

超声提取-HPLC 法测定冬凌草中冬凌草甲素

袁珂¹, 吕洁丽², 贾安²

(1. 浙江林学院食品与药学院, 浙江 临安 311300; 2. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450003)

冬凌草 *Rabdosia rubescens* Hemsl. 为一传统草药, 俗称抗癌植物, 在我国具有丰富的野生资源。该植物主要生长在我国黄河流域及其以南广大地区。冬凌草中的二萜类成分冬凌草甲素具有很强的抗肿瘤活性^[1,2]。对于冬凌草甲素的测定方法, 传统方法往往采用 TLC 法^[4]及 HPLC 法^[5]。由于索氏提取是一种连续热回流提取方法, 不仅提取时间较长, 而且药液长时间处于被加热状态, 有效成分容易受到破坏, 测出的冬凌草甲素的质量分数偏低, 且提出的药液色重, 因此测定前还必须进行脱色除杂, 给测定工作带来很多不便。超声提取技术已被用于多种植物的提取, 具有提取快速、提取率高、节省溶剂和时间, 能避免高温对有效成分的影响等优点。本实验采用超声技术快速提取冬凌草中的冬凌草甲素, 并通过 HPLC 法测定冬凌草甲素, 发现采用该法能克服传统提取方法的许多不足, 并能保证冬凌草甲素的高提取率。

1 仪器和材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); 自动进样器; HP1100 化学工作站; TP300 超声波提取器(北京天鹏电子新技术有限公司); R201B 旋转蒸发仪(上海申胜生物技术有限公司); Mettler AE240 微量分析天平。

冬凌草叶于 2003 年 10 月购自河南省济源市药材公司, 由河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为唇形科香茶菜属植物冬凌草 *R. rubescens* Hemsl. 的全草。冬凌草甲素对照品自制, 质量分数为 99.22%。色谱纯甲醇, 双蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 C₁₈ ODS 柱; 流动相为甲醇-水(55:45); 柱温 25℃; 检测波长 242 nm。

2.2 供试品溶液的制备: 分别精密称取冬凌草叶粗粉 10 g, 准确加入 80% 乙醇 60 mL, 称定质量, 置超声波提取器中, 超声提取 2 次, 每次 30 min, 取出放冷后, 称定质量, 然后加 80% 乙醇补足减失的质量,

抽滤, 吸取 1 mL 提取液用甲醇定容至 25 mL 量瓶中, 即得。

2.3 标准曲线的绘制: 精密称定冬凌草甲素对照品 10.00 mg, 加甲醇定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀, 配成质量浓度为 400 μg/mL 的对照品溶液。分别进样 0.2、0.4、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 μL, 记录峰面积。结果冬凌草甲素进样量在 0.08~1.32 μg, 峰面积与冬凌草甲素进样量呈良好线性关系, 回归方程为 $Y = 1\,464.410\,36 X + 30.618\,38$, $r = 0.999\,97$ 。

2.4 稳定性试验: 精密吸取冬凌草供试品溶液, 每隔 2 h 进样测定 1 次, 重复测定 5 次, 记录冬凌草甲素的峰面积, 计算其质量分数, 结果 RSD 为 1.64%。

2.5 精密度试验: 取冬凌草供试品溶液进样 5 次, 每次进样 10 μL, 测定峰面积值, 计算其 RSD 为 1.86%。

2.6 重现性试验: 精密称取冬凌草叶 5 份, 按供试品溶液的制备项下方法进行, 分别吸取上述溶液 10 μL 进样分析, 测定峰面积, 计算其质量分数, 得其 RSD 为 1.95%。

2.7 回收率试验: 精密吸取 2.06 mg/mL 冬凌草甲素对照品溶液 2.00 mL 5 份, 分别精密加入其中冬凌草甲素质量分数为 X 的冬凌草叶 5 g, 按供试品溶液的制备方法处理并测定, 结果冬凌草甲素的平均回收率为 98.37%, RSD 为 1.86%。

2.8 样品测定: 吸取供试品溶液 10 μL 进样, 记录峰面积, 计算样品中冬凌草甲素的质量分数。共选取 3 批, 每批称取 4 份, 结果冬凌草甲素的质量分数分别为 0.761 2%、0.758 7%、0.742 9%, RSD 分别为 1.03%、1.66%、1.89%。色谱图见图 1。

3 讨论

3.1 通过试验证明, 超声提取后提取液色浅, 不用脱色除杂即可直接进行测定, 对测定基本无干扰, 且测定结果比索氏提取法高出 12.3%。

(下转第 1858 页)

肠道毒素等作用,对胃肠道出血、保护胃肠道功能有较好的疗效。

严重胸腹多发伤患者术后早期保护并恢复胃肠道功能,早期胃肠内营养,可以有效保护胃肠黏膜屏障,减轻炎症反应。防治肠源性感染,提高机体免疫力^[6],促进早日康复。本观察两组病人均为急诊手术,未进行充分术前准备,应用大黄的治疗组,胃黏膜出血率及肠麻痹率分别低于对照组,而胃肠功能恢复有效率均高于对照组。本观察采用早期、少量、限速,定时滴注大黄制剂,配合胃肠减压、限制胃肠道压力增高,解决了中药早期不易应用和对口服中药味道不耐受的问题,避免了因未恢复胃肠道功能,而进行肠内营养引起的恶心、呕吐,吸入性肺炎等并发症。缩短胃肠减压时间,恢复胃肠功能,提前进食,降低病人的痛苦及住院时间和费用。

大黄是传统中药,胃肠道是其主要效应器官。其药理机制是促进胃肠蠕动,保护胃肠黏膜,防治应激性胃肠黏膜病变和中毒性肠麻痹,改善胃肠黏膜血

流灌注,促进胃肠黏膜细胞消化、分泌和吸收功能,恢复、提高对胃肠营养的耐受,并且不良反应少,可早期应用于严重胸腹多发伤术后,提高治愈率,减少并发症的发生,降低病人的痛苦及住院时间和费用。

References:

- [1] Chen D C, Jing B W, Zhang X Y, *et al.* Protective effect of rhubarb on intestinal mucous membrane [J]. *Chin Crit Care Med* (中国危重病急救医学), 1994, 6(6): 329-330.
- [2] Chen D C, Jing B W, Yang X Y, *et al.* The curative effect of rhubarb on gastrointestinal failure [J]. *Med J Chin PLA* (解放军医学杂志), 1996, 21(1): 24-26.
- [3] Tamion F, Richard V, Lyoumi S, *et al.* Gut ischemia and mesenteric synthesis of inflammatory cytokines after hemorrhagic or endotoxic shock [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: G314-G321.
- [4] Hierholzer C, Kalff J C, Chakraborty A, *et al.* Impaired gut contractility following hemorrhagic shock is accompanied by IL-6 and G-CSF production and neutrophil infiltration [J]. *Dig Dis Sci*, 2001, 46: 230-241.
- [5] Yeo Y M, Redl G, Bahrami S, *et al.* The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47: 201-210.
- [6] Rowlands B J, Gardiner K R. Nutritional modulation of gut inflammation [J]. *Proc Nutr Soc*, 1998, 57: 395-401.

(上接第1823页)

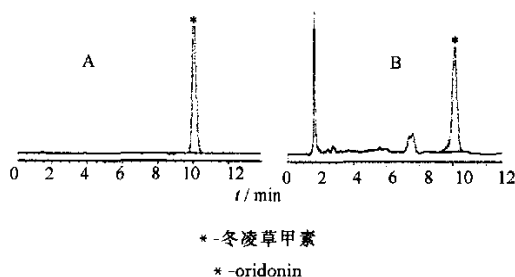


图1 冬凌草甲素对照品(A)和冬凌草(B)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of oridonin reference substance (A) and *R. rubescens* (B)

3.2 将超声技术用于冬凌草的提取,具有提取快速、完全,有效成分的提取率高,实验设备简便,操作简单,节省溶剂和能源,无需加热,可避免高温对热敏性

成分的破坏,为一种简便、快速、高效的提取方法。

References:

- [1] Liu C J, ZHao Z H. Advances in research of *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1998, 33(10): 577-581.
- [2] Yuan K, Hu R H, Zhen X K, *et al.* Determination of oridonin in *Rabdosia rubescens* by TLC-scanning method [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1997, 20(5): 242-243.
- [3] Yuan K, Hu R H, Yang Y, *et al.* TLC in quantitative determination of oridonin and ponocidin in the leaves of *Rabdosia rubescens* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1998, 33(10): 611-613.
- [4] Lu Y H, Liu G J, Li M R, *et al.* Determination of oridonin in leaves and stems of *Blushred Rabdosia* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(6): 390-394.
- [5] Ji C R, Yuan K, Hu R H, *et al.* Research for effect of the content of oridonin in compound *Rabdosia rubescens* Buccal Tablets by different preparation processes [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(12): 620-622.

美国 ALPHA 实验室认可
美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素≥95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-66237098; 66237092

传真: 0086-022-66227093

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津经济技术开发区第十二大街