

制备方法处理并进行测定,结果平均回收率为 96.82%, RSD=1.38% ($n=5$)。

2.9 样品分析:按确定方法对 3 批叶下珠样品进行测定,结果见表 1。

表 1 叶下珠槲皮素测定结果($n=5$)

Table 1 Determination of quercetin in *P. urinaria* ($n=5$)

样品批号	槲皮素含量/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	0.419	
2	0.420	3.65
3	0.417	

3 讨论

3.1 提取条件的选择:曾采用 70% 乙醇提取^[11], 酸水解后用醋酸乙酯萃取, 甲醇定容的方法, 结果槲皮素提取率低, 难分离; 后改用甲醇提取, 酸水解后直接定容的方法, 结果槲皮素提取率高且易于分离。

3.2 检测波长的选择:曾有人采用 254^[12], 360^[13], 370 nm^[14] 3 个波长测定槲皮素含量, 作者对 3 个波长进行了筛选。槲皮素在 254 nm 处有最大吸收, 但槲皮素出峰前的杂质吸收峰较大; 波长在 360 nm 处杂质吸收峰降到最低, 而槲皮素仍有较大吸收, 因而在确保分离度的情况下, 选择了吸收较大的波长 360 nm 进行测定。

3.3 流动相的选择:实验选用甲醇-0.4% 磷酸溶液作流动相。甲醇量增大, 可使出峰较好, 减少拖尾; 但量太大, 分离效果下降。流动相中加入一定量的磷酸, 可改善峰形和分离度, 在保证分离度的情况下应尽量减少磷酸的用量, 这样可以增加柱的稳定性和使用寿命。

3.4 柱温的选择:柱温对样品的出峰时间及分离效果有明显影响, 曾采用室温, 30, 40 的柱温, 结果柱温为 40 时出峰时间适宜且分离效果较好。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Gupta D R, Ahmed B. Nirurin: a new prenylated flavanone glycoside from *Phyllanthus niruri* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(6): 958.
- [3] Chen X H, Hu Y M, Liao Y Q. The protective effect of Chongqing *Phyllanthus urinaria* L. on CCl₄ damaged hepatocyte of rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1994, 10(4): 17-18.
- [4] Pettit G R. Structure of principal antineoplastic glycosides of *Phyllanthus accuminatus* Vahl [J]. *Can J Chem*, 1983, 61: 2630.
- [5] Salyanarayana P, New seco and hydroxy-lignans from *Phyllanthus niruri* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(4): 44.
- [6] Gleye J, Alkaloids from the leaves of *Phyllanthus discodeus* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51: 1113.
- [7] Pettit G R, Schaufelberger D E, Nieman R A, et al. Antineoplastic agents. 177 isolation and structure of phyllanthoslation [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53: 1406.
- [8] Zhang L Z, Guo Y J, Tu G Z, et al. Study on chemical constituents of *Phyllanthus urinaria* L. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(10): 615-616.
- [9] Niu X F, L J X, He L C, et al. Pharmaceutical developing of Shaanxi *Phyllanthus urinaria* L. Study on pharmacognosy [J]. *J Northwest Pharm* (西北药学杂志), 1995, 10(5): 203-206.
- [10] Liu S P, Chen S M, Zhu W D. Advance studies of biological activity of quercetin and its derivations [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(4): 182.
- [11] Li W F, Niu X F. Study on extraction process of *Phyllanthus urinaria* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(11): 819-820.
- [12] Hu Y Q, Wang Z J, Qian J R. Determination of quercetin in Changyanning Tablets by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(5): 283-284.
- [13] Xia Y Y, Jin W K, Chen Y T, et al. Determination of quercetin in Tatarian Aster (*Aster tataricus*) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(4): 207-208.
- [14] Qiao F Y, Shong A H, Liu C. Determination of quercetin in *Folium Rhododendri Daurici* by HPLC [J]. *Heilongjiang J Tradit Chin Med* (黑龙江医药), 1998, 11(2): 90-91.

分光光度法测定白花蛇舌草中的钛含量

陈悦娇*

(仲恺农业技术学院 食品科学系, 广东 广州 510225)

白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 系茜草科耳草属植物^[1], 广泛分布于亚热带地区。民间常用此草药内服治疗小儿疳疾、毒蛇咬伤、癌肿及肠道疾病。近年来临床上用于治疗多种恶性肿瘤^[2]。白花蛇

舌草对淋巴细胞具有明显地刺激作用, 而且能刺激巨噬细胞产生白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子, 说明其有明显的免疫增强作用^[3], 还能促进辐射损害的白细胞恢复^[4]。在微量元素定性和半定量分析结果

* 收稿日期: 2003-01-26

作者简介: 陈悦娇(1970-), 女, 广东潮阳人, 实验师, 在职硕士研究生, 主要从事食品化学与分析及保健食品研究开发工作。

Tel: 89003180 E-mail: cyuejiao@263.net

中发现 Fe, Mn, Mg, Al, Si, Ca, Ti 等 7 种元素。Ti 能刺激吞噬细胞, 使免疫能力增强, 与中医采用该药治疗癌症相一致^[5]。因此, 测出白花蛇舌草中钛的含量对其应用有着一定的指导意义。本试验用二安替比林甲烷分光光度法对白花蛇舌草中钛的测定作了研究, 精密性、稳定性、回收率试验均得到较满意的结果。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试剂: Bankmann 640 型紫外-可见分光光度计, 722 光栅分光光度计。试剂均为分析纯。

1.2 样品与标准品: 白花蛇舌草分别购自广州市药材公司、广东省中医院、清平药材市场和一般药店, 经鉴定为白花蛇舌草干燥全草。

钛标准液 (GSB G62014-90), 浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 介质为 10% 硫酸。用时配成 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准使用液。

2% 二安替比林甲烷溶液: 准确称取 2.0 g 二安替比林甲烷粉末, 用 1 mol/L 的盐酸溶液溶解并定容至 100 mL。

2 方法与结果

2.1 标准曲线制作: 准确移取 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的钛标准使用液 0, 2, 4, 6, 8, 10 mL (相当于含钛 0, 20, 40, 60, 80, 100 μg) 分别置于 50 mL 容量瓶中, 分别标记为 1, 2, 3, 4, 5, 6 号, 各加 1 mL 10% 盐酸, 20 mL 10% 抗坏血酸, 摇匀, 各加 2% 二安替比林甲烷 10 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀静置 30 min。取 4 号溶液在紫外-可见分光光度计上扫描, 结果在波长 383 nm 处有最大吸收峰, 故确定最佳波长为 383 nm。然后以 1 号溶液为空白, 在波长 383 nm 下分别测定各号溶液的吸光度。以钛为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 得标准曲线方程为 $Y = 0.00564X + 0.0001$, $r = 0.9987$, 线性范围为 0 ~ 100 μg 。

2.2 样品处理: 取白花蛇舌草干草剪成 3 ~ 5 mm 长, 准确称取 1 ~ 4 g, 置坩埚碳化后, 于高温电炉中 550 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧至完全灰化。取出冷却, 加几滴乙醇润湿, 加 2 g 氢氧化钠后于马弗炉中从低温升至 700 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 保持 10 min。取出冷却, 将坩埚置于烧杯中, 用约 30 mL 沸水浸取药块, 用 5% 盐酸洗净坩埚, 加浓盐酸 10 mL 于浸取液中, 低温蒸发至盐类析出。移至沸水浴上蒸干并保持 30 min, 使硅酸大部分脱水, 加浓盐酸 15 mL, 加盖煮沸 5 min。冷却后移入 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水洗净烧杯并稀释至刻度, 摇匀, 静置澄清。

准确移取澄清液 25 mL 于另一个容量瓶中, 加

10% 抗坏血酸至完全褪色。加 2% 二安替比林甲烷 5 mL, 用水稀至刻度, 摇匀, 静置 30 min, 于 383 nm 波长下测吸光度。

2.3 精密性试验: 准确移取钛标准使用液 6 mL 共 5 份, 按 2.1 项下方法处理, 分别测其吸光度, 得 $RSD = 2.76\%$ 。

2.4 稳定性试验: 标准液每一时间段分别测其吸光度, 3 天内 $RSD = 0.93\%$ 。

2.5 重现性试验: 准确称取同一批次的样品 5 份, 按 2.2 项下方法进行操作, 测得样品中钛的平均含量为 85.7 $\mu\text{g}/\text{g}$, $RSD = 1.49\%$ ($n = 5$)。

2.6 回收率试验: 准确称取药材公司样品约 3 g 共 3 份, 分别精密加入钛标准使用液 1.0, 2.0, 4.0 mL (相当于加入钛 10, 20, 40 μg), 按样品处理方法进行处理和测定, 用差减法求出钛的平均回收率为 97.3%, RSD 为 1.54%。

2.7 样品测定: 按 2.2 项下方法测定, 白花蛇舌草中钛含量的测定结果见表 1。

表 1 白花蛇舌草中钛的含量 ($n = 3$)

Table 1 Content of Ti in *H. diffusa* ($n = 3$)

样品	钛含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	$RSD/\%$
广州市药材公司	31.1	7.01
广东省中医院	86.2	1.26
清平药材市场	82.6	1.08
一般药店	30.9	2.46

3 讨论

3.1 方法的选择: 矿质元素的测定方法很多, 常用的有化学分析法、比色法及原子吸收分光光度法。此外, 极谱法、离子选择电极法、荧光法等, 但钛的测定方法常见于测定矿物、岩石中的钛含量。植物中钛含量的测定少见报道。本试验利用四价钛离子能与二安替比林甲烷生成黄色络合物的性质, 采用分光光度法比色测定。通过实验结果分析, 该法稳定性、精密性和回收率都符合要求。

3.2 排除样品中铁的影响: 白花蛇舌草经灰化后, 灰分呈红褐色, 表明样品铁含量较高。为了排除铁离子的影响, 在加入二安替比林甲烷之前要加入抗坏血酸还原三价铁离子, 直至溶液为无色透明。产地不同的白花蛇舌草, 铁含量也不同。在 4 个样品中, 购于省中医院与清平市场的样品中的铁含量较多, 灰化后样品出现较多的红褐色, 配成溶液颜色也较深, 需加抗坏血酸 2 ~ 3 mL 才能使溶液无色透明; 另 2 个样品 (购于药材公司与一般药店) 的铁含量较少, 溶液为很浅的黄绿色, 1 mL 抗坏血酸足以使溶液变

无色透明。

3.3 钛含量的差异: 本试验所用的样品来自几个不同的地方, 外观有差异, 钛含量也相差较大。4 个样品中除了广东省中医院的无结籽外, 其他 3 个样品都有结籽, 但广东省中医院的白花蛇舌草并没有因为无结籽而钛含量偏低, 可见, 钛的含量与有无结籽无关。含量差异可能与物种差异、产地气候、地理环境有关。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese Materia

Medica (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.

[2] Lu P, Dai Q H. Summarization on the chemical constituents of *Olednlandia diffusa* Willd [J]. *J Beijing Univ Technol* (北京工业大学学报), 2000, 26(3): 68-72.
[3] Lu W B. Quantitative determination of olearolic acid in *Oldenlandia diffusa* Willd by T.C.L-scanning [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12(11): 961-962.
[4] L H C, He J. Study on the chemical constituents of *Oldenlandia diffusa* Willd [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1996, 18(1): 34-37.
[5] Zhou J B. Analysis on the trace selenium of *Oldenlandia diffusa* Willd [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1990, 15(12): 36.

HPLC 测定几种杏仁中苦杏仁苷的含量

甄 攀*

(张家口医学院, 河北 张家口 075029)

杏仁为蔷薇科植物杏 *Prunus armeniaca* L. 或山杏 *P. armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥种子, 具有祛痰止咳、平喘、润肠等功效。主治外感咳嗽、喘满、喉痹、肠燥便秘等疾病。苦杏仁苷为其主要活性成分。苦杏仁苷遇水在苦杏仁苷酶作用下易酶解或在酸性条件下会分解成氢氰酸和苯甲醛。氢氰酸具有抑制中枢神经系统的作用, 过量时会出现中毒现象。因此, 了解不同品种、不同产地的杏仁中苦杏仁苷的含量具有一定意义。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪, HP HPLC (3D) 化学工作站。苦杏仁苷对照品由中国药品生物制品检定所提供。苦杏仁购于张家口医学院中医门诊部, 其他样品作者收集。甲醇为色谱纯试剂, 其他试剂均为分析纯试剂, 水为二次蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: YWG-C₁₈ (10 μm, 250 mm × 4.6 mm), 流动相为水-甲醇-乙腈(70 25 5); 流速为 0.6 mL/min, 柱温为 30℃, 检测波长为 225 nm。

2.2 色谱系统适用性: 在以上色谱条件下检测, 苦杏仁苷色谱峰的保留时间为 9.155 min。以苦杏仁苷峰计算理论塔板数为 8 916 片/m, 拖尾因子为 1.04, 与其前一组份的分离度为 1.30。

2.3 工作曲线的制备: 精密称取苦杏仁苷对照品

1.64 mg, 用甲醇溶解并稀释至 2.0 mL, 得 0.82 mg/mL 的对照品溶液。准确进样 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 μL。以峰面积 Y 对进样量 X 作图, 得工作曲线, 回归方程为 Y = 299.9X - 50.01, r = 0.998 9, 在 0.41 ~ 12.30 μg 成良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 用苦杏仁苷对照品溶液于一日内重复进样 10 次, 每次进样 10 μL, 记录峰面积, 计算日内精密度。用同一份溶液, 在相同的条件下连续 6 d 进样, 每日进样 5 次, 每次进样 10 μL, 记录峰面积, 计算日间精密度。日内和日间 RSD 分别为 1.48% 和 1.80%。

2.5 重现性试验: 称取蔚县产离核杏仁 5 份, 按上述方法提取和测定。每份进样 5 次, 每次进样 10 μL。苦杏仁苷的峰面积的 RSD 为 1.22%。

2.6 稳定性试验: 利用同一份蔚县产离核杏仁提取液于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48 h 测定, 每次进样 10 μL, 苦杏仁苷峰面积的 RSD 为 0.92%。说明杏仁提取液在 48 h 内稳定。

2.7 检测限和回收率: 检测限: 用苦杏仁苷对照品溶液逐渐稀释后进样。用峰高相当于 3 倍噪音标准差时对对照品的浓度表示。经测定, 最低检测限为 1.25 μg/mL。

回收率: 向已知苦杏仁苷含量的样品中加入苦杏仁苷对照品, 按上述方法提取和测定, 计算得平均

* 收稿日期: 2003-03-18

作者简介: 甄 攀(1965-), 女, 河北曲阳人, 副教授, 硕士, 1988 年毕业于河北大学化学系, 2000 年取得硕士学位, 主要从事天然药物活性成分研究。 Tel: (0313) 8041654