

碱性性质稳定,水溶性好,一般条件不易被破坏,是野罌粟全草的特有成分,可作为野罌粟药材的检测指标,根据实验结果计算,野罌粟全草中野罌粟碱含量的限量不应低于 0.03%。

References

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1977.

[2] Zhang Y J, Yu Y F, Kang S W. Studies on the chemical constituents of capsule of *Wild Poppy (Papaver nudicaule)* (I) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (1): 7-8.

不同来源桑白皮东莨菪内酯含量测定

孙静芸,周羽琪,李洪玉,章建民*
(浙江省中医药研究院,浙江 杭州 310007)

摘要:目的 研究不同来源桑白皮东莨菪内酯含量和测定方法。方法 采用 HPLC法,以 MeOH-H₂O-HAc (40∶60∶0.25)为流动相,345 nm为检测波长。结果 东莨菪内酯平均回收率为 98.88%,RSD为 1.91%,线性范围为 0.025 6~0.128 μg,不同来源最高含量为 0.017 3%,最低含量为 0.002%。结论 HPLC测定法简便、稳定可靠,重复性好,灵敏度高。
关键词: 桑白皮;东莨菪内酯;HPLC;含量测定
中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)03-0266-03

Determination of scopoletin in *Cortex Mori* from different sources

SUN Jing-yun, ZHO U Yu-qi, LI Hong-yu, ZHAN G Jian-min
(Zhejiang Academy of TCM, Hangzhou 310007, China)

Abstract **Object** To study the contents and the determinating method of scopoletin in *Cortex Mori* from different sources. **Methods** Scopoletin was determined by HPLC. The mobile phase was MeOH-H₂O-HAc (40∶60∶0.25). Detection wavelength was at 354 nm. **Results** The average recovery was 98.88% with RSD= 1.9% and the linear range was 0.025 6~0.128 μg. The highest content of scopoletin was 0.017 3% and the lowest content was 0.002% from different producing areas. **Conclusion** The method is easy, accurate, reliable with good reproducibility and high sensitivity.
Key words *Cortex Mori*; scopoletin; HPLC; content determination

桑白皮为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥根皮。有关与泻肺平喘、利水消肿功效相吻合的活性成分研究文献未见报道。我们以平喘、利尿作用为指标,进行药理筛选,经分离、鉴定,其有效单体为东莨菪内酯(scopoletin),与文献一致^[1]。为测定该成分在不同来源桑白皮中的含量,进行了 HPLC 测定方法学的研究

1 实验部分

1.1 仪器与试剂:岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪;SPD-10AVP 紫外检测器;岛津 UV-265 型紫外分光光度仪;HS 色谱工作站;色谱柱 Shim-PackVP-ODS (150 mm×4.6 mm),甲醇(色谱

纯);重蒸水,东莨菪内酯对照品(自制经 XRD, MS, IR,¹HNMR 鉴定与文献一致^[1],经标定纯度为 99.37%),其余试剂均为分析纯。

1.2 样品:批号 A961111 (浙江昌化)、A970603 (湖北)、A980318 (四川成都)、B970600 (浙江嘉兴)、A970601 (浙江嘉兴)、B970301 (浙江桐乡炉头镇单桥村)、B970605 (浙江桐乡)、B970316 (山东泰安南李村)、B970405 (江西樟树店下乡)、B980203 (浙江诸凡),由高家鉴主任中药师鉴定均为桑科植物桑 *M. alba* L。

1.3 含量测定

1.3.1 色谱条件与系统适用性试验:用十八烷基硅

* 收稿日期: 2002-05-18
基金项目:“九五”国家重点科技攻关项目 (96-903-02-03)

烷键合硅胶为填充剂; MeOH-H₂O-HAc (40∶60∶0.25) 为流动相; 紫外检测波长 345 nm; 理论塔板数按东莨菪内酯峰计算, 应不低于 5 000

1.3.2 对照品溶液的制备: 精密称取东莨菪内酯 6.4 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释到刻度, 摇匀, 制得每毫升含东莨菪内酯 25.6 μ g, 作为对照品溶液

1.3.3 供试品溶液的制备: 取本品粉末 (过 3 号筛) 约 4 g (同时另取本品粉末测定水分), 精密称定, 置于 500 mL 具塞瓶中。精密加入 200 mL 30% 乙醇, 称定重量, 浸渍 24 h 后, 超声处理 (功率不少于 150 W, 频率不少于 12 kHz) 1 h, 放至室温后, 称定重量, 加 30% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 100 mL, 置蒸发皿中, 挥去乙醇, 残留液用氯仿萃取 5 次 (20, 20, 10, 10, 10 mL), 合并萃取液, 挥去氯仿, 残渣用甲醇溶解, 移入 5 mL 容量瓶中, 定容, 摇匀, 即得。

1.3.4 测定方法 精密吸取对照品溶液 2.5 μ L 与供试品溶液 10 μ L, 分别注入液相色谱仪, 测定, 计算, 即得

2 方法学考察

2.1 样品处理条件选择 桑白皮中东莨菪内酯提取率的主要影响因素为超声时间、乙醇浓度、溶媒量、浸渍时间, 采用 L₉(3⁴) 正交设计试验, 以东莨菪内酯荧光强度为评价指标, 试验结果表明, 桑白皮粉末用 50 倍 30% 乙醇浸 24 h 超声 1 h 为最佳提取条件。

2.2 检测波长的选择: 精密称定适量东莨菪内酯对照品, 加甲醇溶解, 制成浓度为 0.025 6 mg/mL, 用 UV-265 紫外-可见分光光度计扫描测定, 结果在 345 nm 处有最大吸收峰。

2.3 流动相及流速、进样量的选择: 曾采用流动相甲醇-水 (75∶25)、甲醇-水 (50∶50)、甲醇-水-醋酸 (30∶70∶0.2)、乙腈-水 (3∶7)、甲醇-水 (3∶7)、甲醇-水-乙腈 (22.6∶11.3∶66)、甲醇-水 (40∶60)、甲醇-水-乙腈-冰醋酸 (40∶50∶10∶0.25)、甲醇-水-乙腈 (40∶50∶10)、甲醇-乙腈-水 (24∶6∶10) 进行试验, 结果样品的分离情况均不理想。采用甲醇-水-冰醋酸 (40∶60∶0.25) 为流动相, 流速: 1.0 mL/min, 则样品分离较好。进样量 10 μ L, 其理论塔板数 5 024, 分离度 1.907。而进样量 20 μ L, 则理论塔板数 < 1 500, 分离度 < 1.5, 故进样量确定为 10 μ L。

2.4 对照品纯度测定: 精密称取东莨菪内酯对照品 2.7 mg, 加甲醇溶解, 制成浓度为 2.70 mg/mL, 采用以上 HPLC 条件进行测定, 进样量为 10 μ L。结果: 平均含量

为 (99.365 $\pm$ 0.12)% , RSD 为 0.12%。

2.5 标准曲线的绘制: 在上述色谱条件下, 分别取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μ L, 测得各峰面积。以东莨菪内酯进样量为横坐标 (*A*), 以峰面积 (*Y*) 为纵坐标, 计算得回归方程: $Y = 6.8328 \times 10^6 A + 8.6 \times 10^3$, 相关系数 $r = 0.9999$; 结果东莨菪内酯在 0.025 6~0.128 μ g 呈良好线性关系。

2.6 精密度试验: 取上述对照品溶液, 重复进样 7 次, 每次 12 μ L, 连续测定, 峰面积 RSD 为 1.46%。

2.7 重现性试验: 精密称取同一批号药材粉末约 2 g ($n = 5$), 照含量测定方法, RSD 为 0.46%。

2.8 稳定性试验: 精密称取东莨菪内酯对照品适量, 加甲醇溶解配制成浓度为 13.5 μ g/mL 的对照品溶液, 按上述方法间隔一定时间 (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6 h) 重复进样, 每次进样 12 μ L, 峰面积 RSD 为 3.69%, 表明在 6 h 内基本稳定。

2.9 回收率试验: 精密称取已知含量的桑白皮样品 ($n = 5$), 精密添加东莨菪内酯对照品, 按样品制备操作, 测定, 计算平均回收率为 (98.88 $\pm$ 1.89)% , RSD 为 1.91%。

2.10 不同来源桑白皮东莨菪内酯含量: 精密称取不同来源桑白皮粗粉 ($n = 2$), 照供试品溶液制备方法及色谱条件, 进行含量测定, 结果各批号含量 (%) A961111 (0.002 0), A970603 (0.002 4), A980318 (0.002 2), B970600 (0.017 1), A970601 (0.017 3), B970301 (0.017 1), B970605 (0.006 3), B970316 (0.012 6), B970405 (0.012 5), B980203 (0.010 7)。

3 讨论

3.1 样品选择: 由于桑白皮的来源复杂, 对正品 35 批和 6 个混淆品种样品均作了东莨菪内酯的含量测定, 根据含量摸清了市售、野生、产地收购、家种、混淆品种含量差异, 从中找出规律, 再选择具有代表性的 10 批样品进行含量测定。

3.2 根据 10 批 20 件样品测定结果, 不同产地桑白皮的东莨菪内酯含量不同, 最高含量为 0.017 3%, 最低含量为 0.002%。以浙江嘉兴、桐乡、诸暨产的桑白皮最佳。

3.3 曾对 35 批不同来源样品进行测试, 结果表明 HPLC 测定方法简便、稳定性好、灵敏度高, 最小测定值为百万分之一。

3.4 对同科、同属不同品种的蒙桑、华桑、鸡桑的根皮, 照正文供试品制备方法和色谱条件, 分别对其进行东莨菪内酯的含量测定, 发现其含量均小于 0.000 1%。

References

- [1] Lu M Y, Huang X F, Ma X H. Content determination of scopoletin in Dinggong Teng Injection and analysing of quality by TLC scanning [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18 (3): 158-160.
- [2] Zhang J L, He X F, Zhou Z H. HPLC determination of five constituents in plants of genus *Ligusticum Sinense* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31(8): 622-624.

紫丁香叶中丁香苦苷的 RP-HPLC 法测定

王艳宏,李永吉,王艳芝*,吕邵娃,杨志欣*
(黑龙江中医药大学药学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 建立紫丁香叶及其制剂的质量控制方法。方法 采用 RP-HPLC 法测定紫丁香叶中丁香苦苷的含量。色谱柱: Nova-Pak[®]C₁₈(3.9 mm×150 mm);流动相: 甲醇-水 (3: 7);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 221 nm;柱温: 25℃。结果 紫丁香叶中丁香苦苷的含量为 1.435 mg/g, RSD 为 1.24% (n=3)。结论 本法灵敏度高,重现性、稳定性好,测定迅速,结果准确。

关键词: RP-HPLC; 紫丁香; 丁香苦苷

中图分类号: R282.6 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)03-0268-02

Quantitative determination of syringopicroside in leaves of *Syringa oblata* by RP-HPLC

WANG Yan-hong, LI Yong-ji, WANG Yan-zhi, LU Shao-wa, YANG Zhi-xin

(College of Pharmacy, Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040, China)

Key words RP-HPLC; *Syringa oblata* Lindl.; syringopicroside

紫丁香叶为木樨科植物紫丁香 *Syringa oblata* Lindl. 的干燥叶。由于其抑菌谱广、抑菌力强,具有对抗细菌耐药性的特点,现已载入黑龙江省药品标准。活性物质基础主要为酚类: 3,4-二羟基苯乙醇、对羟基肉桂酸、3,4-二羟基苯甲酸、丁香苦苷等^[1]。20世纪80年代后未见紫丁香叶及其制剂的含量测定方法的报道。本研究采用 RP-HPLC 法首次建立了丁香苦苷的含量测定方法,从而为紫丁香叶及其制剂的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试药

HPLC 色谱仪: Waters 680-DAD 系统 丁香苦苷对照品 (自制,纯度 98.8%) 甲醇 (色谱纯),超纯水、乙醇、乙酸乙酯 (均为分析纯);紫丁香叶药材 (采自哈尔滨市郊的紫丁香叶。原植物经黑龙江中医药大学药教研室鉴定无误)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Nova-Pak[®]C₁₈ 3.9 mm×150 mm;流动相: 甲醇-水 (3: 7);流速: 1.0 mL/min;检

测波长 221 nm;柱温 25℃。色谱图见图 1

2.2 线性关系: 精密称取减压干燥至恒重的丁香苦苷对照品 5.0 mg, 加甲醇使溶解,定容至 25 mL。0.45 μm 微孔滤膜滤过。分别精密吸取 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL, 依次进样,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积 (Y) 为纵坐标,丁香苦苷的进样量 (X) 为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y = -3945.4 + 1766.531.4X$, $r = 0.9995$ (0.5~4.0 μg)

2.3 样品溶液的制备: 取 20 g 紫丁香叶粉 (60℃干燥至恒重),精密称定,加 200 mL 蒸馏水浸泡 30 min,沸水浴加热回流 2 次 (每次均 200 mL, 1 h),滤过,滤液合并,减压浓缩至 40 mL,调 70% 醇沉静置 24 h 后离心取上清液,减压回收乙醇至 30 mL,乙酸乙酯萃取 3 次 (30, 30, 30 mL),合并萃取液并回收至干,残渣加 50 mL 甲醇溶解,定容至 100 mL。0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.4 样品的测定: 精密吸取样品溶液 10 μL 进样,按上述色谱条件测定峰面积,以外标法计算含量,结果

* 收稿日期: 2002-05-30

基金项目: “十五”国家科技攻关项目 (2001AB701A07-15)

作者简介: 王艳宏 (1972-), 女, 黑龙江省人, 讲师, 1995-1998 年在黑龙江中医药大学攻读硕士学位, 毕业后一直在黑龙江中医药大学药学院从事教学和科研工作, 主要从事经皮给药及中药注射剂的研究。Tel (0451) 2193439(0) E-mail wrdx@sohu.com

* 2001 年考入沈阳药科大学攻读博士学位