RP-HPLC 法同时测定蛇床子中蛇床子素、欧芹属素乙和异茴芹素的含量

叶晓平, 宋纯清*

(上海兴康医药研究开发有限公司, 上海 200032)

摘 要: 目的 建立蛇床子 *Cnidium monnieri* 中蛇床子素(osthole)、欧芹属素乙(imperatorin)和异茴芹素(isopimpinellin)的高效液相色谱测定方法。方法 采用 Vercopark Inertsil N-5 ODS 柱, 1% 醋酸-甲醇(梯度为 0～30 min 1% 醋酸 95%～5%)为流动相, 检测波长 254 nm。结果 该法回收率蛇床子素为 99.1%, 欧芹属素乙为 95.8%, 异茴芹素为 97.3%; RSD 蛇床子素为 1.8%, 欧芹属素乙为 0.8%, 异茴芹素为 3.3% (n= 5)。结论 本方法为蛇床子药材、蛇床子提取物及含蛇床子药材的复方的质量评估提供了可靠的依据。

关键词: 蛇床子; 蛇床子素; 欧芹属素乙; 异茴芹素; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2005)01-0118-02

Determination of osthole, imperatorin, and isopimpinellin in seeds of *Cnidium monnieri* by RP-HPLC

YE Xiao-ping, SONG Chun-qing

(Shanghai Xingkang Pharmaceutical Research and Development Co., Ltd., Shanghai 200032, China)

Key words: seed of *Cnidium monnieri* (L.) Cuss.; osthole; imperatorin; isopimpinellin; HPLC

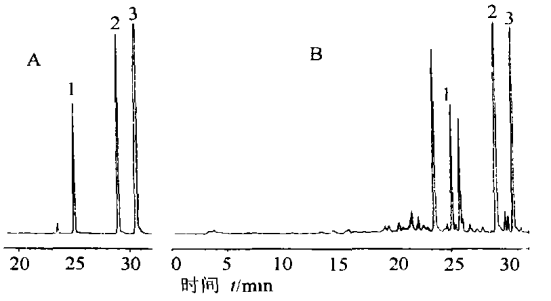
蛇床子 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 具有温肾壮阳、调节免疫、增强免疫功能, 有延缓衰老和性激素样作用, 能增强骨密度, 治疗骨质疏松作用[1,2]。香豆素类成分是蛇床子的主要活性成分, 其中以蛇床子素、欧芹属素乙和异茴芹素为代表。笔者采用 HPLC 测定其含的 3 种成分含量。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪: 四元泵, 在线脱气机, 手动进样器, 柱温箱, 二极管阵列检测器(DAD), 色谱柱 Vercopark Inertsil N-5 ODS (4.6 mm×250 mm, 5 μm), Agilent 1100 化学工作站。对照品自制, 经 mp、UV、IR、^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、MS 鉴定核实, 纯度经 HPLC 检查达 98% 以上。水为双重蒸馏水, 甲醇为 Fisher 光谱纯, 其他试剂均为分析纯。蛇床子产地为山东, 由上海第二军医大学张汉明教授鉴定为蛇床子 *C. monnieri* (L.) Cuss.。

2 方法和结果

2.1 液相色谱条件: 流动相为 1% 醋酸-甲醇(梯度为 0～30 min 1% 醋酸 95%～5%); 检测波长: 254 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 灵敏度: 1.0 AUFS。对照品图谱见图 1。



1-欧芹属素乙 2-异茴芹素 3-蛇床子素

1-imperatorin 2-isopimpinellin 3-osthole

图 1 蛇床子对照品(A)及样品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of *C. monnieri* reference substance (A) and its sample (B)

2.2 标准曲线制备

2.2.1 精密称取对照品蛇床子素 65.50 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解制成 2.66 mg/mL 的对照品溶液, 分别精密吸取 1、2、3、4、5 mL 加甲醇定容至 10 mL, 分别进 20 μL 进行分析测定, 以对照品的质量浓度(mg/mL)为横坐标, 峰面积值为纵坐标得回归方程为 Y= 12 428 X+ 3 030.2, r= 0.996 4, 线性范围 0.26～1.33 mg/mL。

2.2.2 精密称取对照品欧芹属素乙 12.20 mg, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇溶解制成 0.61 mg/mL 的对

* 收稿日期: 2004-04-12

作者简介: 叶晓平(1978—), 女, 安徽省繁昌县人, 技术员, 2002 年毕业于中国药科大学药学专业, 从事中药质量分析和新药开发研究。Tel: (021) 64188420

照品溶液, 分别精密吸取 0.1、1、2、3、4、5 mL 加甲醇定容至 10 mL, 分别进 20 μL 进行分析测定, 以对照品的质量浓度(μg/mL) 为横坐标, 峰面积值为纵坐标得回归方程 $Y = 58.539\ X - 113.65$, $r = 0.999\ 7$, 线性范围 6.10～305.00 μg/mL。

2.2.3 精密称取对照品异茴芹素 17.40 mg, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇溶解制成 0.87 mg/mL 的对照品溶液, 分别精密吸取 0.1、1、2、3、4 mL 加甲醇定容至 10 mL, 分别进 20 μL 进行分析测定, 以对照品的质量浓度(μg/mL) 为横坐标, 峰面积值为纵坐标得回归方程为 $Y = 68.808\ X + 194.55$, $r = 0.999\ 7$, 线性范围 8.70～174.00 μg/mL。

2.3 精密度试验: 蛇床子素进样 5 次, 每次进样 20 μL, RSD 为 2.30%; 欧芹属素乙进样 5 次, 每次进样 20 μL, RSD 为 1.11%; 异茴芹素进样 5 次, 每次进样 20 μL, RSD 为 1.60%。

2.4 稳定性试验: 取同批样品溶液分别于 0、5、9、24、36、48 h 注入液相色谱仪, 测定蛇床子素、欧芹属素乙、异茴芹素的峰面积, RSD 依次为 0.61%、0.87%、0.78%。

2.5 重现性试验: 精密称取同一样品 5 份, 分别制备成样品溶液, 测定蛇床子素、欧芹属素乙、异茴芹素的含量, 以 3 成分总量计算, RSD 为 1.68%。

2.6 加样回收试验: 精密称取药材粉末 5 份, 分别加入一定量对照品, 依样品测定项下操作, 测定含量, 计算回收率, 蛇床子素为 99.1%, 欧芹属素乙为 95.8%, 异茴芹素为 97.3%, RSD 依次为 1.8%、0.8%、3.3% ($n = 5$)。

2.7 样品测定: 精密称取 40 目蛇床子粗粉约 0.5 g, 加 90 mL 甲醇回流提取 2 h, 提取液置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度。进样前用微孔滤膜滤过。样品图谱见图 1。测定结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Results of samples ($n = 3$)

批次	蛇床子素/%	欧芹属素乙/%	异茴芹素/%
1	1.57	0.12	0.11
2	1.58	0.12	0.12
3	1.57	0.13	0.13

3 讨论

蛇床子是常用中药, 富含香豆素类化合物, 现代药理研究显示香豆素类为主要的活性成分, 其中蛇床子素(osthole)、欧芹属素乙(imperatorin) 和异茴芹素(isopimpinellin) 含量较高, 蛇床子素的含量测定已有报道[3～5], 为更全面地反应这类成分的量, 笔者建立了 RP-HPLC 法同时测这 3 种成分的含量, 为减少峰拖尾加入少量醋酸, 达到了比较满意的基线分离条件, 为蛇床子药材、提取物及其制剂的质量控制提供了比较精确的方法和依据。

References:

[1] Li Q N, Liang L C, Wu T, *et al*. Effects of total coumarins of *Fructs Cnidii* on skeleton of ovariectomized rats [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1994, 15(6): 528-532.

[2] Xie H, Li Q N, Huang L F, *et al*. Effects of total coumarins from dried fruits of *Cnidium monnieri* on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1994, 15(4): 371-374.

[3] Zhang Q, Tang W W. Determination of osthole in Changshoubao granule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(9): 13.

[4] Xiong Y, Wu X O. Determination of matrine and osthole in Longfeng Jieshen Chun by RP-HPLC [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志), 2001, 16(3): 213-214.

[5] Liu F, Yuan T L, Huang Y J, *et al*. Determination of osthole in the seeds of *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. by reversed phase-HPLC [J]. *J Hunan Coll Tradit Chin Med* (湖南中医学院学报), 2002, 22(1): 36-37.

不同肥料对秦艽根的产量和龙胆苦苷含量的影响

李福安[1], 李建民[2*], 王祖训[3], 李向阳[1], 张 华[1], 魏全嘉[1], 旦 巴[4*]

(1. 青海医学院 中医系, 青海 西宁 810001; 2. 青海师范大学 生命科学系, 青海 西宁 810008;
3. 青海省农业技术推广总站, 青海 西宁 810000; 4. 青海省同仁县原种场, 青海 同仁 811300)

肥料对秦艽根产量和龙胆苦苷含量的影响, 国内外鲜见研究报道。本实验是施用草木灰、麻渣、过

* 收稿日期: 2004-03-15

基金项目: 科技部 "创新药物和中药现代化" 专项资助(2001-BA701A60-06); 青海省科学技术厅重大科技攻关资助项目(2001-N-107-03); 教育部科技重点资助项目(02156)

作者简介: 李福安(1954—), 男, 副教授, 现从事中医药学及中藏药研究, 发表论文 20 余篇。
Tel: (0971) 6104054 E-mail: lifan 1954@163.com

* 通讯作者 Tel: (0971) 6104054 E-mail: Beyond_3862740@163.com