

加入量分别为 292.01、194.67、97.34 μg , 混匀, 在相同色谱条件下测定橙花叔醇的体积分数, 计算回收率。CO₂ 提油平均回收率为 99.34%, RSD 值为 1.54% ($n=9$); 水提油平均回收率为 99.69%, RSD 值为 1.42% ($n=9$)。

2.9 含量测定: 分别精密量取供试品溶液及对照品溶液各 10 μL , 按上述色谱法进样, 按外标一点法以峰面积计算含量。结果见表 1。

表 1 降香挥发油中橙花叔醇的含量 ($n=3$)

Table 1 Nerolidol in volatile oil of *Lignum Dalbergia Odoriferae* ($n=3$)

降香挥发油	橙花叔醇/%	RSD/%
CO ₂ 提油	25.15	0.70
水提油	21.19	0.81

3 讨论

3.1 检测波长的确定: 取橙花叔醇适量, 用甲醇溶解并定容, 然后作紫外扫描, 得最大吸收波长为 212.8 nm, 取 213 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择: 本试验采用 C₁₈ 色谱柱, 对甲醇-水、甲醇-乙腈-水、乙腈-水等多种流动相按不同比例进行考察, 结果发现甲醇-水 (78:22) 溶液为流动相

时, 峰形对称, 分离度高, 被测组份保留时间适中。

3.4 购自 Sigma 公司的橙花叔醇对照品液是顺式和反式的混合溶液, 高效液相色谱图出峰时间分别是 15.683、17.367 min。降香挥发油中只有 17.367 min 的峰。文献报道有红外光谱和核磁共振光谱可确定挥发油中含反式橙花叔醇, 推测 17.367 min 的峰为反式橙花叔醇, 15.683 min 的峰为顺式橙花叔醇。此外, 顺式橙花叔醇由于存在空间位阻, 在色谱柱上保留时间短于反式橙花叔醇, 与上述推测相符。

3.5 本实验表明降香挥发油中橙花叔醇含量较高, 在 SFE-CO₂ 提取的挥发油中含 25.15%, 在水提挥发油中含 21.19%。

References

- [1] Zheng H Z, Dong Z, She J. *Modern Study of Traditional Chinese Medicine* (中药现代化研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1998.
- [2] Zhu L, Guo J X, Leng H W, et al. The influence of volatile oil of Jiang-xiang to the thrombus formation and the activity of thrombayte cAMP and plasma fibrinolysin [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14(4): 30.
- [3] Cai M, Zhao L H, Chen Y Y. Determination of Jiangxing in injection *Salvia Miltiorrhiza Composita* by GC [J]. *Strait Pharm J* (海峡药理学), 2002, 14(4): 47-48.

RP-HPLC 测定虎杖中白藜芦醇苷的含量

衣洪福, 陈万生, 张汉明*

(第二军医大学药学院, 上海 200433)

虎杖系蓼科蓼属植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的根茎和根, 采挖时间在春秋两季。虎杖异名(《尔雅》), 入药始见于《雷公炮制论》, 传统上用于瘀诸症, 可活血散瘀, 祛风通络, 清热利湿, 解毒。根据《中华本草》记载: 虎杖“主治妇女闭经, 产后恶露不下, 症瘕积聚, 跌扑损伤, 风湿痹痛, 湿热黄疸, 淋浊带下, 疮疡肿毒, 毒蛇咬伤, 火烫伤”。虎杖根和根茎含游离蒽醌及蒽醌苷, 还含有甙类化合物: 白藜芦醇 (resveratrol) 即 3, 4', 5'-三羟基 (3, 4', 5'-trihydroxysylbene), 虎杖苷 (polydatin) 即白藜芦醇 3-O- β D-葡萄糖苷 (resveratrol-3-O- β D-glucoside)^[1]等。白藜芦醇苷具有抗菌, 镇咳, 防止动脉内皮损伤性血栓形成, 改善休克微循环, 提高大鼠存活率, 减轻缺血再灌注、自由基、内毒素等造成的

组织器官损伤, 降血脂抗脂质过氧化及抗肿瘤等方面的活性, 对治疗血栓性疾病及改善休克微循环等疾病有很好的前景^[2]。

虎杖药材生长分布广泛。据调查, 目前市场上的药材主要来源于江西、江苏、安徽、广东、浙江、贵州等地区; 当地药农均采用传统初加工方法是将采挖新鲜药材切断后用沙磨水洗除掉的泥沙和须根, 再经晾晒后出售。笔者对不同产地和加工方法的药材进行白藜芦醇苷的含量测定, 以期为保证虎杖药材的质量提供科学依据。

1 材料

高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司): Waters515 泵; 2487 检测器; Rherdyne7725 进样阀; DL-3600 超声震荡器; Sartorius 十万分之一天平。

* 收稿日期: 2003-11-08

* 通讯作者 Tel: (021)65513056 E-mail: hmzhang@smmu.edu.cn

甲醇(HPLC 专用);白藜芦醇苷对照品由复旦大学药学院天然药化教研室提供,经面积归一化法测定纯度在 99% 以上。

药材采自全国各主要产区和药材市场,由本院张汉明教授鉴定为虎杖 *Polygonum cuspidatum*。

2 方法结果

2.1 色谱条件:流动相为甲醇-水(80:20);A ltech C₁₈(5 μm, 250 mm × 4.6 mm), 体积流量 0.6 mL/min, 检测波长 320 nm, 进样量为 10 μL, 柱温为室温。

2.2 标准曲线制作:精密称取白藜芦醇苷对照品 2.01 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相溶解至刻度;分别精密量取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL 于 50 mL 量瓶中, 加流动相至刻度作为对照品溶液, 每次进样 10 μL, 测定白藜芦醇苷的峰面积, 以质量浓度(X)对色谱峰面积(Y)绘制标准曲线, 回归方程为 $Y = -17\,196.97X + 13\,773.10$, $r = 0.999\,6$, 线性范围:0.8~12 μg/mL。

2.3 精密度试验:取对照品溶液每次 10 μL, 连续进样 5 次, 测量所得色谱峰面积, 其 RSD 为 2.2%。

2.4 重现性试验:取同一样品 5 份, 制备供试品溶液, 测定白藜芦醇苷质量分数, 计算其 RSD 为 2.10%。

2.5 稳定性实验:取同一份样品溶液, 在 0、2、4、6、8、12、24 h 分别进样, 记录峰面积积分值, 结果 RSD = 0.75%, 表明在 24 h 内稳定。

2.6 回收率试验:精密称取已知含量虎杖粉末约 0.25 g, 加入约 1.61 μg/mL 白藜芦醇苷 80% 甲醇溶液 1 mL, 按样品制备项下测定, 平均回收率为 98.76% ($n = 5$), RSD = 1.82%。

2.7 样品测定:虎杖药材经过粉碎, 过 60 目筛, 60 恒温干燥。精密称取虎杖粉末 0.25 g 于 25 mL 量瓶, 加入 80% 甲醇水溶液约 20 mL, 超声提取 1 h, 定容, 滤过, 取续滤液 1 mL 于 10 mL 量瓶内, 加流动相至刻度, 溶液过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液 10 μL 进样, 测定峰面积, 用标准曲线法计算样品中白藜芦醇苷的含量。对照品及样品色谱见图 1。

2.7.1 在考虑多年生植物类药材成分的影响因素时, 首先考察了生长时间对次生代谢物积累的影响, 由于时间等诸多条件的限制, 在本试验研究中不能确定每种样品确切的生长时间。根据新鲜药材的表现色泽(a 浅黄; b 黄褐至棕色; c 黑色)、根的横切面直径(a < 1.5 cm; b 2.0~4.5 cm; c > 4.5 cm)、木质化程度(a 低; b 较高; c 高)以及表皮的腐烂程度(a 无; b 轻; c 重)这 4 个指标的区别, 将来源相

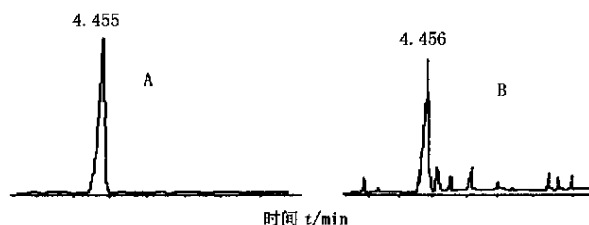


图 1 白藜芦醇苷(A)和样品(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC of polydatin (A) and sample (B)

同的样品按照大体上的生长时间段分类:短期(一年左右), 4 项 a; 中期(2~8 年), 4 项 b; 长期(10 年以上), 4 项 c。选择了生长期较为相同的短期药材样品进行测量, 目的在于着重考察“采集地”因素的影响, 结果见(表 1)。

表 1 不同采集地虎杖中白藜芦醇苷含量($n = 3$)

Table 1 Polydatin in Rhizoma Polygoni Cuspidati collected from different habitats ($n = 3$)

采集地	质量分数/%	采集地	质量分数/%
安徽滁州	1.16	江苏宜兴	1.19
安徽金寨	0.36	江苏张渚	1.12
安徽宣州	1.15	江西高安	0.24
广西德保	0.52	南京马群	1.15
贵州岑巩	0.95	上海市区	1.02
汉中留坎	1.15	苏州穹窿山	1.20
杭州紫云洞	1.10	浙江建德	1.07

2.7.2 用当地药农加工过的药材, 即将新采挖的完整的虎杖药材切割成 5~20 cm 的长段, 再用水洗、沙磨等方法去掉附土、须根, 干燥, 作为实验组; 新鲜采挖的完整药材, 尽可能地减少药材的破损面, 干燥后, 剪去须根并用刷子去掉附土, 干燥后, 作为对照组。两组药材经切片, 按样品制备项下制作, 实验结果见表 2。

表 2 不同加工方法虎杖中白藜芦醇苷含量

Table 1 Polydatin in Rhizoma Polygoni Cuspidati processed by different methods

采集地	实验组质量 分数/%	对照组质量 分数/%	损失率/%
浙江杭州	0.95	1.10	13.64
浙江临安	1.01	1.19	15.13
江苏张渚	0.93	1.12	16.96
本院药圃	0.95	1.02	6.86
贵州贵阳	0.82	0.86	4.65
安徽金寨	0.31	0.36	13.89
安徽玉冲	0.91	1.14	20.17

3 讨论

3.1 根据《中华人民共和国药典》2000 年版规定, 虎杖的质量是以虎杖中总蒽醌含量为评价指标。虎杖中的二苯乙烯类物质在药理活性上与虎杖的临床效用密切相关。该类物质对疾病的预防和治疗作用引起了科研人员和开发者的重视, 研究结果预示了良好的开发前景。因此对虎杖中该类物质含量进行

了测定。虎杖中的二苯乙烯类物质主要有白藜芦醇苷和白藜芦醇两种,经过试验验证,确定该类物质存在形式以前者为主,二者之间的含量相差约数十倍,因此仅对白藜芦醇苷进行了测定。测定结果显示,虎杖中白藜芦醇苷的含量受到生长年限,药材产地和加工方法等多方面的影响。

3.2 不同产地是影响虎杖白藜芦醇苷含量的重要因素之一。对几个主产地的药材进行了比较,发现苏州、宜兴两地产虎杖中白藜芦醇苷含量较高。

3.3 虎杖加工方式的不同,造成其白藜芦醇苷含量

上的显著差别。从分析结果可见实验组测量值明显低于对照组($P < 0.05$)。传统的加工方法在一定程度上造成了虎杖中白藜芦醇苷的损失,本研究采用的加工方法,减少白藜芦醇苷的损耗,既可以提高生产中的产品得率,又便于控制原药材的质量。

References:

- [1] Ouyang C F. Chemical component of *Polygonum cuspidatum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1987, 18(8): 45-46.
- [2] Luo S F, Jin X Z, Ye J F, et al. Advances in research on 3, 4', 5'-trihydrostilbene-3-D-glucoside, an effective component from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. [J]. *Chin J Pharm acol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1999, 13(1): 1-4.

HPLC 测定菟丝子中槲皮素、山柰素、异鼠李素的含量

孔伶俐, 崔青娟, 伊惠贤*

(天津丹溪国药研究所, 天津 300061)

菟丝子为旋花科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的成熟种子。始载于《神农本草经》,列为上品。菟丝子味辛甘,性平。入肝、肾经。补肝肾,益精髓。历来被医家视为“补脾肾肝经之要药”。“菟丝子正补心、肝、肾之圣药,况又不杂之别味,则力尤专,所以能直入三经以收全效也”。菟丝子做为传统的滋补壮阳药已应用了2000年。近来的药理学研究表明对心血管系统有很好的作用,并呼吁学者开发成治疗心脑血管系统的药物。近代植化研究表明其富含黄酮类化合物,与药效研究结果相一致。《中华人民共和国药典》历版都收载了菟丝子药材,然而直到2000年版对菟丝子药材的质量控制仍停留在形态与显微鉴别上^[1]。本实验报道采用HPLC法同时测定菟丝子中的槲皮素、山柰素、异鼠李素的含量。

1 仪器、试剂与药品

1.1 仪器与试剂:岛津10A高效液相色谱仪,A nastar 色谱工作站, Irregular C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。

甲醇、磷酸均为分析纯,水为重蒸蒸馏水,槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品均购于中国药品生物制品检定所,纯度分别为99.93%、99.96%、99.82%。

1.2 药品:菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 购于安国市药材公司,产于河北、山东和内蒙古巴彦淖尔盟,由天津药物研究院魏吉城研究员鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Irregular C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-0.4%磷酸(50:50);检测波长为360 nm。理论板数按槲皮素计算应不低于2500。

2.2 对照品溶液的制备:分别精密称取经五氧化二磷干燥过夜的槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品适量,各加甲醇制成100、6、3 μg/mL的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取菟丝子细粉0.75 g,加40 mL 甲醇超声1.5 h,滤过,残渣加少量甲醇洗涤,洗液并入滤液中,回收甲醇至干,残渣加甲醇-25%盐酸(4:1)的混合溶液25 mL,水浴加热回流30 min,迅速冷却至室温,转移至50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线制备

2.4.1 槲皮素标准曲线的制备:精密称取槲皮素对照品17.25 mg,置50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度。分别吸取上述稀释液各20 μL,注入液相色谱仪,记录相应的峰面积值。回归方程: $A = 51\,330\,672.46 C + 108\,966.4$, $r = 0.999\,9$,结果表明,在0.034 5~0.172 5 mg/mL 线性关系良好。

2.4.2 山柰素标准曲线的制备:精密称取山柰素对照品5.77 mg,置50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释