

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsi/C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 流动相: 甲醇-水-磷酸 (45 : 55 : 0.2), 体积流量: 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm; 理论塔板数按黄芩苷计算应不低于 3 000, 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取黄芩苷对照品适量, 加 50% 甲醇制成 80 μg/mL 溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取木蝴蝶 (通过三号筛) 粉末约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 70% 乙醇 50 mL, 称定质量, 置水浴上回流 30 min, 放冷, 用 70% 乙醇补足质量, 滤过, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 可行性试验: 分别取供试品溶液与黄芩苷对照品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪中, 在上述色谱条件下测定, 色谱图见图 1。

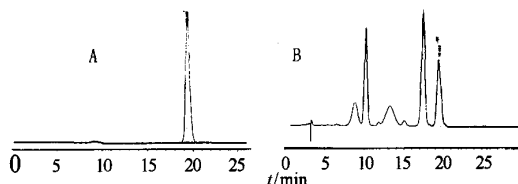


图1 黄芩苷对照品(A)和木蝴蝶样品(B)HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of baicalin and *O. indicum*

2.5 线性关系考察: 精密称取黄芩苷对照品适量, 加 50% 甲醇制成 163.68、491.04、818.4、1 145.76、1 436.2 μg/mL 溶液。精密吸取上述溶液各 10 μL, 按顺序进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 黄芩苷质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 26.155 X + 2.842, r = 0.9993$ 。结果表明黄芩苷在 0.163 68~1.436 25 μg 与峰面积的线性关系良好。

2.6 精密度试验: 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 重复 5 次, 黄芩苷峰面积 RSD 为 2.70% ($n = 5$), 精密度良好。

2.7 稳定性试验: 取本品制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μL, 每 5 h 进样一次, 各测 5 次, 黄芩苷峰面积 RSD 为 0.94%, 可见供试品溶液中黄芩苷在 20 h 内稳定。

2.8 重现性试验: 取山东产地的木蝴蝶 (通过三号筛), 平行制备 5 份供试品溶液, 进样, 5 份样品中黄芩苷质量分数的 RSD 为 2.16%。

2.9 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取已知质量分数 (6.27%) 样品, 各 5 份, 分别精密加入一定量的黄芩苷对照品溶液, 按供试品溶液的制备方法处理, 在上述色谱条件下测定黄芩苷, 计算回收率, 结果平均回收率为 102.55%, RSD 为 0.78%。

2.10 样品测定: 取本品按上述方法制备供试品溶液, 分别精密吸取供试品溶液和黄芩苷对照品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定, 按外标法计算供试品溶液中的黄芩苷, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 样品的制备: 木蝴蝶中翼纤维较多不易打成粉末, 故在打粉之前剪掉种翼, 粉末应通过三号筛。

3.2 样品提取的选择: 通过实验预试得知木蝴蝶含成分比较复杂, 高效液相测出峰较多, 因此本实验采用 50%、70% 不同浓度的乙醇考察, 用不同时间 30、60 min 超声和回流提取方法, 进样分析, 结果表明采用 70% 乙醇回流 30 min: 黄芩苷量最高。故选用了该方法。

3.3 流动相的选择: 本实验考察了甲醇-水-磷酸 (49 : 51 : 0.2); (47 : 53 : 0.2); (45 : 55 : 0.2); 结果以 (45 : 55 : 0.2) 分离效果最佳。故予以采用。

通过实验结果表明本实验选用的方法, 测定木蝴蝶中黄芩苷, 色谱分离度好, 样品测定稳定, 重线性好, 精密度高, 可控制木蝴蝶药材的质量。

RP-HPLC 法测定沙苑子中沙苑子苷

刘春宇¹, 孙雄华¹, 张经硕¹, 胡延维¹, 顾振纶²

(1. 苏州大学医学院 药理学系, 江苏 苏州 215007; 2. 苏州大学医学院 药理教研室, 江苏 苏州 215007)

沙苑子, 又名潼蒺藜, 为豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 的种子, 是补益肝肾的

传统中药。主要含有黄酮类、三萜类、有机酸类、氨基酸、多肽、蛋白质、甾醇、多糖及铁、锌、锰、铜等微量

收稿日期: 2004-09-21

作者简介: 刘春宇 (1961—), 女, 副教授, 主要从事中药有效成分及药理作用研究。

Tel: (0512) 65221518 E-mail: chunyu@public1.sz.js.cn

元素^[1~4]。药理研究表明^[5],沙苑子具有保肝、调血脂、降压、抑制血小板聚集、改变血液流变学指标、抗炎、增强非特异性和特异性免疫功能等作用。实验结果显示沙苑子具有保肝、抗肝纤维化作用,沙苑子苷为主要有效成分之一^[6]。但迄今对沙苑子有效单体成分的测定研究未见报道。本实验采用 RP-HPLC 法测定沙苑子中沙苑子苷,并比较了不同产地、不同批号沙苑子中沙苑子苷的质量分数。

1 仪器与材料

1.1 材料:沙苑子,苏州雷允上药业集团公司提供,产地为陕西渭南,由苏州市药品检验所吴银生主任药师鉴定为豆科植物扁茎黄芩 *A. complanatus* R. Br. 的种子;沙苑子苷自制(98.5%),ZTC-5 型黄酮吸附树脂(天津正天澄清技术有限公司,南开大学研制);乙腈、甲醇为色谱级,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器:HPLC 岛津 LC—VP10A 系列;电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);旋转蒸发器 R501、R201 型(上海申生科技有限公司);DZF 真空干燥箱(上海医用恒温设备厂)。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择:称取沙苑子苷适量,甲醇溶解,于 200~800 nm 波长扫描吸收光谱,结果沙苑子苷于 266 nm 处有最大吸收峰。

2.2 色谱条件:色谱柱:VP-ODS (150 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温 40℃;流动相:乙腈-1% HAC 溶液(18:82);体积流量:1 mL/min;检测波长:266 nm。以沙苑子苷计,理论塔板数不小于 6 000,分离度大于 1.5。

2.3 线性关系考察:精密称取沙苑子苷对照品 5.0 mg,50%乙醇溶解并定容于 50 mL 量瓶中,制成 0.1 mg/mL 的对照品贮备液,吸取对照品贮备液分别稀释成 5、10、20、40、80 μg/mL,溶液分别进样 20 μL,按上述色谱条件测定。以峰面积积分值为纵坐标,质量浓度为横坐标,进行线性回归,得回归方程: $Y=46\,044.25C-3\,523.67$, $r=0.999\,9$,沙苑子苷在 5~80 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系,色谱图见图 1。

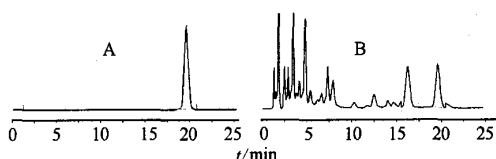


图 1 沙苑子苷(A)及样品(B)HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatogram of complanatuside (A) and sample (B)

2.4 精密度考察:吸取供试品溶液 20 μL,在上述色谱条件下重复进样 6 次,计算峰面积的 RSD 为 1.07%。

2.5 重现性考察:取同一样品,按照供试品溶液制备方法,制备 5 份供试品溶液,各进样 20 μL,测量峰面积。结果 RSD 为 1.69%。

2.6 稳定性试验:取同批供试品溶液,在室温放置 1、2、4、8、24、48 h,依法测定,峰面积 RSD 为 1.28% ($n=6$),结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 回收率试验:准确称取已知沙苑子苷质量分数的样品 2.0 g,加入一定量的沙苑子苷对照品,按样品测定项下的方法提取,测定,计算回收率,结果回收率为 95.52%,RSD 为 1.86% ($n=5$)。

2.8 样品测定:取沙苑子细粉 2.0 g,精密称定质量,加石油醚 60 mL 回流 1 h,滤过,药渣挥干石油醚,准确加入 80%乙醇 60 mL,称质量,回流 2 h,冷却后称质量,补充乙醇至原质量,滤过。准确量取续滤液 25 mL,挥去乙醇,用 15 mL 蒸馏水溶解,通过 40 mL ZTC-5 型黄酮吸附树脂,150 mL 水洗脱后,50%乙醇洗脱,收集 50%乙醇洗脱液 250 mL,减压蒸干,50%乙醇溶解,于 50 mL 容量瓶定容,在上述色谱条件下进样 20 μL,测定结果见表 1。

表 1 沙苑子样品中沙苑子苷($n=3$)

Table 1 complanatuside in samples ($n=3$)

样 品	沙苑子苷/%
1 陕西	0.101 6
2 陕西	0.099 6
3 陕西	0.086 6
4 陕西	0.101 2
5 陕西	0.082 3
6 陕西	0.071 0
7 陕西渭南市大荔县朝邑农场三团	0.078 4
8 陕西渭南市大荔县朝邑农场九连	0.063 6
9 陕西渭南市临渭区南师乡南师村	0.067 3

3 讨论

3.1 流动相的选择:分别以不同配比的甲醇-1% HAC(42:58、41.5:58.5、41:59)和乙腈-1% HAC(23:77、20:80、19:81、18:82)为流动相,观察分离效果,结果以乙腈-1% HAC(18:82)分离效果最佳。

3.2 提取条件的选择:分别以 95%、80%、70%、60%乙醇溶液提取,结果以 80%乙醇提取沙苑子苷质量分数高,杂质干扰少。

3.3 ZTC-5 型黄酮吸附树脂洗脱条件的选择:样品上柱后,依次以水、10%、20%、30%、40%、50%、70%乙醇洗脱,测定各洗脱部位沙苑子苷,结果 10%~50%乙醇洗脱部位均含沙苑子苷,故选择

50%乙醇洗脱。

3.4 实验结果显示,此法测定沙苑子中沙苑子苷,分离效果、线性关系、精确度、重现性好,准确性高,可用于沙苑子药材和提取物中沙苑子苷的测定。不同地区、不同批号沙苑子中沙苑子苷质量分数有一定差异。

References:

- [1] Chen M H, Liu F S. Study on chemical constituents of *Semen Astragali Complanali* I [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1987, 12(2): 106-108.
- [2] Gu Y, Liu Y H, Li G G, et al. Study on chemical con-

stituents of *Semen Astragali Complanali* [J]. *North Pharm J* (西北药学杂志), 1997, 12(3): 107-109.

- [3] Cui B L, Motoyuki N, Junei K, et al. Structures of three new acylated flavonol glycosides from *Astragalus complanatus* R. Br. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(7): 1943.
- [4] Cui B L, Yusuke S, Takashi T, et al. Four new oleanene derivatives from the seeds of *Astragalus complanatus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(1): 136.
- [5] Han X D. Advance in studies on character identification, chemistry and pharmacology of *Astragalus complanatus* R. Br. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药研究), 1996, 7(4): 251-252.
- [6] Liu C Y, Gu Z L, Zhang K P, et al. Effect of flavonoids of *Astragali complanali* on liver fibrosis induced by DMN in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20(1): 110-114.

薄层扫描法测定枇杷叶中熊果酸

韩小龙,陈开勋*

(西北大学化工学院,陕西 西安 710069)

枇杷叶为常用中药材,是蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥叶。枇杷叶入药始载于《名医别录》,列为中品。枇杷叶归肺、胃经,具清肺、止咳、降逆止呕作用,用于治疗肺热咳嗽、气逆喘急、胃热呕逆、烦热口渴之症状。其有效成分有挥发油、三萜化合物、皂苷和有机酸^[1]。其中所含三萜化合物中的熊果酸现代药理研究表明具有镇静、抗炎和增强机体免疫等作用,而且极有可能成为有效的新型抗癌药物^[2]。目前国内对枇杷叶中熊果酸的测定尚未见具体报道,本实验采用薄层扫描法测定其熊果酸的质量分数,方法简单、快速、重现性好,效果令人满意。

1 仪器与试剂

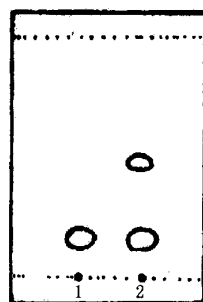
TLC-Scanner 3 型薄层扫描仪(瑞士卡玛公司);熊果酸对照品(购自中国药品生物制品检定所);硅胶 GF₂₅₄ 预制板(100 mm×200 mm,青岛海洋化工厂分厂);枇杷叶分批采自云南红河州云阳县不同种植点(样品批号为 1~5 号),经西北大学生命科学院刘建利教授鉴定为蔷薇科植物枇杷 *E. japonica* (Thunb.) Lindl. 的叶,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:取枇杷叶,干燥粉碎过 40 目筛。精密称取 20 g,置索氏提取器中用 12 倍无水乙醇回流提取至近无色,减压回收乙醇,浓缩至适

量,转移至 100 mL 量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,作为供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取熊果酸对照品 7.5 mg,置 10 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,质量浓度为 0.75 mg/mL,作对照品溶液。



1-熊果酸对照品

2-枇杷叶样品

1-ursolic acid reference substance 2-sample

图 1 枇杷叶 TLC 图

Fig. 1 TLC chromatogram of *Eriobotrya* leaf

2.3 薄层色谱条件:用微量注射器点样于硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上(厚 0.3 mm),展开剂:环己烷-氯仿-醋酸乙酯-冰醋酸(20:5:8:0.5),展开方式:上行展开,显色剂:10%硫酸乙醇溶液,105℃烘约 7 min 显色,熊果酸斑点为粉红色,Rf 值约为 0.33,取出在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定。双波长扫描, $\lambda_S = 520$ nm, $\lambda_R = 700$ nm;狭缝 1.2 mm×1.2 mm; $S_X = 3$,灵敏度中等,色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察:精密吸取熊果酸对照品溶液 1、2、3、4、5 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以上述条件展开,显色,扫描,测定各斑点吸收峰面积,以吸光度积分值对点样量作图,得回归方程: $Y = 275.11 X +$