

酸试剂作为显色剂,喷雾后,在 110 ℃ 下烘 5 min 后,地上部分有 2 个蓝黑色斑点,其 Rf 值分别为 0.47 和 0.34,根有 2 个蓝黑色斑点,其 Rf 值分别为 0.47 和 0.36。

3.2 紫外光谱:称取药材根和地上部分的粗粉各 10 g,分别加 95% 乙醇 100 mL 水浴加热回流 1 h,滤过。分别取滤液 0.5 mL 稀释至 50 倍,摇匀,在 200~800 nm 波长测定紫外光谱,结果地上部分在 280、219 nm 有吸收,根在 280、225 nm 有吸收。

#### 4 小结

梵天花根横切面薄壁细胞含众多草酸钙簇晶,韧皮部射线呈漏斗状。茎横切面表皮有非腺毛,韧皮部射线呈漏斗状。叶横切面上、下表皮有哑铃状的气孔及腺毛、星状非腺毛。全草粉末有导管、腺毛、非腺

毛、纤维、草酸钙簇晶、棕色块、淀粉粒。这些显微特征是重要的鉴别特征。此外,梵天花薄层色谱和紫外吸收光谱鉴别梵天花根和梵天花茎中所含化学成分的异同性,可为其开发利用提供参考。

#### References:

- [1] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1975.
- [2] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [3] Board of Health of Guangxi Zhuang Autonomous Region Revolutionary Committee Selection. *Guangxi Herbal* (广西本草) [M]. Section I. Nanning: Guangxi People's Publishing House, 1974.

## RP-HPLC 法测定龙胆中的当药苦苷和当药苷

魏 岚,陈晓辉,毕开顺\*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

龙胆为龙胆科植物条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *G. scabra* Bunge、三花龙胆 *G. triflora* Pall. 或坚龙胆 *G. rigescens* Franch. 的干燥根及根茎<sup>[1]</sup>,尚有非正品草本威灵仙(草龙胆) *Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell 的干燥根及根茎和红花龙胆 *G. rhodantha* Franch. 的干燥全草。龙胆苦、寒,归肝、胆经,具有清热燥湿、泻肝胆火的功效<sup>[1]</sup>,主要分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、浙江、湖南、江西、福建、江苏、广东、新疆也有分布。龙胆的主要有效成分为裂环烯醚萜苷类,主含龙胆苦苷、当药苦苷 (swertiamarin, SWT)、当药苷 (sweroside, SWO) 等。本实验采用正交试验考察了龙胆中当药苦苷和当药苷的提取工艺,建立了龙胆中当药苦苷和当药苷同时定量的 RP-HPLC 法,并对 38 个不同产地的龙胆进行了测定,从而为龙胆的质量研究提供了科学依据。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器,N2000 色谱工作站,岛津 UV-265FW 型紫外分光光度仪,Sartorius BP210S 型电子分析

天平,ZFQ85A 型旋转蒸发仪。甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。龙胆样品共 38 批,由本校孙启时教授鉴定,粉碎过 40 目筛,置于干燥阴凉处备用。当药苦苷和当药苷对照品,购于昆明同持医药有限公司,质量分数为 99.5%。

### 2 方法

2.1 提取工艺的考察:以当药苦苷和当药苷为检测指标,选取溶剂用量、提取时间、提取次数 3 个因素,每个因素 3 个水平,采用  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,按 2.4 项制备样品溶液,按 2.5 项进行测定。综合直观分析和方差分析的结果,确定最佳提取工艺为:用 20 倍于药材量的甲醇超声提取 2 次,每次 10 min。

2.2 检测波长的选择:取当药苦苷和当药苷的对照品适量,用甲醇分别配制成质量浓度为 10 mg/L 的溶液,在 400~200 nm 进行紫外扫描,结果显示当药苦苷的最大吸收波长为 235 nm,当药苷的最大吸收波长为 243 nm,故选择 240 nm 为检测波长。

2.3 对照品溶液的制备:分别精密称取当药苦苷对照品 10 mg,当药苷对照品 8 mg,置 25 mL 量瓶

收稿日期:2004-08-12

作者简介:魏 岚(1978—),女,辽宁省沈阳市人,硕士研究生,从事中药现代化研究。Tel:(024) 23986268

\* 通讯作者 毕开顺 E-mail: ksbi@mail.sy.ln.cn

中,甲醇超声溶解并加至刻度,摇匀,备用。

2.4 供试品溶液的制备:取龙胆药材粉末 0.2 g,加入 4 mL 甲醇,超声提取 2 次,每次 10 min,合并提取液并滤过,回收溶剂后用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,加至刻度摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为样品溶液。

2.5 色谱条件:色谱柱:Diamondsil C<sub>18</sub>(4.6 mm×200 mm,5 μm);流动相:乙腈-水-醋酸(10:105:1);体积流量:1.0 mL/min;紫外检测波长:240 nm;柱温:室温;进样量:20 μL。

2.6 线性关系:分别精密量取当药苦苷对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6 mL,当药苷对照品溶液 0.1、0.6、1.2、1.8、2.4、3.0 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇定容摇匀,按 2.5 项测定。结果表明,当药苦苷、当药苷质量浓度(X)分别在 4.0~64 mg/L,3.2~96 mg/L,与峰面积(Y)呈线性关系。回归方程分别为  $Y = 1.000 \times 10^7 X + 1.745 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ ;  $Y = 1.000 \times 10^7 X + 2.491 \times 10^3$ ,  $r = 0.9998$ 。

2.7 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 20 μL,测定,连续进样 6 次,当药苦苷和当药苷的峰面积 RSD 分别为 1.0%、0.7% (n=6)。

2.8 重现性试验:精密称取同一产地(黑龙江省依兰县)的龙胆药材粉末 0.2 g,按 2.4 项制备 6 份样品溶液,测定,计算当药苦苷和当药苷的质量分数,其 RSD 分别为 1.2%、1.0% (n=6)。

2.9 稳定性试验:取同一供试品溶液分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定,结果表明当药苦苷和当药苷在 24 h 内稳定性良好,峰面积 RSD 分别为 1.3%、0.8%。

2.10 加样回收率试验:精密称取已知质量分数的龙胆药材粉末(产于黑龙江省依兰县)9 份各 0.1 g,每 3 份分别准确加入高、中、低 3 个不同量的当药苦苷和当药苷对照品,制备样品溶液,测定,结果当药苦苷平均回收率 98.3%,RSD 为 0.6% (n=3);当药苷平均回收率 98.5%,RSD 为 0.5% (n=3)。

2.11 样品测定:取各产地的龙胆样品粉末 0.2 g,制备样品溶液,测定,结果见表 1,色谱图见图 1。

### 3 讨论

3.1 曾比较了回流法和超声法对当药苦苷和当药苷提出率的影响,回流法提出杂质较多,所测成分在高温时分解、含量变低;而超声法提出杂质较少,并且不存在高温时物质分解的问题,因此选择超声法。

3.2 38 批龙胆样品中均含有当药苦苷,质量分数

表 1 样品测定结果 (n=3)

Table 1 Determination results of sample (n=3)

编号	品种	产地	当药苦苷/ (mg·g <sup>-1</sup> )	当药苷/ (mg·g <sup>-1</sup> )
1	坚龙胆	河北	0.57	0.18
2	坚龙胆	天津	1.12	未测出
3	坚龙胆	广东广州	0.31	0.20
4	坚龙胆	辽宁	0.81	0.30
5	草本威灵仙	安徽	0.40	0.18
6	坚龙胆	辽宁丹东	0.47	0.17
7	坚龙胆	山西大同	0.94	痕量
8	坚龙胆	贵州	1.32	未测出
9	坚龙胆	贵州贵阳	1.26	未测出
10	草本威灵仙	陕西	0.54	0.24
11	红花龙胆	四川	2.12	未测出
12	龙胆	辽宁庄河	0.61	0.76
13	龙胆	黑龙江佳木斯	1.73	痕量
14	龙胆	黑龙江	0.75	0.65
15	坚龙胆	内蒙古通辽	0.18	0.19
16	坚龙胆	山西运城	0.60	0.20
17	坚龙胆	云南	0.82	0.20
18	坚龙胆	安徽	0.32	0.16
19	坚龙胆	黑龙江	0.89	0.17
20	龙胆	黑龙江齐齐哈尔	3.40	未测出
21	龙胆	黑龙江依兰	3.16	5.41
22	坚龙胆	河南信阳	0.51	0.24
23	草本威灵仙	云南	0.52	0.42
24	龙胆	吉林桦甸	3.87	0.37
25	坚龙胆	黑龙江	0.40	未测出
26	坚龙胆	上海	0.75	痕量
27	草本威灵仙	内蒙古呼和浩特	0.64	0.20
28	草本威灵仙	安徽亳州	0.80	痕量
29	草本威灵仙	辽宁盘锦	0.25	0.27
30	坚龙胆	湖北	0.74	0.50
31	草本威灵仙	湖北阳新	0.87	0.31
32	龙胆	山东济南	0.63	0.79
33	坚龙胆	福建	0.55	痕量
34	坚龙胆	贵州安顺	0.58	0.16
35	坚龙胆	云南	0.36	未测出
36	草本威灵仙	河北	0.44	0.37
37	坚龙胆	青海	0.33	未测出
38	龙胆	吉林省吉林	3.76	0.30

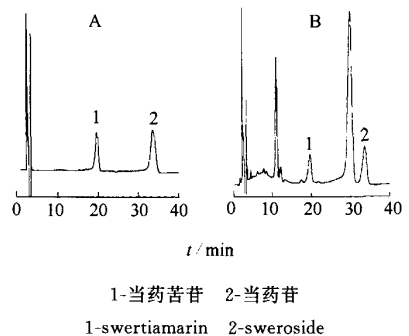


图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and sample (B)

最高的 4 个产地依次为桦甸市、吉林市、齐齐哈尔市和黑龙江省依兰县,且均高于 3 mg/g,这 4 个产地的龙胆样品属于道地药材,且均来源于主产地。

3.3 38 批龙胆样品中当药苷质量分数差异很大。25 批样品中检出当药苷,13 批样品中未测出当药苷

或其量极低。黑龙江省依兰县所产的龙胆中当药苷质量分数最高 (5.41 mg/g),其余产地的样品中当药苷均低于 0.8 mg/g。

Reference:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.

## HPLC 法测定九节菖蒲中 5-羟基 4-氧代戊酸

谭文界,游菲,黄敏

(湖北中医学院,湖北 武汉 430061)

九节菖蒲为毛茛科植物阿尔泰银莲花 *Anemone altaica* Fisch. ex C. A. Mey. 的根茎,具有开窍、豁痰、祛风、宣湿、醒脾、解毒等功效。本课题组从九节菖蒲中分离得多个化合物,其中质量分数较高、具生物活性(镇静)且在其他中药中尚未发现的成分是 5-羟基 4-氧代戊酸。本实验采用 HPLC 法对该有机酸进行了分析,分离效果、线性、重现性等良好,回收率符合要求,可作为该药材质量控制的有效手段之一。

### 1 仪器与试剂

Dionex 高效液相色谱仪,UV D-170u 检测器,Chromleon 色谱工作站,PHS-25 型 pH 计。九节菖蒲 *A. altaica* Fisch. ex C. A. Mey. (经本院陈科力教授鉴定),5-羟基 4-氧代戊酸对照品(自制,经熔点、IR、<sup>13</sup>C-NMR、<sup>1</sup>H-NMR 谱确认其结构)。

### 2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别:取九节菖蒲药材粉末(过 20 目筛)1 g,加水 10 mL 提取 30 min,滤过,滤液用醋酸乙酯萃取,醋酸乙酯液浓缩作为对照药材溶液。另取少量 5-羟基 4-氧代戊酸用醋酸乙酯溶解作为对照品溶液。

吸取上述两种溶液各约 5 μL 分别点于同一羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(4:5:1.5)为展开剂、展开、取出、晾干,待甲酸挥尽时,喷以溴甲酚兰显色剂,对照品、对照药材在相同 R<sub>f</sub> 值处显黄色斑点。

2.2 色谱条件:色谱柱为 Alltima C<sub>18</sub> 反相色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:5 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 缓冲液;体积流量:1 mL/min;柱温:

25 °C;检测波长:214 nm。色谱图见图 1。

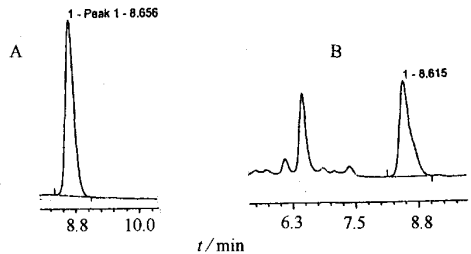


图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.3 对照品溶液的制备:分别精密称取 5-羟基 4-氧代戊酸对照品 2.1、4.2、6.3、8.4、10.5 mg,分别置于 10 mL 量瓶内,加流动相溶解,至刻度,得相应质量浓度的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备:精密称取九节菖蒲药材粉末(过 20 目筛)1.003 g,加蒸馏水 10 mL 水浴温浸 40 min,滤过,滤液用醋酸乙酯萃取 3 次(每次各 10 mL)回收醋酸乙酯液,残余物用流动相溶解,移至 10 mL 量瓶内并加至刻度。

2.5 标准曲线的制备:按上述色谱条件,分别对 5 种不同质量浓度的对照品溶液进样 20 μL,测定。以峰面积积分值(Y)对质量浓度(X)进行回归分析,得回归方程:Y = 5.896 0 X + 0.000 3, r = 0.999 9,结果表明:5-羟基 4-氧代戊酸在 0.21 ~ 1.05 mg/mL 与峰面积线性良好。

2.6 精密度试验:取同一供试品溶液,在选定的色谱条件下,依法测定,重复进样 5 次。计算 5-羟基 4-氧代戊酸峰面积的 RSD 为 1.19%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在放置