

RP-HPLC 法测定三叉苦中吴茱萸春

刁远明, 高幼衡*, 蔡鸿飞, 何建雄

(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

三叉苦 *Evodia lepta* (Spr.) Merr. 是芸香科吴茱萸属植物, 又称三丫苦、三桠苦、三枝枪、小黄散、鸡骨树、三叉虎, 广泛分布于我国东北至西南各地, 是岭南常用中草药, 始载于《岭南采药录》。性味苦寒, 具有清热解毒、祛风除湿的功效, 主治咽喉肿痛、疟疾、黄疸型肝炎、风湿骨痛、湿疹、皮炎、疮疡等^[1]。

三叉苦具有广泛的临床应用基础, 是三九胃泰、三九感冒灵的君药。笔者首次从国内的三叉苦植物中分得呋喃喹啉类生物碱^[2]。本实验采用RP-HPLC法对其中的吴茱萸春进行了测定, 为三叉苦药材及其制剂的质量评价提供科学依据。

1 仪器和试剂

Summit P680A 型高效液相色谱仪, PDA 100 检测器, Summit P680A 低压四元泵, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水(经Millipor 溶液过滤系统处理), 甲醇为分析纯。

三叉苦购自广州市药材公司, 经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定。吴茱萸春对照品为自制, 经UV、IR、NMR、MS 鉴定, 质量分数 > 98%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (45 : 55), 体积流量: 1.0 mL/min, 检测波长: 249 nm, 柱温: 25 °C。色谱图见图1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取吴茱萸春对照品适量, 加甲醇配成 0.2 mg/mL 溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 称取样品 3 g 精密称定, 甲醇超声提取 3 次, 每次 40 mL 提取 10 min, 滤过, 合并滤液, 滤液水浴蒸干, 残渣用甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 即得。

2.4 标准曲线的绘制: 精密称取吴茱萸春对照品 10.0 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释成系列质量浓度的对照品溶液, 进样 10 μL, 测定。以进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲

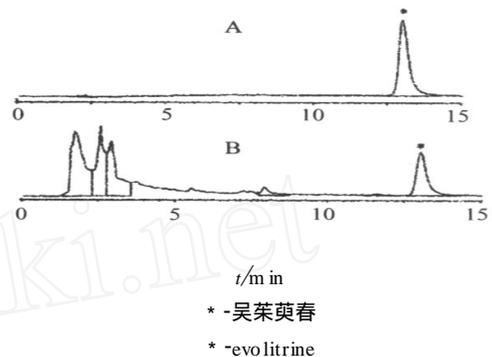


图1 吴茱萸春对照品(A)和三叉苦(B)的HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of evoditrine reference substance (A) and *E. lepta* (B)

线, 得回归方程: $Y = 9.4585X + 2.1809$ ($r = 0.9994$)。结果表明: 吴茱萸春在进样量 0.2~ 4.0 μg 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 取供试品溶液, 重复进样 5 次, 测得吴茱萸春峰面积的 RSD 为 1.9%。

2.6 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 在室温下放置, 分别在 0、1、2、4、8、16、24 h 进行测定, 计算得吴茱萸春的峰面积的 RSD 为 0.6%。表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批样品, 平行操作 6 份, 制备供试品溶液, 测得吴茱萸春质量分数的 RSD 为 2.0%。

2.8 回收率试验: 精密称取含吴茱萸春 0.138 mg/g 的供试品 1.5 g, 共 6 份, 分为 3 组, 每组 2 份。分别加入 29.4 μg/mL 吴茱萸春对照品溶液 4.0、5.0、6.0 mL, 制备供试品溶液, 在上述试验条件下进行测定, 进样 20 μL, 结果平均回收率为 104.1%, RSD 为 1.08%。

2.9 样品测定: 按上述方法, 测定了本品 11 批样品中吴茱萸春的量, 结果见表 1。

3 讨论

曾对超声次数进行了考察, 发现超声处理 3 次后, 吴茱萸春质量分数稳定, 可认为吴茱萸春基本被提取完全, 故选择超声提取 3 次。

* 收稿日期: 2007-05-18

作者简介: 刁远明(1980—), 女, 广东梅州人, 主要从事中药及天然药物研究。E-mail: diaoyuanming@yahoo.com.cn

* 通讯作者 高幼衡 E-mail: gaoyouheng@yahoo.com.cn Tel: (020) 39358083

表1 三叉苦中吴茱萸春的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of evolutrine in *E. leptantha* (n=3)

批号	吴茱萸春/(mg·g ⁻¹)	批号	吴茱萸春/(mg·g ⁻¹)
20050701	0.138	20060714	0.129
20050901	0.125	20060801	0.138
20051001	0.141	20060913	0.126
20060305	0.133	20060923	0.156
20060509	0.151	20061012	0.113
20060604	0.126		

采用UV—2000紫外分光光度计对吴茱萸春在200~400 nm 波长进行扫描,结果在249 nm 波长处

有最大吸收,故选择249 nm 作为检测波长。

三叉苦化学成分复杂,用HPLC 法测定吴茱萸春时,干扰组分较多。经过反复调整流动相比例,最后采用流动相比例为乙腈-水(45:55),使吴茱萸春与其他成分达到基线分离,重现性好。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1992.
- [2] 刁远明, 高动衡, 彭新生. 三叉苦化学成分研究 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1098-1099.

RP-HPLC 法测定槲寄生中槲寄生苷甲

韩冬, 徐雅娟*, 解生旭, 赵宏峰, 司云珊, 徐东铭*

(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

槲寄生为桑寄生科植物槲寄生 *Viscum coloratum* (Komar.) Nakai 的干燥带叶茎枝, 具有祛风湿, 补肝肾, 强筋骨, 安胎功能, 主要用于风湿痹痛, 腰膝酸软, 胎动不安^[1]。槲寄生主要有效成分为黄酮类化合物和一些高分子化合物^[2], 其水提取部分对冠心病引起的心绞痛有较好疗效, 主要成分为槲寄生苷甲^[3]。《中国药典》2005年版收载槲寄生以齐墩果酸为对照品进行薄层色谱扫描测定。笔者从槲寄生中分离纯化了槲寄生苷甲, 并作为对照品进行了纯化, 质量分数达98%以上。因此本实验采用HPLC 法测定槲寄生中槲寄生苷甲的量, 方法简便, 灵敏度高, 重现性好。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: 高效液相色谱仪: 美国Waters 600 泵, 美国486 紫外检测器, 7725 手动进样器。

1.2 试剂与样品: 槲寄生苷甲实验室自制, 质量分数99.52%以上, 甲醇为色谱纯, 水为纯净水。槲寄生采自主产区吉林省各地区, 经长春中医药大学邓明鲁教授鉴定为桑寄生科植物槲寄生 *V. coloratum* (Komar.) Nakai

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为美国Novapak C₁₈ (100 mm × 8 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-1% 冰醋酸 (35

65), 体积流量: 1 mL/min, 检测波长为283 nm, 进样量均为10 μL。理论塔板数按槲寄生苷甲计不得少于1500。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取槲寄生苷甲对照品适量, 加甲醇制成0.09 mg/mL 对照品溶液。

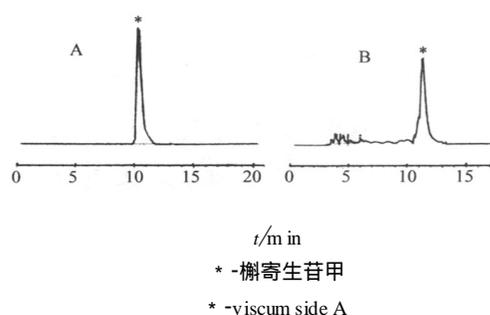


图1 槲寄生苷甲对照品(A)和槲寄生(B)的HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of viscum side A reference substance (A) and *V. coloratum* (B)

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取本品5 g, 加甲醇50 mL, 超声30 min, 3次, 合并提取液, 蒸干, 加水30 mL 溶解, 调pH 值为5.0~5.5, 用醋酸乙酯提取6次, 每次20 mL, 合并提取液, 并回收醋酸乙酯, 甲醇定容5 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

2.4 标准曲线的绘制: 精密吸取槲寄生苷甲对照品溶液 8、10、12、14、16 μL, 注入高效液相色谱仪, 测

* 收稿日期: 2007-03-10

基金项目: 国家科技部“十五”攻关项目(99-929-01-30)

作者简介: 韩冬(1975-), 女, 吉林省长春市人, 1994年毕业于长春中医学院中药学专业, 获理学学士学位, 现任职于吉林省中医中药研究院重点实验室, 长春中医药大学在读研究生, 主要从事中药化学的基础研究和新药研发。 Tel: (0431)86816848

E-mail: handong1975@yahoo.com.cn

* 通讯作者 徐雅娟 Tel: (0431)86816849 E-mail: xyj6492@shou.com