

表 1 苦碟子中腺苷的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of adenosine
in *I. sonchifolia* ($n=3$)

样品标号	药材来源	腺苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	吉林	0.060
2	辽宁抚顺(5月初)	0.131
3	辽宁抚顺(6月初)	0.099
4	辽宁抚顺(7月初)	0.088

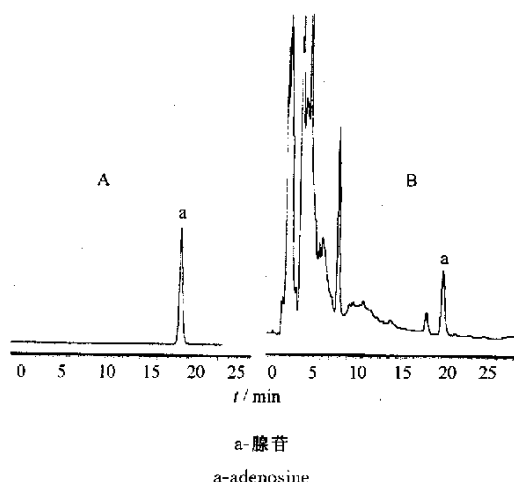


图 1 腺苷对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

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

测定。由表 1 可见,不同产地的苦碟子药材中腺苷的量有一定差别,相同产地不同采收期的药材中腺苷的量也不同。

3.2 流动相的选择:本实验曾试过不同的流动相系统,结果甲醇-水系统即可获得较好峰形;而甲醇比

例的微小变化就会明显影响分离效果,经过优化后选定甲醇-水(9:91)作为流动相,得到了满意的分离效果。

3.3 提取溶剂的选择:本实验分别以水,甲醇,30%、50%、70%、90%的甲醇和 30%、50%、70%、90%的乙醇作为提取溶剂提取腺苷,平行操作。结果发现,水的提取效果明显优于其他溶剂,故选择水作为提取溶剂,简单方便。

3.4 提取方法的选择:本研究对回流、冷浸、超声波提取法进行了比较,结果表明冷浸法的提取效率最低,回流法和超声波法的提取率无显著差别,由于超声法操作简便,快速,故本研究采用超声提取法。

3.5 提取工艺的优化:本研究采用正交试验设计优化腺苷的提取工艺。选择提取溶剂用量,提取次数,提取时间 3 个因素,每个因素 3 个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,以腺苷的量为考察指标,对正交试验的结果进行直观和方差分析,最后选定最佳提取工艺为 50 倍量水,超声提取 1 次,30 min。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Wang L, Chen M Q, Sui D Y, et al. The protective effects of Diemaling Injection on experimental myocardial infarction in dogs [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2002, 22 (2): 80-82.
- [3] Zheng X K, Feng W S, Bi Y F, et al. Determination of adenosine in *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring by RP-HPLC [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai* (上海中医药大学学报), 2003, 17 (2): 42-44.

RP-HPLC 法测定天葵子中东方唐松草苷

牛 锋^{1,2}, 张国恩¹, 崔 征², 陈发奎², 屠鹏飞^{1,2*}

(1. 北京大学药学院 天然药物化学系, 北京 100083; 2. 沈阳药科大学中药学院 生药教研室, 辽宁 沈阳 110016)

天葵子为《中国药典》2005 版一部收录的中药品种之一, 是毛茛科植物天葵 *Semiaquilegia adoxoides* (DC.) Makino 的干燥块根, 具有清热解毒、消肿散结、利水通淋等功效, 用于痈肿疔疮、乳痈、瘰癧、毒蛇咬伤、热淋、砂淋。天葵子主要含生物碱、内酯、香豆素、酚酸及苷类化合物^[1,2]。东方唐

松草苷为硝基酚苷类成分, 在一般植物中比较少见^[3], 但在天葵子中的量较高。为了有效控制天葵子的质量, 本实验采用 HPLC 法建立了天葵子中东方唐松草苷的定量分析方法。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪; 四元泵, 在线脱

收稿日期: 2005-06-20

基金项目: 国家“十五”重大科技专项创新药物与中药现代化(2004AA2Z3730)

作者简介: 牛 锋(1977—), 内蒙古乌海人, 博士研究生, 主要从事天然药物化学和中药质量研究工作。

E-mail: niufeng0828@yahoo.com.cn

* 通讯作者 屠鹏飞 Tel: (010) 82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

气机,自动进样器,柱温箱,二极管阵列检测器(DAD),Agilent 1100 化学工作站。

东方唐松草苷对照品,自制,化学结构经 mp、UV、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、MS 鉴定核实,HPLC 检查质量分数 98% 以上。水为双重蒸馏水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。天葵子购于不同产地,由北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为天葵 *S. adoxoides* (DC.) Makino. 的干燥根根。

2 方法和结果

2.1 液相色谱条件:色谱柱:Kromasil C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),流动相:乙腈-水(15:85);检测波长:220 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;灵敏度:1.0 AUFS。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的对照品东方唐松草苷 10.00 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解制成 0.40 mg/mL 的对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取天葵子药材粉末(过 40 目筛) 2 g,置 100 mL 圆底烧瓶中,加甲醇 20 mL,加热回流 30 min,放冷,滤过,残渣再加入甲醇 20 mL,回流 30 min,放冷,合并滤液,浓缩,转移置 25 mL 量瓶中,用少量甲醇洗涤残渣及所用容器,定容至 25 mL。进样前过 0.2 μm 微孔滤膜,即得。

2.4 标准曲线制备:分别精密吸取东方唐松草苷对照品储备液 0.1、0.2、2、4、5 mL 加甲醇定容至 10 mL,分别精密吸取 6 个质量浓度的对照品溶液 10 μL ,注入液相色谱仪,测定峰面积。以质量浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标作图,得回归方程为 $Y = 10\,944 X + 0.716$, $r = 1.000$,线性范围 0.004~0.4 mg/mL。

2.5 精密度试验:取河北安国产样品制备的供试品溶液连续进样 6 次,每次进样 10 μL ,测定东方唐松草苷的峰面积,计算得其 RSD 为 1.38%。

2.6 稳定性试验:取河北安国产样品制备的供试品溶液分别于 0、0.5、1、1.5、2、18 h 注入液相色谱仪,测定东方唐松草苷的峰面积,计算得其 RSD 为 1.43%。

2.7 重现性试验:取河北安国产样品 6 份,分别制备成供试品溶液,测定东方唐松草苷的质量分数,计算得其 RSD 为 1.62%。

2.8 加样回收率试验:精密称取天葵子药材粉末 9 份,每份 1 g,分别加入 0.35、0.70、1.40 mg/mL 东方唐松草苷对照品溶液各 1 mL,每个水平测定 3 份样品,制备供试品溶液,测定,计算得平均回收率为

98.5%,RSD 为 2.48%。

2.9 样品测定:按照供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,每次进样 10 μL ,测定了不同产地的天葵子药材,色谱图见图 1,测定结果见表 1。

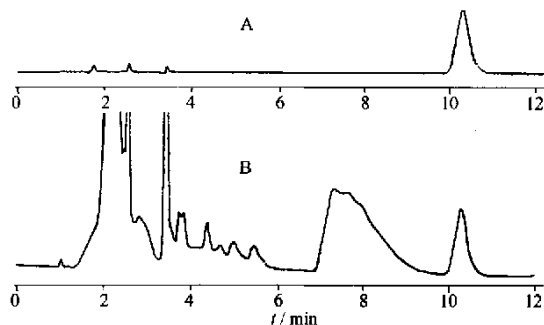


图1 东方唐松草苷对照品(A)和天葵子(B)HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of thalictricoside reference substance (A) and *S. adoxoides* (B)

表1 不同产地天葵子中东方唐松草苷的测定结果 ($n=4$)

Table 1 Determination of thalictricoside in roots of *S. adoxoides* ($n=4$)

产地	东方唐松草苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	产地	东方唐松草苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
辽宁沈阳(购)	1.06	江苏南京	0.54
湖北武汉	0.87	北京同仁堂(购)	0.36
吉林长春(购)	0.69	安徽亳州	0.54
安徽合肥	0.92	湖南长沙	0.87
河北安国	0.70	广西南宁	0.69

3 讨论

3.1 由于东方唐松草苷的量较低,在提取过程中,少量多次的洗涤残渣和所用容器比较重要,以免造成测定误差。

3.2 流动相的选择分别考察了甲醇-水,甲醇-酸水,乙腈-水等系统,最终确定乙腈-水为最佳洗脱系统。

3.3 著名方剂五味消毒饮中天葵子是主要配伍用药。天葵子的化学成分报道较少,质量控制尚未见报道。本实验采用高效液相色谱法对天葵子中特征性的硝基酚苷类成分东方唐松草苷进行了测定,方法简便,结果可靠,为天葵子药材、天葵子提取物及含天葵子的复方的质量评价提供了可靠的方法。

References:

- [1] Han Q B, Liu Y Z. Constituents from the roots of *Semiaquilegia adoxoides* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72, 86-88.
- [2] Zhang H, Liao Z X, Yue J M. Cyano- and nitro-containing compounds from the roots of *Semiaquilegia adoxoides* [J]. *Chin Chem* (中国化学), 2004, 22, 1200-1203.
- [3] Erdemgil F Z, Baser K H C. Thalictricoside, a new phenolic compound from *Thalictrum orientale* [J]. *Biosciences*, 2003, 58 (9/10): 632-636.