

福建建设, 23-乙酰泽泻醇 B 质量分数为 0.113%) 0.50 g, 共 9 份, 分别精密加入对照品溶液 (22.0 $\mu\text{g/mL}$) 0.5、2.0、3.5 mL, 按 2.2 项下方法制备并测定, 每份溶液重复进样 3 次, 平均回收率为 98.98%, RSD 为 1.10% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 取不同产地的泽泻药材与饮片按 2.2 项下方法制备供试品溶液并按上述色谱条件测定, 用三点法 (4.4、22.0、110.0 $\mu\text{g/mL}$) 建立的随行标准曲线计算, 结果见表 1。不同产地泽泻药材中 23-乙酰泽泻醇 B 的平均质量分数为 0.140%, 饮片 中 23-乙酰泽泻醇 B 的平均质量分数为 0.0626%。

表 1 不同产地泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B ($n=3$)

Table 1 Content of 23-acetyl alisol B in *Rhizoma Alismatis* from different habitats ($n=3$)

样品	品名	产地	23-乙酰泽泻醇 B/%
1	泽泻饮片	福建	0.096
2	泽泻饮片	广西	0.044
3	泽泻饮片	四川	0.039
4	泽泻药材	福建建设	0.113
5	泽泻药材	福建龙海	0.100
6	泽泻药材	江西广昌	0.160
7	泽泻药材	江西广昌	0.162
8	泽泻药材	江西广昌	0.166

3 讨论

在样品溶液的制备中用正交试验法比较了不同溶剂 (甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯)、超声提取时间 (10、20、30、40 min) 和提取次数的提取效率, 最终确定甲醇 (每次 10 mL) 超声提取 2 次, 每次 20

min 提取效果最好。

本实验用 ELSD 对 23-乙酰泽泻醇 B 进行测定, 可以避免紫外末端检测时流动相带来的干扰。

本实验考察了甲醇-水-四氢呋喃 (75:22:3), 不同比例的甲醇-水、乙腈-水, 发现在甲醇-水 (84:16) 为流动相的条件下, 23-乙酰泽泻醇 B 与相邻峰的分离良好。测定结果表明: 不同产地泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B 的量差异较大。药材与饮片中 23-乙酰泽泻醇 B 的量差异显著, 其原因有待于进一步研究。

References:

- [1] Xu H. Advances in research of pharmacological activities of *Rhizoma Alismatis Orientalitis* [J]. *J Hunan Tradit Chin Med* (湖南中医杂志), 2004, 20(3): 77-78.
- [2] Duan Q, Gong Q F, Wang S J, et al. Study on preparing process and quality standard for *Rhizoma Alismatis Orientalitis* [J]. *J Shaanxi Coll of Tradit Chin Med* (陕西中医学院学报), 2004, 27(3): 51-52.
- [3] Guo S H, Wu S S, Yang P K, et al. Determination of alisol B in *Rhizoma Alismatis Orientalitis* by thin-layer chromatography densitometry [J]. *J Fujian Coll Tradit Chin Med* (福建中医学院学报), 2003, 13(5): 23-25.
- [4] Wen H M, Peng G P, Chi Y M, et al. Quality standard study of *Rhizoma Alismatis*-determination of 2 alisol in *Rhizomes Alismatis* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18(6): 375-377.
- [5] Wang L X, Wu Q N, Peng G P. A study on determination of content of 23-acetyl alisol B in *Rhizoma Alismatis* [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2002, 18(3): 105-107.

我国不同产地牛至中麝香草酚和香荆芥酚的分析

刘红兵, 孙丽娟, 许汉林, 刘焱文*

(湖北中医学院, 湖北 武汉 430061)

牛至 *Origanum vulgare* L. 为唇形科牛至属多年生草本植物, 收载于《中国药典》1977 年版和 1993 年版《湖南中药材质量标准》, 主要分布于湖北、湖南、河南、新疆、甘肃、陕西及江南各省区, 欧亚、北非亦有分布^[1], 是一种分布广泛的植物品种。本品性凉, 味辛, 无毒^[2], 具有清热解表、利水消肿的功效。主治中暑、感冒、头痛身痛、急性胃肠炎、腹痛吐泻、水肿等症^[3]。牛至主要有效部位为挥发油类物

质, 其主要抗菌成分为香荆芥酚 (carvacrol) 和麝香草酚 (thymol)。湖北中医学院与湖北福人药业采取产、学、研结合的方式, 将中药牛至开发为原中药二类新药。为了保证牛至药材的质量, 本课题组于 2004 年对湖北、湖南、江西、安徽、河北、甘肃、浙江、云南、四川等 9 省 18 县市作现场实地调查, 采集标本与样品。并对所采集样品中有效成分香荆芥酚与麝香草酚进行测定, 为其质量控制提供有效的检测

收稿日期: 2005-09-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370148)

* 通讯作者 刘焱文 Tel: (027) 88920834 E-mail: ywliu@public.wh.hb.cn

方法,从而为评价不同产地牛至植物品质提供科学依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC—10AT VP 液相色谱系统 (LC—10AT VP 泵,SPD—10A VP 紫外检测器,CTO—10AS VP 柱温箱);N2000 色谱工作站 (浙江大学智能信息研究所);日本岛津 CIV—240IPC 紫外分光光度计;BP211D 电子分析天平 (西德 Sartorius)。香荆芥酚 (质量分数不低于 97%,Sigma-Aldrich 公司提供 lot: 407289/1 30301);麝香草酚 (中国药品生物制品检定所提供,批号 0840—P501);水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。牛至药材来源见表 1,经湖北中医学院中药鉴定教研室陈科力教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱;流动相:乙腈-水 (50:50);进样量 20 μL;体积流量:1.0 mL/min;柱温:40 ℃;检测波长:276 nm。

2.2 供试品溶液的制备:取本品粗粉 1 g,精密称定,加入乙腈 10 mL,超声提取 20 min,摇匀,滤过,滤液转移至 10 mL 量瓶中,定容,上清液用微孔滤膜 (0.20 μm) 滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备:取香荆芥酚和麝香草酚对照品适量,精密称定,加乙腈分别制成 2.0 和 1.6 mg/mL 的溶液,作为贮备液。精密量取香荆芥酚贮备液加乙腈制成 0.02、0.32 mg/mL 的溶液,作为香荆芥酚对照品溶液;精密量取麝香草酚贮备液加乙腈制成 0.019、0.32 mg/mL 的溶液,作为麝香草酚对照品溶液。

2.4 标准曲线的绘制:精密称取香荆芥酚和麝香草酚对照品 100.08 和 40.00 mg,分别置于 25 和 10 mL 量瓶中,加乙腈溶解并定容至刻度,作为贮备液。吸取两个贮备液,用乙腈稀释,制成 0.01、0.02、0.08、0.16、0.32 mg/mL 的溶液,精密量取上述溶液各 20 μL,注入色谱仪中测定,以香荆芥酚和麝香草酚对照品的量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算线性回归方程: $Y = 1\,859.2 + 189\,501.25 X$, $r = 0.999\,97$ 和 $Y = -794.39 + 188\,226.08 X$, $r = 0.999\,89$,结果表明,香荆芥酚和麝香草酚在 0.2~6.4 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取香荆芥酚对照品溶液 (0.08 mg/mL) 20 μL,重复进样 5 次,测得峰面积的 RSD 为 0.63% ($n = 5$),表明仪器的精密度

良好。

2.6 稳定性试验:分别取香荆芥酚和麝香草酚供试品溶液放置 0、1、2、4、6、8 h,精密吸取 20 μL,注入色谱仪中进行测定,香荆芥酚峰面积的 RSD 为 1.22% ($n = 6$),麝香草酚峰面积 RSD 为 1.03% ($n = 6$),表明本品供试品溶液中麝香草酚和香荆芥酚的量在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:精密称取同一批样品 6 份,按 2.2 项制备供试品溶液,测定,香荆芥酚质量分数的 RSD 为 0.71% ($n = 6$),麝香草酚质量分数的 RSD 为 0.70% ($n = 6$),表明本方法重现性良好。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取含香荆芥酚 0.135%,麝香草酚 0.471% 的样品 0.5 g 5 份,精密加入香荆芥酚对照品和麝香草酚对照品适量。按 2.2 项方法进行操作,测定,香荆芥酚的平均回收率为 98.35%,RSD 为 0.60% ($n = 5$);麝香草酚平均回收率为 102.72%,RSD 为 1.20% ($n = 5$);表明本品回收率好,方法可行。

2.9 样品测定:取不同产地同一时期 (2004 年 7 月中下旬) 的牛至药材 18 批,按供试品溶液制备项下方法操作,按上述色谱条件测定,并按外标两点法计算牛至药材中香荆芥酚、麝香草酚的量,结果见表 1。色谱图见图 1。

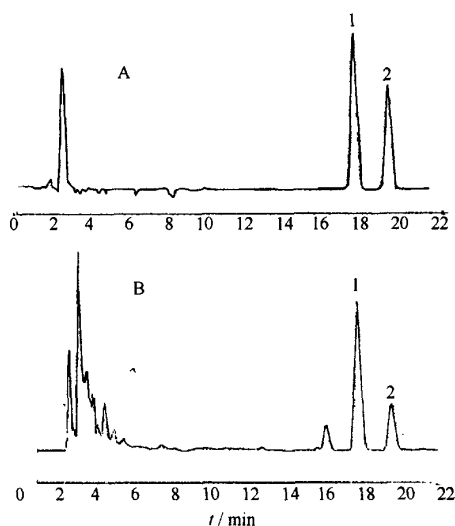
表 1 样品来源及其测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Origin and determination of samples ($n = 3$)

产地	香荆芥酚/%	RSD/%	麝香草酚/%	RSD/%	两者总量/%
湖北大冶	0.169	0.6	0.052	2.6	0.221
湖北麻城	0.135	1.5	0.471	2.2	0.606
湖北团风	0.140	1.5	0.485	2.1	0.625
湖北宜都	0.147	1.4	0.168	0.6	0.315
湖北罗川	0.239	0.5	0.101	2.0	0.340
湖南岳阳	0.180	0.6	0.067	2.1	0.247
江西九江	0.299	1.0	0.340	0.9	0.639
浙江丽水	0.099	2.1	0.639	0.4	0.738
安徽太湖	0.182	0.6	0.075	1.8	0.257
安徽岳西	0.084	2.2	0.154	0.5	0.238
安徽潜山	0.225	1.0	0.146	1.2	0.371
贵阳毕节	0.016	2.7	0.017	2.5	0.033
贵阳花溪	0.069	2.0	0.049	2.0	0.118
云南昆明	0.024	2.2	0.047	2.0	0.071
云南楚雄	0.267	0.5	0.041	1.6	0.308
四川	0.116	0.6	0.010	2.1	0.126
甘肃	0.070	2.1	0.059	2.2	0.128
河南洛阳	0.091	2.1	0.226	0.8	0.318

3 结论

3.1 牛至的有效成分香荆芥酚与麝香草酚互为同分异构体,在植物体内有一定转化关系,从整体上评价牛至品质将更为客观,本试验同时测定香荆芥酚与麝香草酚为综合评价牛至植物品质提供了一种准



1-香荆芥酚 2-麝香草酚
1-carvacrol 2-thymol

图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatogram of reference substances (A) and sample (B)

确、可靠的检测方法。

3.2 我国不同产地牛至中有效成分香荆芥酚与麝香草酚的量差异明显。从香荆芥酚来看,湖北、湖南岳阳、江西九江和安徽、云南部分产地的量较高;从麝香草酚来看,浙江丽水、江西九江和湖北部分地区的量高。综合分析湖北、湖南岳阳、江西九江、浙江丽水等地牛至中香荆芥酚与麝香草酚总量较高,品质较好。

3.3 牛至中有效成分与样品采集地的海拔高度有一定关系,产于海拔较低的牛至中香荆芥酚与麝香草酚的量相对较高。

References:

- [1] Beijing Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. *Iconographia Cormophytorum Sinicorum* (中国高等植物图鉴) [M]. Beijing: Science Press, 1974.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 1977.

RP-HPLC 法测定石榴皮中安石榴苷

李海霞¹, 张红岭¹, 刘延泽^{2*}, 杜 鹏¹

(1. 郑州大学药学院, 河南 郑州 450052; 2. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

石榴皮为石榴科植物石榴 *Punica granatum* L. 的干燥果皮, 在我国传统医药中主要用于久泻、出血、蛔虫等证。《中国药典》2005 年版规定石榴皮中鞣质不得低于 10%, 可见鞣质类成分是其主要成分, 此类成分的变化是影响石榴皮质量的主要因素; 并且石榴皮作为富含鞣质类成分的中药, 在近年来的研究中发现其总鞣质具有抗菌、抗病毒、抗癌、防治性病传播等特殊的药理活性^[1], 因此很有必要对石榴皮中鞣质类成分进行定性、定量。目前, 《中国药典》虽从 2000 年版的皮粉测定法发展到 2005 年版的没食子酸法测定总鞣质, 但尚缺乏特异性和特征性成分的测定。本试验以 RP-HPLC 法测定石榴皮中鞣质类成分安石榴苷 (punicalagin), 为科学评价石榴皮药材质量, 制定科学、规范、合理、可行的石榴皮质量控制标准提供依据。

1 仪器、试药与样品

Agilent 1100 型高效液相色谱仪; 四元泵、在线脱气机、柱温箱、自动进样器、G1315B 型 DAD 检测器 (Agilent 公司)。08892-26 型超声波仪器 (COLO-Parmer 仪器公司)。柱色谱用吸附剂: Toyopearl HW-40C (Tosoh 公司), Diaion HP-20 (Mitsubishi 公司)。安石榴苷对照品为自制, 用高效液相色谱测定质量分数大于 95%。甲醇、冰醋酸为色谱纯, 水为高纯水, 硼氢化钠与其余试剂均为分析纯。石榴皮药材由河南中医学院刘若塘教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-2% 冰醋酸 (5 : 95); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 232 nm; 柱温: 26 °C。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取安石榴苷对照品 2.1 mg, 置 1 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

收稿日期: 2005-08-20

作者简介: 李海霞 (1973—), 女, 河南平顶山人, 讲师, 硕士, 主要从事中草药活性成分及其制剂的研究。

Tel: (0371) 66658082 E-mail: lihx1024@zzu.edu.cn

* 通讯作者 刘延泽 E-mail: yanze_liu@hms.harvard.edu