

流动相比较了采用乙腈分别与磷酸盐缓冲液、水、酸水的组合,发现以磷酸盐缓冲液与乙腈的组合相邻峰的分离度好,缓冲溶液 pH 值稳定,出峰的重现性好。采用梯度洗脱,保留时间恰当,分离效果理想。265 nm 波长检测,待测成分吸收强,能运用于更广泛范围的包含知母黄柏药对方剂的质量检测。

测定结果显示,用商品药材自制不同批次药对之间新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱的量存在一定的差异,主要与商品药材的质量差异、干燥程度相关。但从不同批次的药对提取与单味药材提取来看,两药材按 1:1 组合成药对用甲醇水溶液提取能一定程度促进新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱的析出,特别能增加芒果苷的提取率。提示知母黄柏药对临床应用不仅有其中医理论的基础,在化学物质有效成分的溶出上也有相互促进的作用,为更深入的研究药理配伍机制提供数据。

References:

- [1] Yoosook C, Bunyapraphatsara N, Boonyakiat Y, et al. Anti-herpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants [J]. *Phytomedicine*, 2000, 6(6): 411-419.
- [2] Yoshikawa M, Shimoda H, Nishida N, et al. *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats [J]. *J Nutr*, 2002, 132(7): 1819-1824.
- [3] Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, et al. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats [J]. *Toxicology*, 2002, 176(3): 165-173.
- [4] Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2001, 78(2-3): 133-137.
- [5] Hong Y H, Han G Y, Guo X M. Isolation and structure determination of xanthone glucosides of *Anemarrhena asphodeloides* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(6): 473-475.
- [6] Zheng H Y, Xu W R. Development of study on berberine's pharmacologic actions [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(6): 708-711.

RP-HPLC 法测定桑叶中 N-甲基-1-脱氧野尻霉素

孙 红,车庆明*,孟繁敏

(北京大学药学院,北京 100083)

桑叶是桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,性寒,味甘、苦,归肺、肝经。桑叶始载于《神农本草经》。《本草纲目》记载:“桑叶乃手足阳明之药,汁煎代茗,能止消渴,明目长发”。桑叶中的多糖、生物碱、黄酮、氨基酸等有不同程度的降糖作用,其中生物碱为主要降糖活性成分^[1,2]。Asano 等^[3]从桑叶中分离出 6 种氮杂糖类生物碱,并确定其结构;Kimura 等^[4]观察了以上 6 种生物碱对链脲佐菌素引起的糖尿病小鼠的降糖作用,结果 N-甲基-1-脱氧野尻霉素、GAL-DNJ、fagomnine 可显著降低血糖。桑叶为《中国药典》2005 年版品种之一,全国各地分布广泛,为保证药用桑叶质量,有效成分的监测十分重要。对桑叶中生物碱类成分的测定研究有文献报道采用高效液相-柱前衍生化荧光检测法^[5]和高效液相-蒸发光散射检测法^[6]测定桑叶中 1-脱氧野尻霉素。本实验采用 HPLC 法测定桑叶中 N-甲基-1-脱氧野尻霉素,结果表明该法稳定、重现性好,回收率

高,是检测 N-甲基-1-脱氧野尻霉素的有效方法。

1 实验材料

岛津 SPD-10A 型高效液相色谱仪;LC-10AD 紫外检测器;CBM-10A 泵;KQ-500 DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

桑叶产于河北、湖南、浙江、安徽,分别购自北京各大药房,经北京大学药学院艾铁民教授鉴定为桑 *M. alba* L. 的干燥叶;N-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品为本实验室自制,经¹H-NMR 和¹³C-NMR 鉴定结构,与文献报道^[7]一致,质量分数为 98%以上。

乙腈为色谱级,磷酸二氢钠和磷酸氢二钠为分析级,732 型阳离子交换树脂和 704 型阴离子交换树脂(上海树脂厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Prontosil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:pH 8.5 的磷酸盐缓冲液-

收稿日期:2006-03-14

作者简介:孙红(1978—),女,黑龙江人,北京大学医学部硕士研究生,研究方向为中药活性成分的定量分析。

E-mail:mdjredsunsh@126.com

* 通讯作者 车庆明 Tel:(010)82802468 E-mail:cheqingming2003@sina.com

乙腈(100:2);检测波长:203 nm;柱温:45 ℃;体积流量:0.6 mL/min;进样体积:20 μL。在此色谱条件下所得 HPLC 色谱图见图 1。

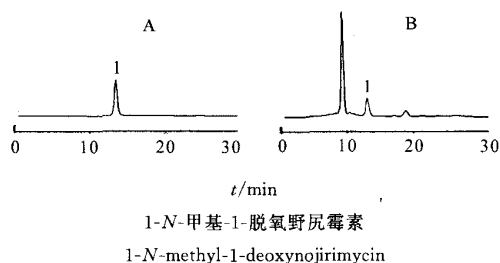


图 1 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品(A)和桑叶(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of *N*-methyl-1-deoxynojirimycin reference substance (A) and *M. alba* leaves (B)

2.2 对照品溶液制备:精密称取 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品 9.7 mg,置 50 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,作为对照品溶液储备液。

2.3 供试品溶液制备:取桑叶粉末 10 g(过 60 目筛),加 100 mL 去离子水煎煮提取 3 次,每次 2 h,提取液合并,浓缩至 50 mL,加入 150 mL 工业乙醇,充分振摇,静置过夜,滤除沉淀,滤液浓缩至干,加水 3 mL 溶解,用 1 mol/L HCl 调 pH 值至 2 后过 732 型阳离子交换树脂(15 cm×1.5 cm),水洗 60 mL 后,用 0.5 mol/L 氨水洗脱 70 mL,洗脱液浓缩至 1 mL,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 10 后再过 704 型阴离子交换树脂柱(15 cm×1.5 cm),水洗脱 50 mL,收集洗脱液,浓缩至干,置 25 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,作为供试品溶液。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后进样。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围:分别精密吸取 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品贮备液适量,加流动相稀释成 19.4、38.8、58.2、87.3、116、194 μg/mL 溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,备用。精密吸取 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品溶液 20 μL 进样测定。以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 38\,576 X - 65\,765$, $r = 0.999\,3$,结果表明 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素在 19.4~194 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.4.2 精密度试验:精密吸取 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品溶液 20 μL,重复进样 6 次,测定峰面积,计算得 RSD 为 1.51%。

2.4.3 重现性试验:取同一批样品(安徽)6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算 *N*-甲基-1-脱氧野尻

霉素的质量分数,结果其 RSD 为 1.94%。

2.4.4 稳定性试验:取同一份样品(安徽),制备供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样 20 μL,测定 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素的峰面积,计算得其 RSD 为 1.77%。结果表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验:取安徽产桑叶 9 份,分别精密加入 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素对照品 0.6、1.2、1.8 mg,制备供试品溶液,进样测定,计算得其平均回收率为 96.0%,RSD 为 2.17%。

2.5 样品的测定:取各地产桑叶,制备供试品溶液,进样 10 μL,测定 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素峰面积,采用标准曲线法计算样品中 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素的质量分数,结果见表 1。结果表明安徽产桑叶中 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素的量较低,而浙江产桑叶中有效成分的量较高。虽然品种相同,但由于产地不同,其生物碱的量差异较显著。

表 1 不同产地桑叶中 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of *N*-methyl-1-deoxynojirimycin in *M. alba* leaves from various habitats ($n=3$)

产 地	<i>N</i> -甲基-1-脱氧野尻霉素/(μg·g ⁻¹)
安徽	0.122
河北	0.137
湖南	0.186
浙江	0.231

3 讨论

在 190~400 nm *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素紫外扫描图谱显示,194 nm 处有最大吸收,并且在 190~210 nm 时波长越长噪音越小,但灵敏度也下降。为了保持一定的吸光度和合适的灵敏度,实验选择 203 nm 为检测波长。

用乙腈作为有机相,可减少紫外末端吸收的干扰,因此本实验对色谱条件进行了优化,比较了不同 pH 值的流动相对分离度的影响。结果表明,pH 8.5 的磷酸盐缓冲液-乙腈(100:2)作为流动相可以将 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素与其他成分很好地分离,同时加入磷酸盐缓冲液可以改善峰形。

由于紫外检测波长为 203 nm,杂质干扰严重,因此本实验采用离子交换树脂法对样品进行前处理,效果显著。

References:

- [1] Zhou X Y, Liao S T, Liu X M, et al. Study on effects of lowering blood glucose of granule of mulberry leaves [J]. *Guangdong Agric Sci* (广东农业科学), 2003, 6: 42-43.
- [2] Zou S Q, Chen W. Chemical constituent, activity and appli-

- cation progress of mulberry leaves [J]. *J Chem Ind Forest Prod* (林产化工通讯), 2003, 137: 22-25.
- [3] Asano N, Tomioka E, Kizu H, et al. Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bom bycis* [J]. *Carbohydr Res*, 1994, 253: 235.
- [4] Kfmura M, Chen F. Antihyperglycemic effects of *N*-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozoc induced diabetic mice [J]. *Wakanlyakugaku Zasshi* 1995, 12 (1): 214-219.
- [5] Jin-Won K. Determination of seasonal change of 1-deoxynojirimycin content in *Morus abla* leaves [J]. *Am Soc Plant Biol*, 2001, 39.
- [6] Jiang Y T, Chen J Y, Liu K. HPLC-ELSD Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(1): 27-29.
- [7] Asano N. *N*-Alkylated nitrogen-in-the-ring sugars, conformational basis of inhibition of glycosidases and HIV-1 replication [J]. *J Med Chem*, 1995, 38(13): 2349-2356.

正交试验优选垂盆草的提取工艺研究

李群力¹, 蒋晓萌^{2*}, 许玲玲¹, 麻佳蕾¹

(1. 金华学院医学院, 浙江 金华 321007; 2. 天津尖峰天然产物研究开发有限公司, 天津 300457)

垂盆草系景天科植物垂盆草 *Sedum sarmentosum* Bunge 的新鲜或干燥的全草, 味甘、淡、性凉, 具有清热解毒、利尿消肿、排脓生肌之效。垂盆草主要含有糖类、黄酮类^[1]、生物碱类^[2]、甾苷类成分^[3]。垂盆草具有抑制炎症渗出, 减少肝细胞损伤的作用, 能显著降低肝炎患者血清谷丙转氨酶^[4~6], 临床广泛用于急性肝炎、迁移性肝炎及慢性肝炎活动期的治疗。目前临床应用的垂盆草制剂如冲剂、颗粒剂、片剂等中有效成分的量差别很大^[7,8]。因此本实验考察了垂盆草的提取工艺, 以异鼠李素为指标, 采用正交试验法优选最佳提取工艺, 提高其提取率。

1 材料与仪器

垂盆草药材由杭州惠远实业有限公司提供, 批号 060331, 吴远文鉴定为垂盆草 *S. sarmentosum* Bunge 干燥的全草, 乙醇(化学纯), 甲醇、磷酸(分析纯), 异鼠李素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110860-200407)。

1004 型电子天平(上海天平仪器厂), 高速药材粉碎机(浙江金华华盛实业有限公司), BC-R501 旋转蒸发器(上海贝凯生物化工设备有限公司), Waters2487 高效液相色谱仪, 附有 2487 紫外分光检测器, Breeze 色谱工作站, 20 μ L 自动进样阀。

2 方法与结果

2.1 样品中异鼠李素的 HPLC 法测定^[9]

2.1.1 色谱条件: Diamonsil C₁₈ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-0.4%磷酸(55:45); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 360 nm; 灵敏度:

0.5 AUFS; 进样体积: 20 μ L。理论塔板数以异鼠李素计不低于 5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取异鼠李素对照品约 14.1 mg, 置于 250 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并加至刻度, 摇匀, 备用, 作为储备液。精密吸取储备液 6 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释成 13.5 μ g/mL 的异鼠李素对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备: 精密称取 0.4 g 干浸膏, 加入甲醇 20 mL 和 50% 盐酸 5 mL, 加热回流 1.5 h, 滤过, 滤液以 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 即得。

2.1.4 标准曲线的制备: 精密量取异鼠李素对照品储备液, 用流动相稀释为 2.82、5.64、11.28、14.10、22.56、28.20 μ g/mL 溶液, 分别进样 20 μ L, 测定。以峰面积对质量浓度绘制标准曲线, 回归得回归方程 $Y = 862.034 X - 245.120$, $r = 0.9998$, 结果表明异鼠李素在 2.82~28.20 μ g/mL 线性关系良好。

2.1.5 测定: 分别精密吸取异鼠李素对照品溶液和供试品溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法计算, 即得。

2.2 提取溶剂的选择: 垂盆草中包括水溶性和脂溶性的有效成分^[8], 故提取溶剂以一定体积分数的乙醇较宜。

2.3 因素水平的选择: 天然药物有效成分提取中, 提取时间、溶剂倍量和提取次数是决定提取率的重要因素。在单因素筛选的基础上, 试验拟按 4 个因素 3 个水平安排, 见表 1。

收稿日期: 2006-12-18

作者简介: 李群力(1969—), 女, 副教授, 从事药理学教学与研究。Tel: (0579) 2232802 E-mail: zjliql@yahoo.com.cn

* 通讯作者 蒋晓萌(1964—), 男, 硕士, 高级工程师, 享受国务院特殊津贴专家, 从事药理学研究。

RP-HPLC法测定桑叶中N-甲基-1-脱氧野尻霉素

作者：[孙红](#)，[车庆明](#)，[孟繁敏](#)
作者单位：[北京大学药学院, 北京, 100083](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2007, 38(6)
被引用次数：3次

参考文献(7条)

1. [Zhou X Y;Liao S T;Liu X M](#) [Study on effects of lowing blood glucose of granule of mulberry leaves](#) [期刊论文]-[广东农业科学](#) 2003(06)
2. [Zou S Q;Chen W](#) [Chemical constituent, activity and application progress of mulberry leaves](#) 2003
3. [Asano N;Tomioka E;Kizu H](#) [Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of Morus bombycis](#) [外文期刊] 1994
4. [Kfmura M;Chen F](#) [Antihyperglycemic effects of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozoc induced diabetic-mice](#) 1995(01)
5. [Jin-Won K](#) [Determination of seasonal change of 1-deoxynojirimycin content in Morus abla leaves](#) 2001
6. [Jiang Y T;Chen J Y;Liu K](#) [HPLC-ELSD Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves](#) [期刊论文]-[药物分析杂志](#) 2005(01)
7. [Asano N](#) [N-Alkylated nitrogen-in-the-ring sugars: conformational basis of inhibition of glycosidases and HIV-1 replication](#) [外文期刊] 1995(13)

本文读者也读过(10条)

1. [欧阳华学. 黎源倩. 肖全伟](#) [HPLC法测定桑叶中1-脱氧野尻霉素](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2007, 38(5)
2. [杨梅. 刘玉明. 高瑞昶. YANG Mei. LIU Yuming. GAO Ruichang](#) [高效液相色谱法测定桑叶中1-脱氧野尻霉素的含量](#) [期刊论文]-[武警医学](#) 2007, 18(2)
3. [王凤玲. 韩淑珍. 王勇. 袁博. 冯莉. WANG Feng-ling. HAN Shu-zhen. WANG Yong. YUAN Bo. FENG Li](#) [定量测定与特定指纹图谱分析相结合方法用于抗脑衰胶囊制剂质量评价](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2007, 38(3)
4. [李云霞](#) [颈复康颗粒的质量控制及其指纹图谱研究](#) [学位论文] 2002
5. [迟霁菲. 张国刚. CHI Ji-fei. ZHANG Guo-gang](#) [粉葛的高效液相色谱指纹图谱](#) [期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#) 2006, 23(10)
6. [陈恒文. 林健荣. CHEN Heng-wen. LIN Jian-rong](#) [桑叶中γ-氨基丁酸的研究概述](#) [期刊论文]-[食品工业科技](#) 2008, 29(8)
7. [张和禹. 汪泰初. 刘金珠. 胡娟霞. 刘朝良. ZHANG He-Yu. WANG Tai-Chu. LIU Jin-Zhu. HU Juan-Xia. LIU Chao-Liang](#) [桑树枝干乳汁中的1-脱氧野尻霉素含量测定与分析](#) [期刊论文]-[蚕业科学](#) 2011, 37(1)
8. [殷浩. 佟万红. 叶晶晶. 孙波. 施新琴. 刘刚. YIN Hao. TONG Wan-hong. YE Jing-jing. SUN Bo. SHI Xin-qin. LIU Gang](#) [施氮量及氮素形态对桑叶中1-脱氧野尻霉素含量的影响](#) [期刊论文]-[农业科学与技术 \(英文版\)](#) 2010, 11(6)
9. [郭晓宇. 杨琳. 陈颖. 车庆明](#) [黄芩苷与黄芩素的大鼠体内药物动力学比较研究](#) [会议论文]-2006
10. [陈玉. 郑萍. CHEN Yu. ZHENG Ping](#) [川产葛根药材的HPLC指纹图谱](#) [期刊论文]-[华西药学杂志](#) 2008, 23(2)

引证文献(3条)

1. [夏学军. 汪仁芸. 刘玉玲](#) [柱前衍生化RP-HPLC法测定桑枝总生物碱的含量](#) [期刊论文]-[中国新药杂志](#) 2008(23)

2. [赵艳丽](#), [黄亦琦](#), [胡珊梅](#), [杨辉](#) [HPLC测定家蚕中1-脱氧野尻霉素的含量](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2013(22)
3. [李平平](#), [廖森泰](#), [刘吉平](#), [邹宇晓](#) [桑中1-脱氧野尻霉素及其衍生物的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706026.aspx