表 3 其他苯乙醇苷类成分的峰面积对比

Table 3 Comparison of peak area for other phenylethanoid glycosides

名称	Poliumoside	管花肉苁蓉苷 B	肉苁蓉苷 C	肉苁蓉苷 D	异洋丁香酚苷	盐生肉苁蓉苷 A
酒苁蓉	0.0	1 649.4	21.7	482.3	62.1	69.2
苁蓉片	0.0	59.7	3.2	25.3	4.2	1.2
野生盐生肉苁蓉	32.5	635.1	88.4	528.5	37.1	57.3
盐生肉苁蓉培养细胞	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

以盐生肉苁蓉培养细胞内所含各物质的峰面积为 100%，其他样品为相对值

Taking area of substances of cultured *Salsa* cells as 100%, and value of others is relative

倍。其中松果菊苷质量分数为 63.0 mg/g，是酒苁蓉的 8.4 倍，野生盐生肉苁蓉的 1.1 倍；洋丁香酚苷质量分数为 32.2 mg/g，是酒苁蓉的 26.8 倍，野生盐生肉苁蓉的 6.0 倍；而 2′-乙酰基洋丁香酚苷质量分数仅为 0.5 mg/g，低于酒苁蓉和野生盐生肉苁蓉。Poliumoside、肉苁蓉苷 C、异洋丁香酚苷和盐生肉苁蓉 A 在盐生肉苁蓉愈伤组织细胞中含量较高，而管花肉苁蓉苷 B 在酒苁蓉中含量较高，肉苁蓉苷 D 在天然盐生肉苁蓉中含量较高。

上述结果表明，盐生肉苁蓉培养细胞中所含主要成分和野生盐生肉苁蓉基本相似，只是含量不同，从整体上看，盐生肉苁蓉培养细胞中所含成分种类较多，且大部分含量较高。考虑到类叶升麻苷和松果菊苷为肉苁蓉中主要的苯乙醇苷类活性成分，而这两种物质在细胞中的含量均高于天然肉苁蓉，因此可以利用植物细胞培养的方式，大量生产盐生肉苁蓉细胞，然后从中提取苯乙醇苷类活性成分，作为天然肉苁蓉的替代品。

References:

[1] Zhu Y H, Luo Z M. Study progress and prospect analysis of *Cistanche salsa* (C. A. Mey.) [J]. *J Hunan Fores Sci Technol* (湖南林业科技), 2000, 27(4): 19-22.

[2] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Study of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Vol 2. Beijing: Xueyuan Press 1997.

[3] Jin X L, Zhang Q R. Recent progress in the study on chemical constituents of *Herba Cistanche* [J]. *China J Chin Meter Med* (中国中药杂志), 1994, 19(11): 695-697.

[4] Tu P F, Chu S W, Zhang Z G, *et al*. Analysis of phenylethanoid glycosides of *Herba Cistanche* by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1997, 32(4): 294-300.

[5] Tu P F, He Y P, Lou Z C. A survey on the origin and resource protection of *Cistanche* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(4): 205-208.

[6] Tu P F. *Develop the Industrial of Herba Cistanche Tubulosae, Advance the Economy Development and Environment Controlling of Hetian* (发展管花肉苁蓉产业，促进和田地区经济发展与环境治理) [C]. Urumqi: Chinese Pharmaceutical Association, 2002.

[7] Li J Z. *Resources Protection and Investigation for Cistanche Plants in Xinjiang* (新疆肉苁蓉属植物的资源调查与资源保护) [C]. Urumqi: Chinese Pharmaceutical Association, 2002.

[8] Guo Z G, Yu J M, Liu R Z, *et al*. Studies on culture of *Cistanche salsa* callus and synthesis of phenylethanoid glycosides [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(2): 204-207.

RP-HPLC 法测定五味子中原儿茶酸的含量

许育海[1]，晁若冰*

(四川大学华西药学院，四川 成都 610041)

五味子是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实，习称“北五味子”，是一种常用中药，其味酸，性甘、温，归肺、心、肾经，作用收敛固涩，益气生津，补肾宁心[1]。五味子药材主要含有挥发性成分、木脂素类及酸性成分。关于五味子成分含量测定的文献报道较多，主要集中于其木质素类成分[1]和挥发性成分[2]。有文献报道，五味子中含有的原儿茶酸，能降低心肌耗氧量，拮抗肾上腺素所致的耗氧量增加，提高心肌耐氧能力，减慢心律，改善缺血中心区的乳酸和 K^+ 的产生，显著缩小心肌梗死范围[3]。五味子及其制剂中原儿茶酸的含量测定尚未见文献报道。本实验建立了 HPLC 法测定五味子药材中原儿茶酸的含量，结果表明，该方法简便、准确，可以用于五味子药材中原儿茶酸含量的测定。

1 仪器与试药

日本岛津 LC—6A 高效液相色谱仪，SPD—6AV 紫外-可见检测器，岛津 C—R4A 色谱数据处

* 收稿日期：2003-10-05

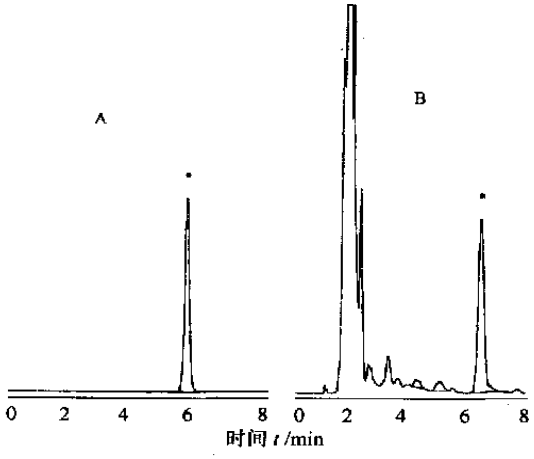
作者简介：许育海(1976—)，男，陕西蒲城人，现为四川大学华西药学院 2001 级硕士研究生，研究方向为药品质量的评价与控制。

* 通讯作者 Tel: (028) 85501454 Fax: (028) 85501454 E-mail: chaorb@163.net

理机; Luna 5 μ C_{18} (2) 色谱柱 (150 mm × 4.60 mm, 5 μm); 水为超纯水, 乙腈为色谱纯; 原儿茶酸 (化学纯, 成都市科龙化工试剂厂); 原儿茶酸鉴别用对照品 (中国药品生物制品检定所, 809-9201); 乙醇、醋酸铵、冰醋酸均为分析纯, 辽宁、河北、吉林、韩国产五味子药材购自成都五块石中药批发市场, 五味子 020801、011001、021101 由雅安三九药业有限公司提供, 以上药材经四川大学华西药学院生药教研室王天志教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Luna C_{18} (2) 色谱柱 (150 mm × 4.60 mm, 5 μm); 检测波长: 258 nm; 流动相: 乙腈-5 mmol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸 (6∶94∶1); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 ℃, 色谱图见图 1。



* -原儿茶酸

* -protocatechuic acid

图 1 原儿茶酸对照品 (A) 和五味子药材样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of protocatechuic acid (A) and S. chinensis sample (B)

2.2 原儿茶酸对照品的制备: 由于目前尚无含量测定用原儿茶酸对照品, 用市售化学纯的原儿茶酸经重结晶制得对照品, 测得原儿茶酸对照品的熔点为 201 ℃～203 ℃, 和文献值 (200 ℃～202 ℃)[4] 基本一致; 其红外光谱和鉴别用原儿茶酸对照品的红外光谱一致; 用 HPLC 法进行有关物质检查, 未检出其他杂质; 用酸碱滴定法测定纯度为 99.8%, 符合作为含量测定用对照品的要求。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取原儿茶酸对照品约 5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 溶解并稀释至刻度, 精密量取 5～50 mL 量瓶中, 用 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 稀释至刻度, 即得 10 μg/mL 原儿茶酸对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备: 将五味子药材粉碎, 过 3 号筛, 精密称取药材粉末约 0.5 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 25 mL, 密塞, 放置 1 h, 超声提取 20 min, 放冷至室温, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液备用。

2.5 色谱系统适用性试验: 按上述样品制备方法和色谱条件进行分析, 以原儿茶酸峰计算, 测得理论板数为 7 400, 原儿茶酸和前后色谱峰达到基线分离, 原儿茶酸峰的拖尾因子为 1.12, 峰形基本对称。

2.6 方法学考察

2.6.1 线性范围: 精密称取原儿茶酸对照品适量, 用 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 溶解并配成原儿茶酸对照品溶液 A (99.0 μg/mL) 和对照品溶液 B (9.90 μg/mL), 分别精密吸取对照品溶液 A 2、5、10 μL 和对照品溶液 B 2、5、10 μL 进样, 以峰面积 (A) 对原儿茶酸的进样量 (X) 进行线性回归, 回归方程为: $A = 1.507 \times 10^6 X - 1.233 \times 10^3$, $r = 0.9999$。结果表明, 原儿茶酸在 0.02～1.0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6.2 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 测定原儿茶酸的峰面积, 结果 RSD = 0.65%。

2.6.3 稳定性试验: 分别配制原儿茶酸对照品溶液 (9.90 μg/mL) 和供试品溶液 (生药 0.020 g/mL), 分别在 0、1、2、3 d 进样测定, 测得对照品溶液的平均峰面积为 1.495×10^5, RSD 为 0.43%, 供试品溶液中原儿茶酸的平均峰面积为 9.344×10^4, RSD 为 0.9% ($n = 4$)。结果表明, 对照品溶液和供试品溶液在 3 d 内稳定。

2.6.4 重现性试验: 精密称取五味子药材粉末约 0.5 g 6 份, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 按 2.4 项方法处理, 精密量取续滤液 10 μL 进样, 按外标法计算含量, 测得原儿茶酸质量分数为 0.235 mg/g, RSD 为 3.5%。

2.6.5 加样回收率试验: 精密称取已知含量的五味子药材粉末 0.25 g, 置 25 mL 量瓶中, 分别精密加入 5.09 μg/mL 原儿茶酸溶液 10、15、20 mL, 分别补充 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 10、5、0 mL, 放置 1 h, 超声提取 20 min, 放冷至室温, 用 50% 乙醇-冰醋酸 (100∶1) 溶液稀释至刻度, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 精密量取续滤液 10 μL 进样, 以外标法计算质量分数, 并计算加样回收率。平均回收率为 102.0%, RSD 为 2.3% ($n = 9$)。

2.6.6 耐用性试验: 分别采用 Luna C_{18} (2) 柱和岛

津 ODS 柱进行分析，原儿茶酸的保留时间基本一致，样品分离情况良好。

2.7 样品的测定：按 2.4 项制备供试品溶液，分别精密量取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL，注入液相色谱仪，用峰面积按外标法计算，几批市场上购得的五味子药材中原儿茶酸的含量结果见表 2。

表 1 五味子中原儿茶酸含量测定结果

Table 1 Protocatechuic acid in S. chinensis

产地	原儿茶酸/(mg·g⁻¹)	RSD/%
辽 宁-1	0.221	0.7
辽 宁-2	0.238	0.5
河 北	0.099	0.8
吉 林	0.130	3.6
020801	0.204	1.3
011001	0.398	1.7
021101	0.303	1.0
韩 国	0.276	0.2

3 讨论

3.1 分别采用甲醇-水-酸、乙腈-水-酸的流动相系统进行分析，发现乙腈-水-酸系统的分离效果较甲醇-水-酸好。在流动相中加入醋酸铵可使原儿茶酸保留时间缩短，并改善原儿茶酸和相邻组分的分离。用二级管阵列检测器检测，发现原儿茶酸在 224、258、295 nm 处均有最大吸收，其中 258 nm 处吸收最强，故选择 258 nm 为检测波长。

3.2 提取溶剂的选择：曾采用乙醇-水、水系统进行提取，发现水煎法比较费时费力，且和最终采用的乙醇-水超声提取的测定结果相比，结果偏低，故未采用水煎法。分别用 10%、30%、50% 乙醇作为提取溶剂，结果以 50% 乙醇为溶剂的测定结果最高，且 10%、30% 乙醇的提取物有大量的絮状物。故采用 50% 乙醇作为提取溶剂加入 1% 冰醋酸可以提高提取率。

3.3 提取条件的优化：对放置时间和超声提取时间等条件进行了优化，结果表明，放置 1 h 和放置 3 h 测定结果无明显差别，故选择放置 1 h。放置 1 h 后分别超声 20、30 min 后测定，结果基本一致，可以认为超声 20 min 已提取完全。

3.4 测定结果表明，从市场上购买及雅安三九药业有限公司提供的 8 个五味子样品中均含有原儿茶酸，原儿茶酸的质量分数在 0.1～0.4 mg/g。

3.5 华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 干燥果实习称“南五味子”，经测定，其中也含有原儿茶酸，采用本法测定了南五味子中原儿茶酸的含量，4 批南五味子药材中原儿茶酸的质量分数为 0.15～0.4 mg/g。本法也可以用于南五味子中原儿茶酸的含量测定。

3.6 生脉注射液中含有五味子，本法也可以用于生脉注射液中原儿茶酸的含量测定，人参和麦冬的成分不干扰原儿茶酸的测定。

References:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2000.

[2] Li X N, Cui H, Song Y Q, *et al*. Analysis of volatile fractions of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. using GC-MS and chemometric resolution [J]. *Phytochem Anal*, 2003, 14 (1): 23-33.

[3] Dai H F, Zhou J, Peng Z G. *et al*. Studies on the chemical constituents of *Schizandra chinensis* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 13(1): 24-26.

[4] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

HPLC 法测定秦皮中香豆素类成分的含量

刘丽梅[1]，李曼玲[2]，冯伟红[2]，陈 琳[1]，王瑞海[1]，吴 萍[1*]

(1. 中国中医研究院基础理论研究所，北京 100700；2. 中国中医研究院中药研究所，北京 100700)

秦皮为常用中药，《神农本草经》列为上品。《中华人民共和国药典》2000 年版一部规定秦皮为木犀科植物苦枥白蜡树 *Fraxinus rhynchophylla* Hance、白蜡树 *F. chinensis* Roxb.、尖叶白蜡树 *F. szaboana* Lingelsh. 或宿柱白蜡树 *F. stylosa* Lingelsh. 的干燥枝皮或干皮。本实验对苦枥白蜡树树皮进行了研究，从中分离到 5 种香豆素类成分，并进行了结构鉴定，它们是秦皮乙素(Ⅰ)、秦皮素(Ⅱ)、6, 7-二甲氧基-8-羟基香豆素(Ⅲ)、秦皮苷(Ⅳ)、秦皮甲素(Ⅴ)，化合物Ⅱ～Ⅳ为首次从该植物

* 收稿日期：2003-10-11
基金项目：国家重点科技攻关项目 (99-929-01-24-8)