

国不同地区市售的16批升麻药材样品,结果见表1。

表1 样品中异阿魏酸测定结果 ($n=2$)

Table 1 Results of isoferulic acid in samples ($n=2$)

编号	产地	异阿魏酸/%	编号	产地	异阿魏酸/%
1	河北(1)	0.285	9	德国饮片	0.238
2	河北(2)	0.296	10	辽宁(2)饮片	0.222
3	东北(1)饮片	0.173	11	广西所提供饮片	—
4	东北(2)饮片	0.261	12	四川	—
5	黑龙江(1)饮片	0.302	13	东北(3)	0.141
6	辽宁(1)饮片	0.226	14	吉林所提供	0.158
7	湖北所提供饮片	0.304	15	东北(4)	0.320
8	黑龙江(2)饮片	0.332	16	东北(5)	0.358

4 讨论

4.1 据文献报道阿魏酸与异阿魏酸均具有抗炎镇痛等作用^[3],为升麻中的主要有效成分,笔者对所收集的不同产地16批升麻样品同时测定其中阿魏酸和异阿魏酸,发现两种成分的量相差悬殊,异阿魏酸约为阿魏酸的10倍,故本实验只以异阿魏酸作为升麻质量评价的指标。

4.2 检测波长的确定:取异阿魏酸对照品的甲醇溶液,经紫外扫描,结果在200~400 nm内记录吸收光谱,异阿魏酸在316 nm处有最大吸收,故采用316 nm作为检测波长。

4.3 本研究所建立的方法简便易行,能够准确、科学地评价升麻药材的质量。从多数样品的测定结果看,不同产地和批次的药材差异较大,异阿魏酸大多在0.10%~0.36%,但个别样品的异阿魏酸量较低,而东北产升麻的量较高且较稳定。

4.4 本研究还对杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物进行了考察,结果杂质为0.9%~7.3%,水分7.6%~13.8%,总灰分为5.4%~12.0%,酸不溶性灰分为0.4%~4.4%,浸出物15.8%~35.2%。各批次间差异不显著。上述测定的结果对升麻药材的质量评价具有一定的参考价值。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Xiao P G. *Modern Chinese Materia Medica* (新编中药志) [M]. Vol 1. Beijing Chemical Industry Press, 2002.
- [3] Yin J. *Modern Studies and Clinical Applications in Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与临床应用) [M]. (Vol I). Beijing: Publishing House of Ancient Chinese Medical Books, 1995.
- [4] Ye H M, Xiao P G. Determination of four active components in *Rhizoma Cimicifugae* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1991, 14(1): 37-38.
- [5] Pan R L, Chen D H, Shen L G, et al. Determination of ferulic acid and isoferulic acid in *Rhizoma Cimicifugae* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(6): 396-398.

不同部位、不同产地苦参中三叶豆紫檀苷的 HPLC 测定

赵慧娟¹, 王答其², 孙文基^{1*}

(1. 西北大学 陕西省生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069; 2. 西安植物园, 陕西 西安 710069)

苦参为豆科槐属多年生落叶亚灌木植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 性味苦寒, 归心、肝、脾、肾、大肠、小肠诸经。具有清热燥湿、杀虫利尿的功效^[1]。又用作苦味健胃剂、利尿剂、消炎药、止泻药和驱虫药^[2]。苦参中的化学成分主要分为生物碱类和黄酮类。早期的研究主要集中在苦参生物碱类成分上, 近年来对黄酮类成分的研究较多, 并取得了很大进展。三叶豆紫檀苷为苦参中一个主要的黄酮类成分, 经研究已确认其具有很强的抗真菌作用^[3], 能部分代表苦参的功效。本实验采用 HPLC 法对苦参的根、茎、叶、叶柄以及11个产地苦参根中三叶豆紫檀苷进行测定, 以反映苦参抗菌作用进而初步起到评价其内在质量的优劣。

1 仪器与试剂

HITACHI 高效液相色谱仪; L-7420 型检测仪; L-7110 型泵; N2000 色谱工作站; HITACHI U-2001 分光光度计; BP211D 型精密电子天平 (瑞士 Sartorius 公司)。

三叶豆紫檀苷对照品 (苦参 70% 乙醇提取, 醋酸乙酯萃取, 反复柱色谱, 经 UV、IR、MS、NMR 鉴定与文献报道^[4]一致, HPLC 检测为单峰, 归一化法计算质量分数达 98% 以上)。实验中所用水为超纯水, 其余试剂均为分析醇。

苦参药材来自于西安植物园由王答其副研究员收集和鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性:色谱柱: HiQ Sil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-水 (6 : 5.5); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 常温; 检测波长: 310 nm。按上述色谱条件测定, 三叶豆紫檀苷峰与相邻峰分离度为 2, 理论板数以三叶豆紫檀苷峰计算不得低于 2 350, 色谱图见图 1。

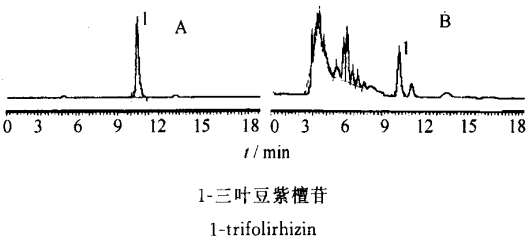


图 1 对照品(A)与样品(B)色谱图

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

2.2 对照品溶液制备:精密称取真空干燥后的三叶豆紫檀苷 5.12 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相溶解并加至刻度, 制成 0.204 8 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备:精密称取苦参粗粉 (过 40 目筛) 0.5 g, 置 50 mL 烧瓶中, 准确加入 10 mL 70% 乙醇, 称质量, 回流提取 1 h, 放冷, 再称质量, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察:精密吸取 0.204 8 mg/mL 三叶豆紫檀苷对照品溶液 2、4、8、12、16、20 μL, 分别进样测定。以三叶豆紫檀苷进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 计算, 所得的回归方程为 $Y = 378\,575 X - 2\,185.5$, $r = 0.999\,8$ 。三叶豆紫檀苷在 0.409 6~4.096 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 (0.204 8 mg/mL) 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行分析, 测定 5 次, 峰面积的 RSD 为 0.53%。

2.6 重现性试验:精密称取同一批样品 5 份, 每份 0.5 g, 制备供试液, 按上述色谱条件进样 20 μL, 测得峰面积值, 外标法计算出三叶豆紫檀苷的平均质量分数为 0.18%, RSD 为 1.50%。

2.7 稳定性试验:精密称取样品 0.5 g, 制备供试品溶液, 于 0、4 及 8 h 分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 测得峰面积值, 并计算三叶豆紫檀苷的质量分数。结果表明:样品溶液在 8 h 内稳定性良好, RSD 为 0.16%。

2.8 回收率试验:取含三叶豆紫檀苷为 0.18% 的

同一批样品约 0.25 g, 共 6 份, 精密称定, 2 份为一组, 每组分别精密加入三叶豆紫檀苷对照品溶液 (0.204 8 mg/mL) 1.5、2、2.5 mL, 制备加样回收供试品溶液, 进样 20 μL, 测定峰面积值, 计算三叶豆紫檀苷质量分数, 并计算回收率和 RSD。实验结果表明:6 个样品的平均回收率为 99.39%, RSD 为 1.68%。

2.9 样品测定

2.9.1 苦参不同部位三叶豆紫檀苷的测定:精密称取陕西兰田产苦参的根、茎、叶、叶柄 (均为粗粉, 过 40 目筛) 各 0.5 g, 制成供试品溶液, 按上述色谱条件进样 20 μL, 测定峰面积值, 外标法计算三叶豆紫檀苷质量分数, 结果见表 1。

表 1 苦参不同部位中三叶豆紫檀苷 (n=3)

Table 1 Determination of trifolirhizin in different parts of *S. flavescens* (n=3)

部位	三叶豆紫檀苷/%	RSD/%
根	0.138	0.39
茎	0.006	0.81
叶柄	0.008	1.56
叶	0.034	0.78

2.9.2 不同产地苦参中三叶豆紫檀苷的测定:精密称取 11 个产地的样品粗粉 (过 40 目筛) 0.5 g, 分别制成供试品溶液, 按上述色谱条件进样 20 μL, 测定峰面积值, 外标法计算三叶豆紫檀苷质量分数, 结果见表 2。

表 2 不同产地苦参中三叶豆紫檀苷的测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of trifolirhizin in *S. flavescens* from different habitats (n=3)

产地	三叶豆紫檀苷/%	RSD/%
陕西商洛	0.26	0.15
陕西兰田	0.14	0.39
陕西榆林	0.07	1.09
陕西旬邑	0.15	1.91
甘肃 1	0.18	1.50
甘肃 2	0.20	1.29
甘肃庆阳	0.38	1.54
甘肃天水	0.36	1.02
新疆	0.13	0.81
江苏	0.12	0.75
四川	0.31	1.93

3 讨论

3.1 提取方法的选择:本实验对提取溶剂 (醋酸乙酯、甲醇、水、50% 甲醇、70% 乙醇), 提取方法 (超声处理、回流提取), 提取时间 (15、30、45、60、75 min), 提取次数 (1、2、3 次) 进行了研究, 以三叶豆紫檀苷的质量分数作为指标, 结果表明本实验提取方法为最佳。

3.2 检测波长的选择:精密吸取对照品溶液 2.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用流动相定容;以流动相溶液作为参比溶液,在 190~600 nm 内进行全波长扫描,结果表明,三叶豆紫檀苷在 310 nm 处有最大吸收峰,所以本实验选定 310 nm 为检测波长。

3.3 由实验结果可看出,不同部位不同产地苦参中三叶豆紫檀苷的量差异较大。苦参根中三叶豆紫檀苷(0.07%~0.38%)明显高于地上部分(0.006%~0.034%),说明三叶豆紫檀苷主要集中于苦参根部,能作为苦参黄酮类物质的标识性成分。

3.4 由 11 个产地样品的测定结果可看出,三叶豆紫檀苷的质量分数范围为 0.07%~0.38%,高低相差大于 5 倍,平均质量分数为 0.21%。其中甘肃庆

阳产苦参中含三叶豆紫檀苷量较高,而陕西旬邑产苦参中三叶豆紫檀苷较低。

References:

- [1] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Study and Application of Chinese Materia* (中药现代研究与应用) [M]. Vol 3. Beijing: Xueyuan Press, 1993.
- [2] Ohmoto T, Aikawa R, Nikaido T, et al. Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase in medicinal plants. Part XI. Inhibition of adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase by components of *Sophora flavescens* Aiton [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(5): 2094-2099.
- [3] Yagi A, Fukunaga M, Okuzako N, et al. Antifungal substances from *Sophora flavescens* [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1989, 43(4): 343-347.
- [4] Komatsu M, Tomimori T, Hatayama K, et al. Studies on the constituents of *Sophora* species IV. Constituents of the root of *Sophora angustifolia* Sieb. et Zucc. (1) [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1970, 90(4): 463-468.

HPLC-蒸发光散射检测法测定蒺藜中蒺藜皂苷 A

王桂玲,解生旭,赵宏峰,司云珊,韩冬,徐雅娟*

(吉林省中医中药研究院,吉林 长春 130021)

蒺藜为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实。为我国常用传统中药,味辛、苦,微温,有小毒,归肝经。具平肝解郁,活血祛风,明目,止痒之功效^[1]。蒺藜已被广泛应用于临床制剂中,尚无质量控制的对照品,为控制药材及其制剂质量,笔者从蒺藜药材中分离纯化化合物蒺藜皂苷 A,并作为对照品进行了纯化及标定,质量分数达到 98%以上。本实验采用 HPLC-蒸发光散射检测法建立了蒺藜皂苷 A 的测定方法^[2]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器:美国 Waters 公司高效液相色谱仪 600 泵,SEDEX55 型蒸发光散射检测器(法国),7725 手动进样器。

1.2 试剂:蒺藜皂苷 A 对照品为实验室自制,质量分数 98%以上。甲醇为色谱纯。蒺藜样品购自内蒙、吉林、亳州、陕西等不同地区,长春中医学院邓明鲁教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适用性实验:色谱柱:美国 Novapak C₁₈ 色谱柱(100 mm×8 mm, 5 μm),流动

相:甲醇-水(65:35),体积流量:1 mL/min, SEDEX 55 型蒸发光散射检测器(法国),进样量 10 μL,理论塔板数按蒺藜皂苷 A 峰计,应不低于 2 442。

2.2 对照品溶液制备:精密称取对照品蒺藜皂苷 A 5.6 mg,置 10 mL 量瓶中,甲醇溶解至刻度。

2.3 供试品溶液制备:取本品粉末(过 4 号筛)5 g,精密称定,加甲醇 50 mL 回流提取 3 次,合并提取液,蒸干,残渣加水 30 mL 微热使溶解,通过 D-101 大孔树脂柱(12 cm×1.5 cm),用水 100 mL 洗脱,弃去水液,再用 75% 乙醇 200 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线的制备:分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述条件测定,经计算蒺藜皂苷 A 色谱峰峰面积积分值(A)的对数与质量(m)的对数之间呈良好线性关系,回归方程 $\lg A = 5.097 + 1.56777 \lg m$, $r = 0.9999$,质量在 1.2~5.6 μg 与峰面积积分值成良好的线性关系。

收稿日期:2004-12-10

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371739)

作者简介:王桂玲,女,延边大学医学院 2002 届研究生,研究方向为天然活性成分。

* 通讯作者 徐雅娟