取 5 次，前 3 次每次 50 mL，后 2 次每次 40 mL。合并醋酸乙酯提取液，回收醋酸乙酯，蒸干。15 g 氧化铝脱色，150 mL 甲醇-醋酸乙酯(2∶3)洗脱，回收溶剂。残渣加 50%甲醇溶解定容至 20 mL 量瓶，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，精密吸取滤液 0.5 mL，用 50%甲醇定容至 10 mL 量瓶，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察：精密吸取哈巴俄苷对照品溶液 0.25、0.50、1.50、2.50、3.50、4.50 mL 以 50%甲醇分别定容于 10 mL 量瓶中，精密进样 20 μL，测定峰面积。以进样量(X)为横坐标，峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线，经线性回归，得回归方程 $Y=338.89X-29.064$，$r=0.999\ 4$，结果表明哈巴俄苷在 1～18 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验：取同一份玄参胶囊供试品溶液，照上述色谱条件，精密进样 20 μL，连续重复进样 6 次，测定哈巴俄苷峰面积，计算得其 RSD 为 0.42%。

2.6 稳定性试验：吸取同一份玄参胶囊供试品溶液分别于 0、2、4、6、8、10 h 进样 20 μL，测定哈巴俄苷峰面积，计算得其 RSD 为 1.71%，表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 重现性试验：取同一批玄通胶囊各 5 份，制备各供试品液，按上述色谱条件进行测定，求得哈巴俄苷的平均质量分数为 99.54 μg/g，RSD 为 0.46%。

2.8 回收率试验：准确称取已测知哈巴俄苷质量分数的玄参胶囊内容物 6 份，各 0.5 g，分别按 120%、100%、80%水平加入哈巴俄苷对照品制备供试品溶液，进样测定，结果平均回收率为 97.08%，RSD 为 0.84%。

2.9 样品测定：取 5 批玄通胶囊制备供试品溶液，依法进样，测定，按外标法计算，结果见表 1。

表 1 玄通胶囊中哈巴俄苷的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of harpagoside in Xuantong Capsules ($n=3$)

编号	哈巴俄苷/(μg·g^{-1})	RSD/%
1	99.944	2.81
2	104.580	2.85
3	99.880	2.76
4	118.450	2.80
5	145.520	2.79

3 讨论

有报道玄参中哈巴俄苷的提取以甲醇-水(30∶70)超声提取 30 min 为宜，但根据本法回收率结果，用 80%乙醇回流提取，提取效果好，且操作更为简便。

洗脱剂中甲醇和醋酸乙酯的比例和用量要适当，避免哈巴俄苷洗脱不完全。样品要用 50%甲醇水溶液定容。若用甲醇定容，大量絮状物无法沉淀下来，干扰高效液相色谱的测定。

哈巴俄苷是糖苷，易吸潮，因此哈巴俄苷对照品要密封保存，需要时现配。

References:

[1] Wang J H, Xie L H, Liu H Y, *et al*.. HPLC Determination of hapargoside and cinnamic acid in Xuanshen after processed in different methods [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35 (6): 375-378.

[2] Cai S Q, Xie L H, Wang J H, *et al*. HPLC Determination of hapargoside and cinnamic acid in *Raidx Scrophulariae* [L]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20 (3): 191-194.

RP-HPLC 法测定花生仁、花生油和葡萄干中白藜芦醇

刘宏胜[1]，王金环[1]，徐新女[1]，王淑杰[1]，祁建滨，卜国云[1]，刘洪利[2]

(1. 天津市第一中心医院，天津 300192；2. 天津市药科中等专业学校，天津 300400)

白藜芦醇的化学名为芪三酚(3，5，4-trhydroxystilbene)。研究表明，白藜芦醇具有抗菌、抗炎、抗过敏、抗血栓作用，明显的抗氧化、抗自由基作用，对冠心病、高血脂的防治作用，抗癌、抗诱变的作用以及抑制肿瘤的产生。花生仁、花生油和葡萄干为常用食物，富含白藜芦醇，对人们的健康非常重要。因此本研究采用 RP-HPLC 法测定花生仁、花生油和葡萄干中白藜芦醇。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪，化学工作站；CX—250 超声波清洗器；909 型电热干燥箱；AE240S 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

乙腈为色谱纯，水为四蒸水，甲醇为分析纯；白

收稿日期：2005-10-18

藜芦醇对照品(中国药品生物制品检定所,质量分数 99.8%,批号 11535-200401);葡萄干为新疆无核绿葡萄干,花生油为福临门压榨一级花生油,花生仁为台伏花生。以上药材经刘洪利讲师鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱 Eclipse XDB-C_{18} 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温 30.6℃,流动相为乙腈-水(40∶60),体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 303 nm,进样量为 30 μL。

2.2 标准曲线的制备:精密称取白藜芦醇对照品 3.4 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,5 倍量倍比稀释,得到 340、68、13.6、2.72、0.544 μg/mL 的溶液。溶液过 0.45 μm 微孔滤膜(油膜),每次进样 30 μL,测定白藜芦醇的峰面积。以质量浓度(X)对色谱峰面积(Y)绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=58.934\ 2\ X-24.384\ 9$, $r=1.000\ 0$,线性范围为 0.544~340 μg/mL。

2.3 精密度试验:取白藜芦醇对照品溶液,每次进样 30 μL,连续进样 5 次,测定色谱峰面积,计算得其 RSD 为 1.6%。

2.4 重现性试验:取同一样品 5 份,制备供试品溶液,计算白藜芦醇质量分数,得葡萄干 RSD 为 1.9%,花生油为 2.0%,花生仁为 2.2%。

2.5 稳定性试验:取同一份供试品溶液,在 0、2、4、6、8、12、24 h 分别进样,记录白藜芦醇峰面积积分值。计算得葡萄干的 RSD 为 0.9%,花生油的 RSD 为 1.00%,花生仁的 RSD 为 0.8%。

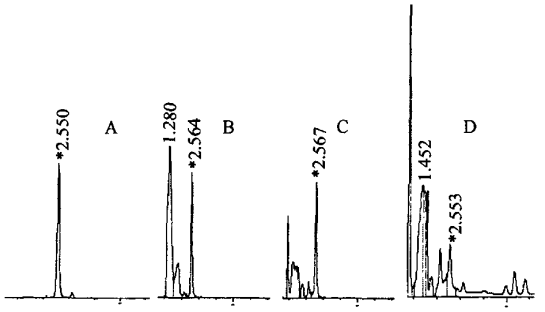
2.6 回收率试验:精密称取花生仁粉末和葡萄干各约 0.3 g,或精密吸取花生油 0.3 mL,置 10 mL 量瓶中,分别加入 13.6 μg/mL 白藜芦醇对照品溶液 1 mL,制备供试品溶液,测定,计算得平均回收率和 RSD,花生仁:98.10%,RSD 为 2.09% ($n=5$);花生油:97.66%,RSD 为 2.46% ($n=5$);葡萄干:96.86%,RSD 为 2.86% ($n=5$)。

2.7 样品测定:花生仁经过粉碎,过 60 目筛,50℃恒温干燥。精密称取葡萄干、花生仁 1.000 g 于 10 mL 量瓶中;或精密量取花生油 1 mL 于 10 mL 量瓶中,分别加入甲醇溶液适量,超声提取 40 min,定容,滤过,取续滤液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,溶液过 0.45 μm 微孔滤膜(滤 2 次)。各溶液每次进样 30 μL,测定峰面积,采用标准曲线计算样品中白藜芦醇的质量分数或质量浓度,测定结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 样品中白藜芦醇的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Results of contents of resveratrol in samples ($n=3$)

样品	白藜芦醇/(μg·g^{-1})
葡萄干 1	2.618 3
2	2.608 9
3	2.620 0
花生油 1	0.921 0
2	0.932 1
3	0.910 9
花生仁 1	2.631 3
2	2.621 9
3	2.640 6



*-白藜芦醇

*-resveratrol

图 1 白藜芦醇(A)、花生仁(B)、葡萄干(C)和花生油(D)

Fig. 1 HPLC Chromatograms of resveratrol reference substance (A), peanut (B), reasin (C), and groudnut oil (D)

3 讨论

本实验通过对样品的定量及回收率的测定,表明该方法可行,结果比较准确,线性关系良好。本实验方法简便,可靠,分离度较好,结果稳定,可用于花生仁、花生油和葡萄干中白藜芦醇的质量控制。