

相当。

#### References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Acadimiae Sinicae Edita. *Flora Republicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 75. Beijing: Science Press, 1982.
- [2] Sakato K, Misawa M. Effects of chemical and physical conditions on growth of *Camptotheca acuminata* cell cultures [J]. *Agric Biol Chem*, 1974, 38: 491-497.
- [3] Wall M E, Wani M C, Cooke C E, et al. Plant antitumor agents, the isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukaemia and tumourinhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 88: 3888-3890.
- [4] Hisang Y H, Herizberg R. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260 (27): 14873.
- [5] Li S Y, Adair K T. *Camptotheca acuminata* Decaisne, XI SHU, a promising antitumor and antiviral tree for the 21st century [A]. Hen M. *Rockwell Monograph* [M]. Nacogdoches Texas; The Tucker Center College of Forestry, Stephen F. Austin State University Nacogdoches TX, 1994.
- [6] Zhang L, Ren L J, Li K M. Comparison of the content of chebulinic acid in *Phyllanthus urinaria* in different areas and seasons [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (2): 157-159.
- [7] Zhang K J, Wang Y Q, Ma X H, et al. A study on ecology of metabolites of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Sci Silvae Sin* (林业科学), 1999, 35 (6): 28-34.
- [8] Zhang Y H. The geographical variation and seasonal changes of camptothecin in fruits of *Camptotheca acuminata* [J]. *J Northeast Forest Univ* (东北林业大学学报), 2002, 30 (6): 44-46.

## RP-HPLC 法测定墓头回中的齐墩果酸

曹艳萍<sup>1</sup>, 李翠芹<sup>2\*</sup>

(1. 榆林学院 化学系, 陕西 榆林 719000; 2. 西安交通大学药学院, 陕西 西安 710061)

墓头回别名箭头风、臭罐子等, 系败酱科败酱属植物异叶败酱 *Patrinia heterophylla* Bunge 或糙叶败酱 *P. scabra* Bunge, 分布于陕西、河南、河北、山西等地。根及全草入药<sup>[1]</sup>。有消肿排脓、祛瘀止痛的功效, 临床上用于治疗急性阑尾炎初起、瘰疬、无名肿痛、宫颈糜烂、跌打损伤、骨折等症<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 该植物对体内、外肿瘤癌细胞有强大的杀伤作用<sup>[3]</sup>。对该植物的生药学研究和化学成分研究表明, 有效成分主要是以齐墩果酸苷元和常春藤苷元组成的三萜皂苷<sup>[4]</sup>。齐墩果酸具有降低谷丙转氨酶, 促进细胞再生, 防止肝硬化, 抗炎和强心作用, 是治疗肝炎的有效成分<sup>[5]</sup>。已有文献报道, 用比色法和薄层扫描法<sup>[6-8]</sup>测定齐墩果酸。但用 RP-HPLC 测定墓头回中齐墩果酸未见报道, 本实验建立了用 RP-HPLC 法测定墓头回中齐墩果酸的方法, 并对 5 种不同产地墓头回植物中齐墩果酸进行了测定, 为墓头回药材的质量控制及合理使用提供了依据。

### 1 仪器、试剂与药品

日本岛津高效液相色谱仪(包括 Lc-10 ATvp 泵、SPD-10AvP 紫外检测器和 SPD-M10Avp 二极管阵列检测器), 7725 型手动进样阀(美国 Rneodyne 公司), ANASTAR 色谱工作站(奥泰科

技术有限公司), KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 齐墩果酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 0709-9803), 甲醇为色谱纯, 实验用水均为二次蒸馏水, 墓头回药材购于各地药店或直接从产地收集, 均由西安交通大学药学院牛晓峰教授鉴定。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromail ODS 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 0.5 μm); 流动相为甲醇-0.05% 冰醋酸水溶液(88:12); 体积流量为 1.00 mL/min; 柱温为室温(26 °C); 检测波长为 225 nm; 进样量 20 μL; 理论板数按齐墩果酸峰面积计算应不低于 2 000。在该色谱条件下齐墩果酸的保留时间是 11.3 min。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的齐墩果酸对照品 50.0 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇 15 mL 超声处理 5 min, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀得质量浓度为 2 mg/mL 对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的墓头回粉末(100 目) 1 g 于 150 mL 三角瓶中, 加入 10% 硫酸 30 mL, 沸水浴中水解 4 h, 放冷后滤过, 滤渣用水洗至中性, 45 °C 烘干, 精密加入氯仿 50 mL, 超声提取 50 min, 补足损失质量, 滤过, 精密量取续

收稿日期: 2004-07-17

作者简介: 曹艳萍(1958—), 女, 陕西榆林人, 副教授, 主要从事药物分析和有机化学研究。

Tel: (0912) 3891144 E-mail: lcq16@mailst.xjtu.edu.cn

\* 通讯作者 Tel: (029) 82655142 Fax: (029) 82655451

滤液 25 mL, 蒸干后加甲醇溶解, 稀释并定容至 10 mL, 摇匀, 离心取上清液即得。

2.4 标准曲线和线性范围: 分别从齐墩果酸对照品储备液中精密吸取 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 以甲醇稀释至刻度, 摇匀, 依次进样 20  $\mu$ L, 重复 3 次, 在选定色谱条件下进行测定, 记录色谱图。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得回归方程:  $Y=1.3589 X-0.4543$ ,  $r=0.9999$ 。线性范围为 1.0~20  $\mu$ g。

2.5 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 20  $\mu$ L, 按选定的色谱条件进样测定, 重复 5 次, 结果齐墩果酸对照品峰面积的 RSD 为 1.34%。

2.6 重现性试验: 精密称取烘至恒重的榆林墓头回粉末(100 目) 1 g 5 份。按“2.3 项方法”进行平行提取, 在选定色谱条件下进行测定, 结果齐墩果酸对照品峰面积的 RSD 为 1.90%。

2.7 稳定性实验: 取供试品溶液, 按每 2 h 进样 1 次, 测定峰面积, 结果供试品溶液在 8 h 内稳定, 齐墩果酸峰面积的 RSD 为 0.63% ( $n=5$ )。

2.8 回收率试验: 精密称取已知含量的榆林墓头回干燥粉末(100 目) 0.5 g, 加入适量齐墩果酸对照品液, 按供试品测定方法提取测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.4%, RSD 为 0.2% ( $n=5$ )。

2.9 含量测定: 对来自不同产地的墓头回各取 3 份, 按“2.3”项方法进行提取, 在选定色谱条件下测定, 按外标两点法以峰面积计算齐墩果酸的质量分数, 结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 5 种墓头回齐墩果酸的含量 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 1 Oleanolic acid in five kinds of *P. heterophylla* ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

来源或 购买地	齐墩果酸/%			
	根	茎	叶	全草
陕西榆林采	0.54 $\pm$ 0.04	0.30 $\pm$ 0.05	0.15 $\pm$ 0.02	0.47 $\pm$ 0.05
陕西太白县采	0.56 $\pm$ 0.05	0.31 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.03	—
济南购买	0.55 $\pm$ 0.03	—	—	—
南京购买	0.32 $\pm$ 0.01	—	—	—
河南洛阳购买	0.30 $\pm$ 0.02	—	—	0.20 $\pm$ 0.04

### 3 讨论

3.1 色谱条件的选择: 文献中探索了 RP-HPLC 法的流动相, 比较了甲醇-水不同比例; 甲醇-水-冰醋酸不同比例<sup>[5]</sup>。结果发现, 选用甲醇-水-冰醋酸为流动相进行分离, 效果较好。甲醇对分离极性差别较大的化合物起重要作用, 体积分数过高或过低, 分离效果均不理想, 冰醋酸对杂质的分离很重要, H<sup>+</sup>可改变流动相性质, 使分离效果好; 改变水和冰醋酸用

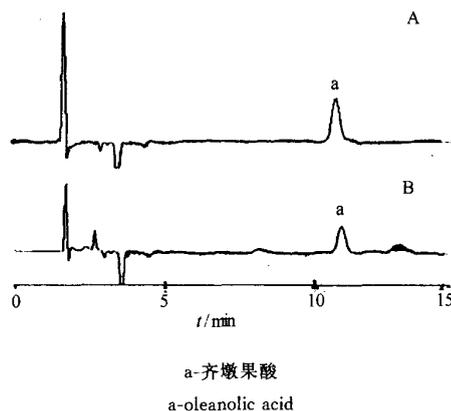


图 1 齐墩果酸对照品(A)和墓头回样品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of oleanolic acid (A) and *P. heterophylla* sample (B)

量, 使基线分离, 且保留时间适中。本实验建立的配比, 样品峰保留时间适中, 峰形较好并可与杂质完全分离。

对齐墩果酸进行紫外扫描, 选择最大吸收峰波长, 结果表明紫外区有 3 个吸收峰, 选择最大吸收峰 225 nm 为检测波长较 205 和 210 nm 灵敏。

3.2 提取方法的选择: 考察了水解时间, 比较了超声、回流、索氏 3 种提取方法和不同的溶剂用量对提取率的影响, 结果以 10% 硫酸水解 4 h, 氯仿超声提取 50 min, 提取率高且操作简便。比较了先用 10% 硫酸水解后氯仿提取与先甲醇提取, 滤渣用 10% 硫酸水解后氯仿提取, 结果前者操作较为快速、简便, 而且提取效果好。

3.3 样品分析: 本实验对不同产地的墓头回生药进行了考察, 结果表明齐墩果酸与产地和植物部位有关, 以陕西太白县产墓头回含量最高, 陕西榆林产墓头回全草中齐墩果酸质量分数(0.47%)远高于河南洛阳的(0.20%)。根部的齐墩果酸含量高于茎部, 叶子中含量最低, 这为墓头回的用药和开发利用提供了科学依据。

3.4 根据本品测定的结果, RP-HPLC 法可以较好地分离出墓头回的主成分峰和杂质峰, 能反映样品的真实, 方法简便、准确、灵敏, 有利于药品质量的控制。

### 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] Yang H H. *New Chinese Materia Medica Volume* (新中药集萃) [M]. Harbin: Heilongjiang People's Publishing House, 1988.  
 [3] Chen J Y, Chen J M. Research survey of *Patrinia* [J]. *Chin*

*Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25 (2): 101-105.

[4] Lei H M, Zhu R, Wei L X. Chemical constituent of *Patrinia heterophylla* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1997, 32 (5): 271-273.

[5] Chen J X. Study on the anti-tumour function of *Patrinia* total saponins tablets [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 1999, 6 (5): 299.

[6] Chen M Z. Colorimetric assay of oleanolic acid tablets [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12 (9): 13-14.

[7] Mi H M, Gao W, Duan C H. Determination of oleanolic acid in *Aralia elata* (Mia.) Seem. by TLC-densitometry [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18 (1): 41-42.

[8] Zhang D K, Sun W J, Sha Z F. Comparison of oleanolic acid content among 35 medicinal plants [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1989, 12 (12): 19-27.

## HPLC 法测定蔓荆子中的紫花牡荆素

田振坤, 王连芝, 尹永琴, 闫广利

(黑龙江中医药大学 中医药研究部, 黑龙江 哈尔滨 150040)

蔓荆子为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *V. trifolia* L. 的干燥成熟果实, 具有疏散风热、清利头目之功效<sup>[1]</sup>。主产于我国华北、华南、华东等沿海各省, 传统上认为山东产蔓荆子为道地药材, 品质佳<sup>[2]</sup>。蔓荆子作为《中华人民共和国药典》收载药品, 但没有定量指标。本实验收集了 12 个产地的蔓荆子药材生品, 以紫花牡荆素为指标<sup>[3]</sup>, 采用 HPLC 法对其进行测定, 建立了蔓荆子药材的含量测定方法。

### 1 实验材料

1.1 仪器: Waters 600E—2487 型高效液相色谱仪, Millennium 32 色谱处理系统, TP—205B 超声波清洗机, FA1104 电子分析天平。

1.2 试剂: 紫花牡荆素对照品 (自提), 经光谱鉴定, HPLC 分析, 其纯度为 99.6%; 所用甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂为分析纯。

1.3 药材: 蔓荆子药材分别在 12 个产地采购 (山东牟平、福建莆田、浙江青田、湖南湘阴、河北任县、山东崂山、山东青岛、江西星子、江西都昌、辽宁大连、安徽安庆和山东日照), 经黑龙江中医药大学鉴定教研室鉴定为单叶蔓荆 *V. trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 的果实。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersi ODS-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 ℃; 流动相: 甲醇-水 (62:38); 检测波长: 350 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。理论塔板数按紫花牡荆素色谱

峰计算应不低于 4 000。HPLC 图谱见图 1。

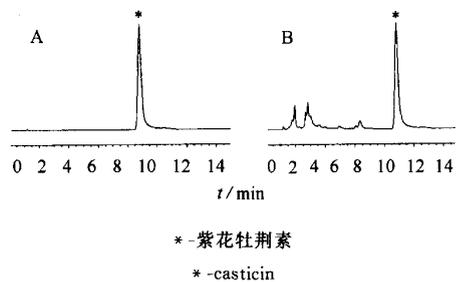


图 1 紫花牡荆素 (A) 和蔓荆子 (B) 的 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of casticin (A) and *Fructus Viticis* (B)

2.2 供试品溶液制备: 精密称取蔓荆子药材粉末 (40 目) 1 g, 精密加入甲醇 30 mL, 水浴回流提取 2 h, 滤过, 滤液定量转移至 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 线性关系考察: 精密称取紫花牡荆素对照品适量, 用甲醇配制成 0.1 mg/mL 的对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液 0.5、2.0、4.0、6.0、8.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 按上述色谱条件进样。以峰面积为纵坐标, 紫花牡荆素的质量为横坐标绘制标准曲线, 回归方程:  $Y = 3\,423.8 + 491\,015.4 X$ ,  $r = 0.999\,9$ 。结果表明, 紫花牡荆素在 0.052~0.892 mg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 取同一质量浓度的紫花牡荆素对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积积分值, 结果其 RSD 为 0.66%, 表明仪器的精密度良好。

收稿日期: 2004-08-05

基金项目: “九五”国家重点科技攻关计划项目 (999290132)

作者简介: 田振坤 (1955—), 男, 黑龙江人, 黑龙江中医药大学中医药研究部部长, 主要从事中药药效物质基础及其质量标准的研究。  
Tel: (0451) 82114403