精密称取同批红花药材样品 5 份,每份约 300 mg,按前述供试品溶液制备方法及

收稿日期: 2000-11-19

作者简介: 刘红亚 (1963-),重庆市人,助理研究员。1983年毕业于重庆药剂学校,在四川省中药研究所从事植物化学分析工作,1990年毕业于中国药科大学药学专业。曾参加国家自然科学基金课题——天然甜味剂研究;博士基金课题——决明降脂胶囊的研究;国家“九·五”攻关课题——红花质量标准规范化研究。Tel 028-7853187

色谱条件进行含量测定, $RSD=1.53\%$ 。

2.8 回收率试验: 准确称取新疆红花粉末 7 份, 4 份中分别加入 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷对照品溶液 (0.132 mg/mL) 1, 2, 3, 4 mL, 另 3 份不加, 然后加入 50% 乙醇至 10 mL, 依法提取, 分离, 测定, 计算回收率, 结果为 97.2%, $RSD=2.0\%$ 。

2.9 样品测定: 用本法对 9 个不同产地红花中的 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷进行了含量测定, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 本法分析样品不需柱前处理, 直接进样, 杂质峰与样品峰能达到基线分离 (见图 1)。

3.2 经试验溶剂系统因乙腈-0.15% 磷酸水溶液 (13.5: 86.5) 红花样品中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷分离效果明显。

3.3 不同产地红花成分含量差异较大, 说明红花在

采收、加工、贮藏等方面对其质量有明显影响, 值得引起注意。

表 1 红花中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷含量测定 ($n=3$)

产地	含量 (%)	RSD (%)
新疆阜康市	0.13	0.77
新疆吉木萨尔县	0.106	0.94
云南下关	0.117	0.85
山西	0.029	1.90
四川简阳	0.081	1.43
河南	0.076	1.51
湖南	0.091	1.27
武汉	0.061	1.89
陕西	0.128	0.45

参考文献:

[1] Hattori M, Huang X L, Che Q M. 6-Hydroxykaempferol and its glycosides from *Carthamus tinctorius* petals [J]. *Phytochem*, 1992, 31: 4001-4004.

[2] 余红. 红花中总黄酮含量的库仑滴定法测定 [J]. *分析化学*, 1997, 25(2): 371.

封闭连续柱层析装置的研制

易求实
(湖北教育学院, 湖北 武汉 430060)

中图分类号: TQ028 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)08-0708-02

柱层析是复杂组分分离提纯的非常有效的手段。使用通常的柱层析装置, 溶剂挥发扩散、环境污染。本文介绍的封闭连续柱层析装置洗脱液处于基本封闭的循环利用状态, 易于实现自动控制。此外, 还将洗脱和产品浓缩结晶两道工序结合起来, 缩短了生产周期, 洗脱液的用量可显著减少。

1 装置主要部件和作用

1.1 集热式磁力搅拌器: 由 DF-101B 集热式恒温磁力搅拌器改装而成, 内装液体石蜡, 工作温度用电接点温度计自动控制。装置见图 1。

1.2 层析柱: 由层析主体柱, 洗脱液蒸气通道管, 洗脱液流出控制管组成, 工作时, 以干法或湿法装柱, 硅胶层上部装有适量拌有待分离样品的硅胶, 最上面铺一层脱脂棉, 并注意略低于蒸气通道出口。流出控制管有 3 个作用, 第一, 通过旋转活塞 5 和 6 以控

制溶液速度从而控制层析速度, 第二, 通过取样孔 7 取样检测, 实现对分离效果的监控, 第三, 必要时可用一个能与活塞 4 的母磨口磨合的分液漏斗在不改变体系负压的情况下补充洗脱液。

1.3 回流冷凝管: 洗脱液蒸气在这里冷凝回流, 由上端接一与之磨合的弯头经耐负压橡皮管与射流真空泵相连。冷凝回流效果关系重大, 因此不能使用温度较高的水泵循环水, 在良好的冷凝条件下, 蒸气泄漏极少, 分别一次加液就能完成杂质淋洗或产品洗脱的任务。

1.4 真空负压装置: 由射流泵, 水泵及循环水箱组合而成。水泵抽取循环水箱中的水加压注入射流泵, 使柱系统形成负压, 射流泵流出的水复流入循环水箱。通过控制水流速度来控制系统真空度, 进而使洗脱液在规定的温度下沸腾。

收稿日期: 2000-12-28
作者简介: 易求实 (1943-), 男, 湖南长沙人, 副教授, 长期从事复杂物质分离提纯和精细化学品制备研究。发表论文 30 多篇, 国家专利 2 项, 出版专著 2 部, 近几年来, 着重在天然药物有效成分提取方面进行探索。Tel (027) 88852529 E-mail Qsy@hubce.edu.cn