这样也可延长 C_{18} 柱的使用寿命。当流动相加入一定浓度三乙胺和离子对试剂（如己烷磺酸钠）时，基线无明显变化，说明所测定的 5 个生物碱在 pH 值大于 7.0 时对离子对试剂己烷磺酸钠或辛烷磺酸钠不敏感，可以在流动相中不加或低浓度添加离子对试剂。氯化两面针碱在不同 pH 值流动相中保留时间有很大差异，比如在保证分离的情况下，稍微提高流动相酸性可使其提前出峰。通过优化选择试验，选择流动相为甲醇-水（含三乙胺 0.01% 和冰醋酸 0.000 5%，pH 7.6～7.8），梯度洗脱。

通过对样品在 190～400 nm 的三维色谱图和 5 个对照品最大吸收波长的分析，先选择 4 个不同波长进行检测，分别是 294、284、271 和 254 nm，再对 4 个波长下的色谱图进行比较，发现 271 nm 下检测氯化两面针碱和去-*N*-甲基白屈菜红碱吸收最大，选作检测波长，其余 3 种生物碱选择 254 nm 作为检测波长。

本实验应用反相高效液相色谱法成功建立了两面针中 5 种生物碱的测定方法。与以往文献报道的方法[3～5]相比，本研究的特点在于可同时对两面针中多种生物碱进行定量分析，方法简单、灵敏度高。此方法可应用于两面针药材及提取物的质量控制，并为其量效关系的研究提供依据。此法还可进一步用来测定花椒属其他植物中这 5 种生物碱的量。

References:

[1] Wang Y, Ju Y, Wang Z. Recent progress in bioactive constituents from plants of *Zanthoxylum* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(7): 666-670.

[2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol Ⅰ. 2000.

[3] Chen J, Duan G L, Huang J M. Determination of nitidine chloride in *Zanthoxylum nitidum* by RP-HPLC [J]. *J Fudan Univ: Med Sci* (复旦学报: 医学科学版), 2001, 28(5): 436-437.

[4] Zhang S Y, Wang G F, Zou H Q. Determination of nitidine chloride in *Zanthoxylum nitidum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(7): 445-446.

[5] Zhang S Y, Yao X F, Liu C F. Determination of nitidine in different parts of *Zanthoxylum nitidum* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(9): 649-650.

[6] Liao L, Li G S, Li J B. Chemical constituents of *Z. myriacanthum* and chemotaxonomy of *Zanthoxylum* [J]. *Acta Sci Nat Univ Pek* (云南植物研究), 1988, 10(4): 445-456.

[7] Lu Y C, Jin S, Xing Q Y. The chemical constituents of *Zanthoxylum austrosinense* Huang [J]. *Acta Univ Pek: Nat Sci* (北京大学学报: 自然科学版), 1988, 24(2): 245-247.

[8] Chakravarty A K, Sarkar T, Masuda K, *et al*. Carbazole alkaloids from roots of *Glycosmis arborea* [J]. *Phytochemistry*, 1999 (50): 1263-1266.

[9] Wueratne E M K, Hatanaka Y, Kikuchi T, *et al*. A dioxoaporphine and other alkaloids of two annonaceous plants of Sri Lanka [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42: 1703.

[10] Suess T R, Stermitz F B. Alkaloids of Mahonia repens with a brief review of previous work in the genus *Mahonia* [J]. *J Nat Prod*, 1981, 44(6): 680-687.

HPLC 法测定丹参中丹酚酸 B

赵洪芝[1]，卢 滨[2]，高 钧[2*]，祝国光[2]，元英进[1]

（1. 天津大学化工学院 制药工程系，天津 300072；2. 天士力集团有限公司，天津 300402）

丹参是唇形科植物 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的根，为常用中药，性微寒、味苦，归心、肝经；具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦等功能[1]。我国应用丹参已有近 2000 年的悠久历史，始载于东汉《神农本草经》，列为上品[2]。丹参有效成分主要有水溶性的酚酸类，包括丹参素、丹酚酸 B 等；脂溶性的二萜醌类，包括丹参酮 $ⅡA$ 等。其中，主要水溶性成分丹酚酸 B（salvianolic acid B）为三分子丹参素与一分子咖啡酸缩合而成[3]，对其的测定方法已有文献探讨[4]，但对丹参药材中丹酚酸 B 量的集中范围进行大规模考察还未见报道。本实验对 80 个丹参样品进行测定，并对数据进行归纳总结。

1 仪器、试剂和药材

Aglient 1100 series 高效液相色谱仪，配置自动进样器、二级管阵列检测器、柱温箱。乙腈（色谱纯，美国 Merck）；甲醇（色谱纯，美国 Merck）；甲酸（分析纯，中国医药集团上海化学试剂公司）；超纯水。丹酚酸 B 对照品（中国药品生物制品检定所，批号为 111562-200302）。

本实验所使用丹参药材经天津天士力集团研究院现代中药研究所魏峰博士鉴定。其中，安徽亳州药材市场购 9 份，标为亳州药市 1～9 号；成都荷花池药材市场购 19 份，标为荷花池药市 1～19 号；安徽广德药材公司购 3 份，标为广德药材公司 1～3 号；

* 收稿日期：2005-03-10

作者简介：赵洪芝（1981—），女，2003 级硕士研究生。E-mail: zhao_hong_zhi@126.com

* 通讯作者 高 钧 Tel: (022) 26736533 Fax: (022) 26736053 E-mail: gaojun1969@hotmail.com

河北安国药材市场购 11 份, 标为安国药市 1～ 11 号; 河南禹州药材市场购 21 份, 标为禹州药市 1～ 21 号; 山东鄄城药材市场购 1 份, 标为鄄城药市 1 号; 陕西汉中药材市场购 10 批药材, 标为汉中 1～ 10 号; 重庆解放西路药材市场购 6 份, 标为解放西路药市 1～ 6 号。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax SB C_{18}柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水 (30∶10∶1∶59); 体积流量 0.8 mL/min; 波长 286 nm, 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。理论板数按丹酚酸B 峰计算, 应不低于 5 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取丹酚酸B 对照品 1.16 mg, 用 10 mL 量瓶定容, 得丹酚酸B 对照品溶液 0.116 mg/mL。

2.3 标准曲线的绘制及线性范围: 取对照品溶液, 分别进样 2、6、8、12、16、20 μL, 按实验色谱条件测定, 记录色谱图及峰面积。以丹酚酸B 的进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 求出回归方程为 $Y = 1.709X - 4.303$, $r = 0.999\,8$, 线性范围为 0.23～ 2.32 μg。

2.4 供试品溶液的制备: 取丹参药材粉碎, 过 40 目筛, 精密称取丹参药材粉末 0.2 g, 加入 75% 甲醇 50 mL, 加热回流 1 h, 过 0.45 μm 滤膜, 即可。

2.5 精密度试验: 取表 1 中 1 号样品, 按 2.4 项供试品溶液制备方法操作, 按 2.1 所述色谱条件, 连续进样 6 次, 丹酚酸B 峰面积的 RSD 为 0.6%。

2.6 稳定性试验: 表 1 中 1 号样品, 按 2.4 项供试品溶液制备方法操作, 分别在 0、3、6、9、12、24、36、48 h 进行测定, 丹酚酸B 峰面积的 RSD 为 0.9%, 表明样品在 48 h 内稳定。

2.7 重复性试验: 取表 1 中 1 号样品, 按 2.4 项供试品溶液制备方法操作, 平行制备 6 份溶液, 按 2.1 所述色谱条件进行测定, 丹酚酸B 的峰面积的 RSD 为 2.8%。

2.8 加样回收试验: 精密称取表 1 中 13 号样品 6 份, 每份 0.2 g, 分别精密加入丹酚酸B 对照品溶液 10 mL, 按 2.4 项供试品溶液制备方法操作, 按 2.1 项所述色谱条件进行测定, 得平均回收率为 103.8%, RSD 为 2.9% ($n = 6$)。

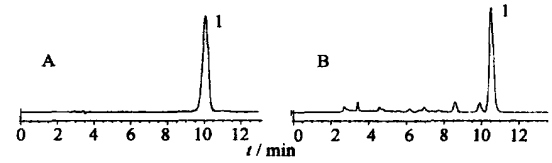
2.9 样品测定: 按上述方法对 80 个丹参样品进行测定, 并计算丹参中丹酚酸B 的量, 色谱图见图 1。结果见表 1。

如表 1 所示, 各药市的丹参中丹酚酸B 量最大值为 8.38%, 最小值为 1.26%, 并可计算出平均值为 4.62%。其中, 低于或等于 3.00% 的样品有 7 个, 占样品总数的 8.75%, 3.00%～ 3.99% 的有 13

表 1 丹参样品测定结果

Table 1 Determination of sample of S. miltiorrhizae

样品号	药材标号	丹酚酸/%	样品号	药材标号	丹酚酸/%
1	亳州药市 1 号	5.13	41	安国药市 10 号	4.16
2	亳州药市 2 号	4.17	42	安国药市 11 号	3.41
3	亳州药市 3 号	6.65	43	禹州药市 1 号	6.96
4	亳州药市 4 号	5.29	44	禹州药市 2 号	4.21
5	亳州药市 5 号	4.79	45	禹州药市 3 号	1.26
6	亳州药市 6 号	6.31	46	禹州药市 4 号	6.31
7	亳州药市 7 号	6.14	47	禹州药市 5 号	4.09
8	亳州药市 8 号	4.52	48	禹州药市 6 号	5.71
9	亳州药市 9 号	4.22	49	禹州药市 7 号	5.87
10	荷花池药市 1 号	5.73	50	禹州药市 8 号	8.38
11	荷花池药市 2 号	4.94	51	禹州药市 9 号	4.85
12	荷花池药市 3 号	5.12	52	禹州药市 10 号	6.48
13	荷花池药市 4 号	3.41	53	禹州药市 11 号	3.68
14	荷花池药市 5 号	2.89	54	禹州药市 12 号	5.43
15	荷花池药市 6 号	3.54	55	禹州药市 13 号	4.79
16	荷花池药市 7 号	4.63	56	禹州药市 14 号	7.53
17	荷花池药市 8 号	3.43	57	禹州药市 15 号	5.54
18	荷花池药市 9 号	5.57	58	禹州药市 16 号	3.62
19	荷花池药市 10 号	5.95	59	禹州药市 17 号	3.90
20	荷花池药市 11 号	5.53	60	禹州药市 18 号	2.92
21	荷花池药市 12 号	4.29	61	禹州药市 19 号	4.04
22	荷花池药市 13 号	4.25	62	禹州药市 20 号	4.41
23	荷花池药市 14 号	2.62	63	禹州药市 21 号	4.00
24	荷花池药市 15 号	2.28	64	鄄城药市 1 号	2.00
25	荷花池药市 16 号	4.43	65	汉中药市 1 号	4.05
26	荷花池药市 17 号	4.20	66	汉中药市 2 号	4.07
27	荷花池药市 18 号	4.67	67	汉中药市 3 号	6.63
28	荷花池药市 19 号	4.47	68	汉中药市 4 号	4.72
29	广德药材公司 1 号	4.51	69	汉中药市 5 号	5.78
30	广德药材公司 2 号	4.75	70	汉中药市 6 号	4.25
31	广德药材公司 3 号	3.65	71	汉中药市 7 号	6.06
32	安国药市 1 号	5.61	72	汉中药市 8 号	4.51
33	安国药市 2 号	5.06	73	汉中药市 9 号	5.99
34	安国药市 3 号	5.02	74	汉中药市 10 号	5.11
35	安国药市 4 号	4.60	75	解放西路药市 1 号	3.57
36	安国药市 5 号	5.80	76	解放西路药市 2 号	3.24
37	安国药市 6 号	3.34	77	解放西路药市 3 号	3.69
38	安国药市 7 号	3.82	78	解放西路药市 4 号	2.01
39	安国药市 8 号	4.29	79	解放西路药市 5 号	4.00
40	安国药市 9 号	4.04	80	解放西路药市 6 号	4.54



1-丹酚酸B

1-salvianolic acid B

图 1 丹酚酸B 对照品 (A) 与 8 号丹参样品(B)色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of salvianolic acid (A) and sample 8 (B)

个, 4.00%～4.99%的有 32 个, 5.00%～5.99%的有 18 个, 6.00%～6.99%的有 8 个, 7.00%以上的有 2 个样品。可以看出大多数药材中的丹酚酸B 的量集中在 3.00%～5.99%, 而小于 3.00%的样品可视为丹酚酸B 量偏低, 超过 6.00% 的样品可视为量较高的。另外, 从图 2 可以看出, 样品的量基本符合正态分布。

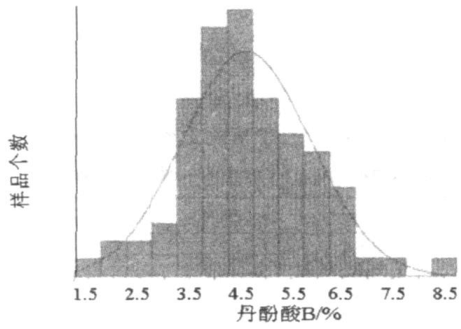


图 2 数据分布柱状图及正态分布曲线

Fig. 2 Histogram and normal curve

3 讨论

3.1 本实验还选择了几种不同的流动相系统, 甲醇-水(醋酸调成不同 pH 值)、乙腈-水(磷酸调成不同 pH 值)。结果表明: 甲醇-乙腈-甲酸-水 (30∶10∶1∶59) 为最佳, 丹酚酸B 分离情况较好, 保留时间较短。

3.2 经二级管阵列检测器 190～400 nm 扫描, 从丹酚酸B 紫外扫描图, 可以看出丹酚酸B 在 286 nm 有明显的吸收峰值, 因此检测波长的选择为 286 nm。

3.3 本实验收集了大量的丹参样品, 所得数据具有一定的代表性, 能够在一定程度上说明丹参药材中丹酚酸B 量集中范围。但中药成分复杂, 本实验只考察了丹参样品中的丹酚酸B 的量, 至于其他成分还有待实验考察。

References:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol Ⅰ. 2000.

[2] Ling H Y, Lu X Z H, Zhao Y L, *et al*. The survey on the research of Water-soluble components of Chinese medicine "Danshen" [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11(1): 75-81.

[3] Ai Q. Chemical constituents and pharmacological effects of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Chin J Med Writing* (中华医学写作杂志), 2003, 10(9): 847-849.

[4] Cheng X F, Wang F, Feng Y F, *et al*. Determination of salvianolic acid B in *Radix Salvia Miltiorrhiza* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(2): 149-150.

HPLC 法测定草豆蔻中小豆蔻明

谭洁珍, 李杰明*

(美晨集团股份有限公司, 广东 广州 510075)

草豆蔻为姜科植物草豆蔻 *Alpinia katsumadai* Hayata 的干燥近成熟种子。气香, 味辛、微苦, 性温。归脾、胃经。具燥湿健脾、温胃止呕功效。用于治疗寒湿内阻、脘腹胀满冷痛、嗳气呕逆、不思饮食[1]。种子含黄酮类化合物: 小豆蔻明 (cardamomin)、山姜素 (alpinetin)、鼠李柠檬素 (rhamnocitrin); 及挥发油, 油中含 α-[illegible]草烯 (α-humulene)、反-金合欢醇 (trans-farnesol) 等[2]。

1 仪器与试药

日本岛津 LC—6A 高效液相色谱仪; 浙江普惠 SEPU 3000 色谱工作站; 甲醇 (MERCK) 色谱纯; 高纯水; 其余试剂均为分析纯。

对照品小豆蔻明由中国药品生物制品检定所提供, 批号 763—9001。草豆蔻为海南省万宁县生产的草豆蔻, 经广州美晨药业公司中药研究室鉴定为草豆蔻 *Alpinia katsumadai* Hayata。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为大连依利特 Hypersil BDS 柱 (250 mm × 4.6 mm); 流动相为甲醇-水 (75∶25); 检测波长 343 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量为 10 μL。色谱图见图 1。

2.2 供试品溶液的制备: 将草豆蔻药材粉碎并过 40 目筛, 备用。精密称取干燥的药材粉末 0.2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量; 加热回流 20 min, 放冷, 密塞, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 将续滤液用 0.45

* 收稿日期: 2005-03-24

作者简介: 谭洁珍 (1961—), 女, 广东广州市人, 高级实验师, 从事质量检验和中药质量研究工作。
Tel: (020) 37607861 E-mail: oscarroom@126.com