

表 3 不同树龄忍冬不同采收时间花蕾的绿原酸含量

Table 3 Contents of chlorogenic acid of flower bud of *L. japonica* in different harvest time at different tree ages

树龄/年	不同时间绿原酸含量/%									
	05-12	05-14	05-16	05-19	05-21	06-21	06-23	06-24	06-27	06-29
3	5.296	5.356	5.788	6.094	4.382	5.774	5.514	6.042	6.118	6.214
6	5.300	5.982	6.066	6.074	4.196	5.826	5.540	5.884	6.246	6.162
9	4.994	5.724	5.900	5.542	6.220	5.776	6.110	6.876	5.150	6.346
15	7.328	6.176	6.392	5.774	7.002	8.058	7.024	6.732	6.840	7.180
22	5.364	5.680	6.050	6.346	6.220	4.484	6.054	5.682	6.578	6.480

产、高效益,对种植 20 年以上的忍冬,要有计划更新植株。

3 讨论

3.1 不同树龄忍冬,萌发新枝能力与开花情况不同,其质量变异较大。而每茬花质量相对稳定,在 GAP 基地建设中,对不同树龄植株要分类管理,对 20 年以上忍冬,要有计划更新植株。本研究对人工栽培多年生药材的研究与管理具有指导意义。

3.2 忍冬是多年生植物,长期受多种因素影响,年际间环境因子的时空分布不同,同样影响药材的质

量,需进行长期定位观测实验。有关器官建成、内含成分的积累动态、次生物质代谢规律尚待进一步研究。

References

- [1] Zhang E H. The differentiation and development of flower bud in whole plant of *Flos Lonicerae* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1987, 19(1): 8-12.
- [2] Zeng Y R, Tong Z K, Zhu Y Q. Study on the relationship between tree age and bark quality in *Magnolia officinalis* [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 1999, 22(8): 379-381.
- [3] Ma A L, Ma Q, Gao J M, et al. Studies on bioactivities of chlorogenic acid and its analogues [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(2): 173-175.

HPLC 测定龙血竭中对羟基苯甲酸乙酯的含量

张庆云, 崔兰贵, 胡迎庆*

(中国人民武装警察部队医学院, 天津 300162)

摘要: 目的 建立测定龙血竭中对羟基苯甲酸乙酯含量的方法。方法 以 C_{18} 反相键合硅胶为固定相, 乙腈-1% 冰醋酸 (31:69) 为流动相, 检测波长为 257 nm, 用外标法定量。结果 对羟基苯甲酸乙酯在 0.206~2.884 ng 有良好线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 96.02%, RSD 为 1.87%。结论 本方法是测定龙血竭中对羟基苯甲酸乙酯含量的快速、简便、准确可靠的定量方法。

关键词: HPLC; 龙血竭; 对羟基苯甲酸乙酯

中图分类号: R 282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)02-0197-03

HPLC determination of ethyl *p*-hydroxybenzoate in Dragon's Blood

ZHANG Qing-yun, CUILan-gui, HU Ying-qing

(Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract: **Object** To establish a HPLC method for determination of ethyl *p*-hydroxybenzoate in Dragon's Blood. **Methods** Using C_{18} reverse phase column and acetonitrile-1% acetic acid (31:69) as mobile phase, detecting at 257 nm and quantitating with external standard method. **Results** The standard curves of ethyl *p*-hydroxybenzoate showed good linearity over the range of 0.206—2.884 ng, $r=0.9998$. The average recovery was 96.02% and RSD was 1.87%. **Conclusion** The method is quick and simple, and it is accurate and reliable for the determination of ethyl *p*-hydroxybenzoate in Dragon's Blood.

Key words: HPLC; Dragon's Blood; ethyl *p*-hydroxybenzoate

收稿日期: 2003-05-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070088)

作者简介: 张庆云(1968—), 女, 山西绛县人, 硕士, 讲师, 主要从事药物化学的研究。Tel: (022) 60578048

1999 年国家药品监督管理局颁布的国家标准中收载了一类新药材“龙血竭”——剑叶龙血树 *D. racaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 树脂的乙醇提取物^[1]。血竭为名贵中药材之一,含多种黄酮类、皂苷类、甾醇类、萜类、鞣类和其他化合物,具有活血散瘀、消炎止痛、收敛止血、生肌敛疮、补血益气等功效;药理研究显示其具有抗细菌、真菌和其他微生物、抗氧化作用、止血、活血、雌激素样等作用^[2]。对羟基苯甲酸乙酯为龙血竭中抗细菌、真菌和其他微生物的主要成分之一,在测定龙血竭中主要有效成分龙血素 A、B 和紫檀^[3]后,首次建立了龙血竭中对羟基苯甲酸乙酯的含量测定方法。

1 仪器与药品

1.1 仪器:日本岛津 UV-1601 紫外分光光度仪;日本岛津 LC-10A T 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测仪, C-R8A 记录仪, CTO-10A S 柱箱。Gillson 微量移液器(法国)。

1.2 药品:东龙牌血竭(中国医学科学院版纳华胜制药厂生产,批号 960515);芒果牌广西血竭(广西中医学院药厂生产,批号 990505);大观牌血竭(昆明大观制药厂,批号 20001017);对羟基苯甲酸乙酯对照品(自制,归一化法含量 > 98.5%);乙腈(色谱纯,特级品,天津市康科得科技有限公司,批号 010405),冰醋酸(分析纯,天津市化学试剂一厂)。

2 方法

2.1 对照品溶液的制备:精密称取 60 °C 干燥恒重的对羟基苯甲酸乙酯 10.3 mg,置 100 mL 容量瓶中,甲醇超声溶解定容,摇匀,作为对照品储备溶液(浓度为 0.103 mg/mL)。

2.2 供试品溶液的制备:精密称取 10 mg 血竭样品于 1 mL 量瓶中,甲醇超声溶解定容,在以羧甲基纤维素为黏合剂的硅胶 G_{F254} 薄层板(10 cm × 10 cm)上,于左边距 1 cm,底边距、右边距 2 cm 处呈条状点样,于右边距 1 cm 处点 5 μL 对照品溶液,以石油醚-醋酸乙酯(5:1)为展开剂展开,置紫外灯(254 nm)下观察荧光,并与对照品斑点对照,标记供试品与对照品相应位置的色斑。按标记刮取色斑,于 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,用 0.5 μm 滤膜滤过,作为供试品溶液。

2.3 色谱条件:色谱柱 Phenomenex C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),北京先明乐施科技发展有限公司;流动相:乙腈-1% 冰醋酸(31:69);流速为 1 mL/min;检测波长为 257 nm;灵敏度:0.02 AUFS;柱温:40 °C;上述色谱条件下,对羟基苯甲酸乙酯的保

留时间为 16 min 左右;柱效以对羟基苯甲酸乙酯计算,理论塔板数为 4 100。

3 结果

3.1 线性关系:将对羟基苯甲酸乙酯对照品储备溶液分别配置成浓度为 0.010 3, 0.020 6, 0.041 2, 0.061 8, 0.103 0 和 0.144 2 μg/mL 的对照品溶液,经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,在上述色谱条件下,进样 20 μL,记录色谱图,进样量(X)与峰面积(Y)的回归方程为: $Y = 20\,143 X + 3\,028.6$; $r = 0.999\,8$;线性范围为 0.206~2.884 ng。

3.2 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液,重复进样 5 次,每次 20 μL,以对羟基苯甲酸乙酯的峰面积计, RSD 为 1.34%。

3.3 重复性试验:“东龙”牌(批号 960515)取 5 份,分别按 2.2 项下操作测定,结果对羟基苯甲酸乙酯含量的 RSD 为 1.83%。

3.4 稳定性试验:供试品溶液每隔 24 h 测 1 次,共测 4 次样品稳定,对羟基苯甲酸乙酯峰面积的 RSD 为 1.5%。

3.5 加样回收率试验:取已测含量的“大观”牌血竭 5 mg,精密加入浓度为 0.020 6 μg/mL 的对羟基苯甲酸乙酯对照品溶液 1 mL,按样品测定方法测定,对羟基苯甲酸乙酯回收率在 94.82%~98.98%,平均回收率为 96.02%, RSD 为 1.87% ($n = 5$)。

3.6 样品测定:精密吸取经微孔滤膜(0.45 μm)滤过后的样品溶液 20 μL,在上述色谱条件下进行分析,以外标法计算样品中对羟基苯甲酸乙酯含量,结果见表 1。

表 1 样品中对羟基苯甲酸乙酯的含量测定结果 ($n = 3$)

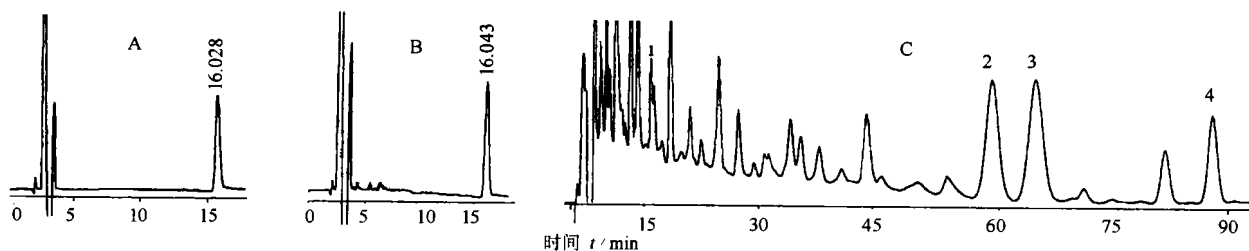
Table 1 Determination of ethyl p-hydroxybenzoate in samples ($n = 3$)

样品来源及批号	对羟基苯甲酸乙酯含量/(ng · mg ⁻¹)	RSD/%
“东龙”牌(960515)	3.92	1.34
“芒果”牌(990505)	4.53	1.30
“大观”牌(20001017)	5.15	1.44

4 讨论

本实验首次建立龙血竭中对羟基苯甲酸乙酯的含量测定方法(图 1-A, B),本方法快速、简便,具有良好的精密度、稳定性和重复性。

对羟基苯甲酸乙酯为龙血竭中具有抗菌活性作用的化合物之一,对龙血竭化学成分含量测定^[3,4]的研究中得知,龙血竭中的化学成分主要为黄酮类化合物,大多为苷元,极性小,在对羟基苯甲酸乙酯的正相薄层色谱条件中,对羟基苯甲酸乙酯的 R_f 值大于龙血素 A、B,并有良好的分离;其反相薄层色



A-对照品 B-样品 C-“大观”牌血竭 1-对羟基苯甲酸乙酯 2-龙血素A 3-龙血素B 4-紫檀

A-reference standards B-sample C-“Daguan”Dragon's Blood 1-ethyl-p-hydroxybenzoate 2-loureirin A 3-loureirin B 4-pterostilben

图1 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms

谱条件中对羟基苯甲酸乙酯 R_f 值也大于龙血素A、B, 但与黄酮类化合物相近不易分离; 若使用本实验中 HPLC 条件测定未经前处理的龙血竭样品进行时, 则测定对羟基苯甲酸乙酯时所有样品峰全部检出约需 90 min (图 1-C), 分析时间过长, 不适合样品快速分析, 因此, 在进行 HPLC 法分析前, 对样品进行薄层色谱分离的预处理, 既可使对羟基苯甲酸乙酯与黄酮类和紫檀 化合物分离, 又可以减少样品测定时间, 同时也减少各种杂质对色谱柱污染,

延长色谱柱的使用寿命。

References:

- [1] National drug Standards by the State Administration (国家药品监督管理局标准). WS-082(Z-016)-99(Z).
- [2] Hu Y Q, Gong B, Tu P F. Studies on the chemical constituents and activity in the plants of *Dracaena* [J]. *World Phytoed* (国外医药·植物药分册), 2000, 15(1): 5-8.
- [3] Hu Y Q, Li L Z, Han H W. HPLC determination of loureirin A and B in Dragon's Blood [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(1): 7-8.
- [4] Hu Y Q, Zong N, Li D L. RP-HPLC studies on quantitative determination of pterostilben in Dragon's Blood [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22(6): 428-430.

杜仲原生皮与再生皮次生代谢物含量分析

董娟娥¹, 赵德义¹, 张康健¹, 王 邈^{2*}

(1. 西北农林科技大学林学院 陕西省经济植物资源开发利用重点实验室, 陕西 杨凌 712100;

2. 咸阳市秦都区农林局, 陕西 咸阳 712000)

摘要: 目的 探讨杜仲原生皮与再生皮的次生代谢物含量的差异性。方法 利用游标卡尺测量 17 龄杜仲树的原生皮与再生皮的厚度, 采用分光光度法测定桃叶珊瑚苷和总黄酮含量, 采用高效液相色谱法测定绿原酸含量。结果 杜仲原生皮和再生皮的皮厚分别为 1.646 和 1.631 mm; 原生皮中绿原酸、桃叶珊瑚苷和总黄酮的含量分别为 0.402%, 0.781% 和 0.484%, 再生皮中绿原酸、桃叶珊瑚苷和总黄酮的含量分别为 0.436%, 0.849% 和 0.516%。

结论 原生皮与再生皮的厚度基本相同; 原生皮与再生皮的次生代谢物含量无显著差异。

关键词: 杜仲; 原生皮; 再生皮; 次生代谢物含量

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)02-0199-03

Analysis of secondary metabolite contents in original and reborn bark of *Eucommia ulmoides*

DONG Juan-e¹, ZHAO De-yi¹, ZHANG Kang-jian¹, WANG Miao²

(1. The Key Laboratory of Exploration and Utilization of Economic Plant Resources in Shaanxi Province, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 2 The Agriculture and Forestry Bureau of Qindu District of Xianyang, Xianyang 712000, China)

Abstract: **Object** To investigate the content differences of secondary metabolites between *Eucommia ulmoides* original and reborn barks. **Methods** To measure the thickness of 17-years bark by vernier caliper, determine aucubin and flavonoids by spectrophotometer, and chlorogenic acid by HPLC. **Results**

* 收稿日期: 2003-04-16

基金项目: 陕西省重大科技项目 97K04-G2

作者简介: 董娟娥(1968—), 女, 陕西人, 讲师, 在读博士, 主要从事天然产物提取的研究和教学工作。Tel: (029) 7082592