

10^5 , $r=0.9989$; 山柰素 $A=1.19 \times 10^5 C - 3.52 \times 10^4$, $r=0.9991$; 金丝桃苷、槲皮素和山柰素的线性范围分别为 $0.0654 \sim 0.3924 \mu\text{g}$, $0.06534 \sim 0.39204 \mu\text{g}$, $0.06552 \sim 0.39312 \mu\text{g}$ 。

2.5 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 $30 \mu\text{L}$,连续进样5次,测定峰面积,计算得金丝桃苷、槲皮素和山柰素峰面积的 RSD 分别为 1.4% 、 0.8% 、 1.3% ,表明精密度良好。

2.6 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 $30 \mu\text{L}$,分别于 0 、 1 、 2 、 4 、 8 、 12 h 进样,测定峰面积,计算得3种成分的 RSD 分别为 1.3% 、 0.9% 、 1.5% ,表明样品在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一产地药材粉末(盱眙)样品5份,按2.3项下方法制成供试品溶液,测定,金丝桃苷、槲皮素和山柰素平均质量分数分别为 0.662 、 0.191 、 0.259 mg/g , RSD 分别为 1.2% 、 1.4% 、 1.1% 。

2.8 加样回收试验:取药材粉末约 0.5 g ,精密称定6份,分别精密加入金丝桃苷、槲皮素和山柰素对照品高、中、低3个质量浓度,按2.3项下方法制成供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果金丝桃苷平均回收率 97.01% , RSD 为 1.2% ($n=6$); 槲皮素平均回收率 96.61% , RSD 为 1.1% ($n=6$); 山柰素平均回收率 96.77% , RSD 为 0.8% ($n=6$)。

2.9 样品测定:取不同产地的野马追药材,按2.3项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算药材中金丝桃苷、槲皮素和山柰素的平均质量分数,结果见表1。

3 讨论

3.1 流动相的选择:本实验曾经选用甲醇- 0.5% 磷酸水溶液、甲醇- 1% 冰醋酸溶液、乙腈-甲醇- 0.5% 磷酸水溶液等体系进行等度和梯度洗脱,结

表1 样品测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of flavonoids in *Herba*

Eupatorii Lindleyani ($n=3$)

产地	金丝桃苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	槲皮素/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	山柰素/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
安徽	1.066 0	0.302 9	0.429 4
盱眙	0.686 4	0.192 3	0.258 4
镇江	0.512 8	0.164 2	0.211 8

果表明采用等度洗脱,色谱峰分离度达不到要求,选择乙腈-甲醇- 0.5% 磷酸水溶液梯度洗脱,得到的色谱峰形较好,且较稳定。为确保下次分析时色谱峰的峰形及分离度,每次运行梯度后,柱平衡至少需要 5 min ^[3]。

3.2 检测波长的选择:经二极管阵列检测器检测,在上述色谱条件下于波长 $200 \sim 400 \text{ nm}$ 绘出三维图谱。从三维图谱中可以看出在 370 nm 波长检测时,其 HPLC 色谱响应较大,同时各色谱峰分离度较好,且基线平稳,故确定波长 370 nm 为检测波长。

3.3 研究过程中曾采用盐酸水解法测定了野马追中的槲皮素和山柰素的量,方法较繁琐;本实验所建立的 HPLC-DAD 法,简便快速、分离度好、测定结果可靠,能同时测定黄酮类化合物中金丝桃苷、槲皮素和山柰素的量,为野马追药材的品质鉴别以及黄酮类化合物产品的质量控制等提供依据。野马追为江苏省道地药材,为提高野马追及其制剂质量,在本研究工作之上将通过对野马追药材的指纹图谱研究进一步达到全面控制药材质量的目的,实施地道野马追药材的规范化管理种植。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 二部. 2005.
- [2] 钱士辉,杨念云,段金康. 野马追中黄酮类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 50-52.
- [3] 许乾丽,熊慧林,茅向军. 野产3种金丝桃属植物药中金丝桃苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(6): 414-416.

RP-HPLC 法测定东北地区不同产地满山红中齐墩果酸与熊果酸

梁泰刚,梁 婷,赵承孝,李青山*

(山西医科大学药学院,山西 太原 030001)

摘 要:目的 建立同时测定满山红中齐墩果酸和熊果酸的高效液相色谱方法。方法 采用 Hypersil C₁₈ 色谱柱 ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$),以 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液 ($\text{pH}=3.0$, 含 6 mmol/L 的 β -环糊精)-甲醇 ($13:87$) 为流动相,体积流量 1.0 mL/min ;检测波长 210 nm 。结果 齐墩果酸和熊果酸分别在 $0.0260 \sim 0.130 \text{ mg/mL}$ 和

收稿日期:2007-12-10

基金项目:山西省科技攻关项目 (No. 2006031201-01)、山西医科大学青年基金资助项目 (No. 2006011)

作者简介:梁泰刚,男,在读博士。E-mail: liangtg78@sohu.com

*通讯作者 李青山 Tel: (0351) 4690322 E-mail: qingshanl@yahoo.com

0.087 2~0.436 mg/mL 线性关系良好,平均回收率分别为 99.2% (RSD=1.1%) 和 98.6% (RSD=1.2%)。结论该方法简便快速,结果准确可靠,各产地满山红中熊果酸的量均高于齐墩果酸。

关键词:高效液相色谱法;满山红;齐墩果酸;熊果酸

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1255-03

满山红为杜鹃花科植物兴安杜鹃 *Rhododendron dauricum* L. 的干燥叶,具有止咳、祛痰、抗菌的作用,用于治疗急、慢性支气管炎,哮喘。满山红的化学成分有黄酮类、萜类、挥发油类等^[1],而其中的齐墩果酸和熊果酸作为三萜类代表性化合物,具有抑菌、保肝、免疫增强等多种生物活性^[2],属于满山红活性成分。目前对满山红及其制剂的质量研究主要集中在对黄酮化合物进行定量控制,尚未见对三萜类化合物测定的相关报道。为科学有效控制其产品质量,本实验首次对主要分布在我国东北地区的不同满山红中齐墩果酸与熊果酸的量进行测定。

1 仪器与试剂

LC-10 AVP 高效液相色谱仪(日本岛津);UV-260 紫外可见分光光度计(日本岛津);齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0773-99100);熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 742-200111);甲醇为色谱纯;水为重蒸水,其余试剂均为分析纯;

满山红药材采自黑龙江、吉林、辽宁等东北地区,经山西医科大学药学院高建平教授鉴定为杜鹃花科植物兴安杜鹃 *Rhododendron dauricum* L. 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3,4]:Hyporsil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(含 6 mmol/L 的 β-环糊精,pH=3.0)-甲醇(13:87);柱温:室温;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 210 nm;进样量:20 μL。在此色谱条件下待测组分可达到基线分离,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取齐墩果酸、熊果酸对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加甲醇配制成分别为 0.260、0.872 mg/mL 的混合对照品储备液,摇匀。

2.3 供试品溶液的制备^[5,6]:精密称取干燥至恒重的药材粉末(40 目)2 g,加 50 mL 石油醚,索氏提取 1 h,弃石油醚液,挥干药材粉末,再加 100 mL 氯仿索氏提取 5 h,提取液蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 25 mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

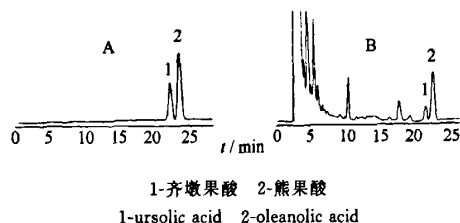


图1 混合对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and sample (B)

2.4 线性关系考察:精密吸取对照品储备液 1、2、3、4、5 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。各吸取 20 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程: $Y_{\text{齐墩果酸}} = 4.211 \times 10^6 X - 7.707 \times 10^2$, $r = 0.9999$,线性范围 0.026 0~0.130 mg/mL; $Y_{\text{熊果酸}} = 3.035 \times 10^6 X - 2.511 \times 10^3$, $r = 0.9995$,线性范围 0.087 2~0.436 mg/mL。

2.5 精密度试验:取对照品溶液 20 μL,按上述色谱条件,连续进样 6 次,测得齐墩果酸与熊果酸峰面积的 RSD 分别为 0.30% 和 0.68%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于配制后 0、2、4、8、12、24 h 精密吸取 20 μL 进样测定,齐墩果酸峰面积 RSD 为 1.0%,熊果酸峰面积 RSD 为 1.9%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重现性试验:取齐齐哈尔药材 6 份,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,测定齐墩果酸、熊果酸质量分数分别为 0.046 9%、0.538%,RSD 分别为 0.94%、0.87%。

2.8 加样回收率试验:精密称取 6 份已知质量分数的齐齐哈尔满山红样品 1.0 g,分别加入齐墩果酸、熊果酸对照品适量,按供试品溶液的制备项下操作,测定齐墩果酸、熊果酸的质量分数,齐墩果酸与熊果酸的平均回收率分别为 99.2%、98.6%,RSD 分别为 1.1%、1.2%。

2.9 样品测定:精密吸取供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,依上述色谱条件进行测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 流动相的选择:因齐墩果酸与熊果酸为同分异构体,性质相近,分离难度较大,一般流动相的简单配比难以使二者完全分离,而在磷酸盐缓冲液中加

表1 东北不同产地满山红中齐墩果酸与熊果酸的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of ursolic acid and oleanolic acid in leaves of *R. dauricum* from different habitats in northeast China ($n=3$)

产地	齐墩果酸/%	熊果酸/%
辽宁沈阳	0.034	0.292
辽宁抚顺	0.029	0.358
吉林长春	0.039	0.210
吉林松原	0.014	0.172
吉林四平	0.052	0.364
黑龙江佳木斯	0.090	0.404
黑龙江哈尔滨	0.073	0.487
黑龙江齐齐哈尔	0.047	0.538

入手性添加剂 β -环糊精能够有效提高分离度,经试验,当流动相为0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(含6 mmol/L 的 β -环糊精,pH=3.0)-甲醇(13:87)时二者分离完全,可以满足测定要求。

3.2 供试品溶液的制备:本实验曾比较采用甲醇、氯仿为溶剂进行超声提取、回流提取和索氏提取等不同方法,结果发现采用石油醚脱脂后氯仿索氏提

取,具有提取率高,干扰小等特点,便于分析测定。

3.3 东北作为满山红药材主产区,不同地域齐墩果酸与熊果酸量差异较大,以黑龙江质量分数最高,测定结果表明,熊果酸量均高于齐墩果酸。

参考文献:

- [1] 付晓丽. 满山红叶中化学成分的研究 [A]. 山西医科大学药学院硕士学位论文 [D]. 山西:山西医科大学, 2006.
- [2] 田丽婷, 马 龙, 堵年生. 齐墩果酸的药理作用研究概况 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(12): 884-888.
- [3] Claude B, Morin P, Lafosse M, et al. Evaluation of apparent formation constants of pentacyclic triterpene acids complexes with derivatized β - and γ -cyclodextrins by reversed phase liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1049: 37-42.
- [4] 徐 珊, 邓旭坤, 陈 斌. 马鞭草药材中齐墩果酸、熊果酸的 RP-HPLC 测定 [J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2006, 26(3): 165-169.
- [5] 张前军, 赵 超, 杨小生. 高效液相色谱法测定连钱草中熊果酸的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18): 1522-1534.
- [6] 张才华, 郭兴杰, 李 芳. HPLC 法同时测定白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 358-362.

酸性染料比色法测定延胡索总生物碱的量

周毅玲

(杭州市第三人民医院, 杭州 浙江 310009)

延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. Twang 的干燥块茎, 亦名元胡, 其味辛、苦, 性温; 归肝、脾经。具有活血、利气、止痛之功效, 临床上主要用于各种疼痛、心血管及痛经等。产于浙江省东阳、磐安、缙云等地, 为道地药材“浙八味”之一, 其主要药效物质是延胡索总生物碱^[1,2]。本实验采用紫外分光光度法对延胡索中总生物碱的量进行测定。

1 仪器、试剂与材料

TU—1800 型紫外可见分光光度仪 (北京普析通用仪器公司), Sartorius BP211D 电子天平 (德国), CQ—250 型超声波清洗器 (中船总公司 726 研究所)。

醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH 4.5)。酸性染料溴甲酚绿溶液的配制: 取溴甲酚绿 50 mg 与邻苯二甲酸氢钾 1.201 g, 加 0.2 mol/L 盐酸溶液 1.6 mL 使溶

解后, 加水稀释成 100 mL, 摇匀, 用 0.2 mol/L 盐酸溶液或氢氧化钾试液调 pH 值至 4.5^[3]。盐酸脱氢延胡索碱对照品 (纯度 99.5%, 浙江省药品检验所惠赠)。延胡索药材 (批号 20051204、200607006、20061207) 购自杭州中药饮片厂。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的盐酸脱氢延胡索碱 2.56 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加醋酸-醋酸钠缓冲液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液 (每毫升含脱氢延胡索碱 0.256 mg)^[3]。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取药材约 1.0 g 置于 50 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸 80% 甲醇溶解适量超声 30 min, 冷却至室温, 定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL 置圆底烧瓶中, 抽干, 残渣用醋酸-醋酸钠缓冲液溶解转移并定容至 25 mL

RP-HPLC法测定东北地区不同产地满山红中齐墩果酸与熊果酸

作者：[梁泰刚](#)，[梁婷](#)，[赵承孝](#)，[李青山](#)
作者单位：[山西医科大学药学院, 山西太原, 030001](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (8)
被引用次数：5次

参考文献(6条)

1. [付晓丽](#) [满山红叶中化学成分的研究](#) 2006
2. [田丽婷](#); [马龙](#); [堵年生](#) [齐墩果酸的药理作用研究概况](#) [期刊论文] - [中国中药杂志](#) 2002 (12)
3. [Claude B](#); [Morin P](#); [Lafosse M](#) [Evaluation of apparent formation constants of pentacyclic triterpene acids complexes with derivatized \$\beta\$ -and \$\gamma\$ -cyclodextrins by reversed phase liquid chromatography](#) 2004
4. [徐珊](#); [邓旭坤](#); [陈斌](#) [马鞭草药材中齐墩果酸、熊果酸的RP-HPLC测定](#) [期刊论文] - [南京医科大学学报\(自然科学版\)](#) 2006 (03)
5. [张前军](#); [赵超](#); [杨小生](#) [高效液相色谱法测定连钱草中熊果酸的含量](#) [期刊论文] - [中国中药杂志](#) 2006 (18)
6. [张才华](#); [郭兴杰](#); [李芳](#) [HPLC法同时测定白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的含量](#) [期刊论文] - [沈阳药科大学学报](#) 2004 (05)

本文读者也读过(10条)

1. [李百强](#). [方芳](#). [方洪壮](#). [崔晓彪](#). [高旭光](#). [LI Bai-qiang](#). [FANG Fang](#). [FANG Hong-zhuang](#). [CUI Xiao-biao](#). [GAO Xu-guang](#) [HPLC法测定满山红油中牦牛儿酮含量](#) [期刊论文] - [中医药学报](#) 2010, 38 (3)
2. [王常禹](#). [李玥瑛](#). [仲昭庆](#) [GC法测定满山红油中杜鹃酮的含量](#) [期刊论文] - [中医药学报](#) 2006, 34 (1)
3. [黄齐林](#). [高小茵](#). [曹秋娥](#). [杨光宇](#). [尹家元](#). [HUANG Qi-lin](#). [GAO Xiao-yin](#). [CAO Qiu-e](#). [YANG Guang-yu](#). [YIN Jia-yuan](#) [高效液相色谱法快速测定满山红中槲皮素和杜鹃素的研究](#) [期刊论文] - [分析科学学报](#) 2006, 22 (2)
4. [邹纯才](#). [鄢海燕](#). [方芳](#). [方洪壮](#). [ZOU Chun-cai](#). [YAN Hai-yan](#). [FANG Fang](#). [FANG Hong-zhuang](#) [满山红油的高效液相特征色谱考察](#) [期刊论文] - [中国医院药学杂志](#) 2008, 28 (19)
5. [方芳](#). [方洪壮](#). [宗希明](#). [FANG HONG-ZHUANG](#). [FANG FANG](#). [ZONG XI-MING](#) [HPLO法测定满山红中牦牛儿酮的含量](#) [期刊论文] - [中国医药指南](#) 2008, 6 (23)
6. [方洪壮](#). [孙国东](#). [宗希明](#). [孙长海](#). [FANG Hong-zhuang](#). [SUN Guo-dong](#). [ZONG Xi-ming](#). [SUN Chang-hai](#) [黑龙江省满山红油的GC-MS分析](#) [期刊论文] - [中国实验方剂学杂志](#) 2010, 16 (8)
7. [李玥瑛](#). [仲昭庆](#). [Li Yue-ying](#). [Zhong Zhao-qing](#) [GC法测定满山红油中\(牛龙\)牛儿酮的含量](#) [期刊论文] - [中国药品标准](#) 2007, 8 (2)
8. [乔喜勤](#). [宋诚挚](#). [张翠](#) [牡丹江地区满山红叶中槲皮素的含量测定](#) [期刊论文] - [哈尔滨商业大学学报\(自然科学版\)](#) 2003, 19 (3)
9. [李成网](#) [高效液相色谱法测定奥林胃肝胶囊中熊果酸和齐墩果酸的含量](#) [期刊论文] - [中国实验方剂学杂志](#) 2006, 12 (7)
10. [周现军](#). [ZHOU Xian-jun](#) [满山红及其制剂中满山红油的含量测定](#) [期刊论文] - [辽宁中医杂志](#) 2008, 35 (8)

引证文献(5条)

1. [杨玉焕](#). [王秋莉](#). [张德辉](#). [郭娜](#). [朱美宣](#) [高效液相色谱法测定地肤中齐墩果酸质量分数](#) [期刊论文] - [东北林业大学学报](#) 2013 (4)

2. [屈晓清](#), [伊芳](#), [聂云](#), [李晋丽](#), [张跃文](#), [丁之恩](#) [RP-HPLC法同时测定宣木瓜中2种三萜酸及其比例](#)[期刊论文]-[安徽林业科技](#) 2011(1)
3. [卢桂英](#), [孙贺略](#), [杨雪滢](#), [胡旭芳](#), [马志刚](#), [曹秋娥](#) [正交试验优化HPLC测定齐墩果酸与熊果酸的色谱条件](#)[期刊论文]-[云南民族大学学报（自然科学版）](#) 2012(4)
4. [石天松](#) [中药满山红化学成分和分析方法的研究进展](#)[期刊论文]-[华夏医学](#) 2012(1)
5. [陶渊博](#), [邢雅丽](#), [方芝娟](#), [毕良武](#), [赵振东](#) [生物活性物质熊果酸资源分布状况研究进展](#)[期刊论文]-[林产化学与工业](#) 2012(1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808046.aspx