

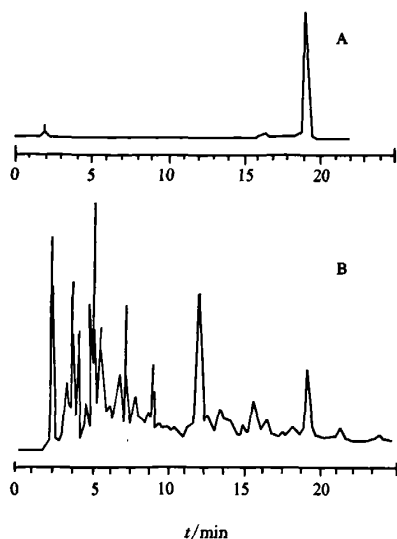


图1 雷公藤乙素(A)和雷公藤(B)的色谱图
Fig. 1 Chromatograms of tripdiolide (A) and *T. willfordii* (B)

美国健康研究所对其在福建省泰宁县的雷公藤药材种植基地出产的雷公藤药材要求检测雷公藤甲素和雷公藤乙素,以此作为衡量雷公藤药材质量标准的依据。

本实验对两个活性成分采用同一提取方法、同一色谱柱、同一体系、同一波长进行测定,方法简便,而且在《中国药典》中雷公藤药材仅有鉴别项。对雷

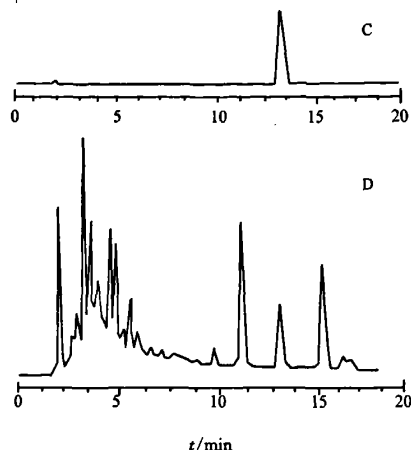


图2 雷公藤甲素(C)和雷公藤(D)的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of tritolidide (C) and *T. willfordii* (D)

公藤药材定量测定方法的研究可作为雷公藤药材质量标准建立的重要参考。

参考文献:

- [1] 苏维广, 孟江. 雷公藤的临床应用 [J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(10): 845-846.
- [2] 许静亚, 杨峻, 李乐真, 等. 雷公藤抗肿瘤的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(3): 161-164.
- [3] Kupchan S M, Court W A, Dailey R G. *et al.* Triptolide and triptolidide, novel antileukemic diterpenoid triepoxides from *Tripterygium willfordii* [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 7194.
- [4] 邓思珊, 张韬, 阙慧卿, 等. 雷公藤药材含量测定方法的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(增刊): 198-199.

RP-HPLC 同时测定枇杷叶中4种三萜酸

陈龙胜, 忻 畅, 许舒雯

(安徽省分析测试中心, 安徽 合肥 230031)

摘要:目的 建立同时测定枇杷叶中4种三萜酸成分2 α -羟基齐墩果酸(I)、2 α -羟基熊果酸(II)、齐墩果酸(III)和熊果酸(IV)高效液相色谱。方法 采用反相高效液相色谱法,使用Phenomenex-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m),流动相为甲醇-1.0%醋酸溶液(88:12),体积流量0.8 mL/min,柱温25 $^{\circ}$ C,检测波长215 nm。结果 成分I~IV在进样量1.0~6.0 μ g 均有良好线性关系, $r=0.999\ 9$ ($n=6$); I~IV的平均加样回收率分别为96.2%、99.0%、101.4%、98.2%,RSD分别为0.64%、0.36%、0.31%、0.44%。结论 该方法方便快捷,结果准确可靠。

关键词:枇杷叶;三萜酸;反相高效液相色谱法

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1411-03

枇杷叶为蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥叶,是常用中药材之一,具有止咳化痰、降气和胃之效,常用于支气管炎、肺热咳

嗽^[1,2]。文献研究表明枇杷叶中三萜酸类化合物种类丰富,其中齐墩果酸和熊果酸具有显著的抗炎、抗肿瘤、促进免疫、保肝、强心等药理作用^[2]。随着药理研

收稿日期:2007-12-15

基金项目:国家星火基金项目(2006EA710024);合肥市人才发展基金项目

作者简介:陈龙胜(1980—),男,硕士,主要研究方向为天然产物提取、分离和生物转化。

Tel:(0551)5145209 E-mail:formatsky@tom.com

究进一步深入,发现2 α -羟基齐墩果酸对人口腔鳞状癌细胞(HSC-2)和人唾液腺癌细胞(HSG)具有抑制生长的功能;2 α -羟基熊果酸对Ⅰ型糖尿病和肥胖症有着确切疗效,被称为“植物胰岛素”^[3]。目前文献只报道了枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸的高效液相色谱法^[4,5],未见2 α -羟基齐墩果酸、2 α -羟基熊果酸定量分析方法报道。因此,本实验建立了同时测定枇杷叶2 α -羟基齐墩果酸、2 α -羟基熊果酸、齐墩果酸和熊果酸的高效液相色谱法,并利用该方法测定安徽黄山产枇杷叶中4种三萜酸量,结果表明该方法快速准确。

1 仪器与试剂

Agilent1100系列高效液相色谱仪,配备HP化学工作站;GKC114数显控温水浴锅,上海浦东新区电理仪器厂。

2 α -羟基齐墩果酸(Ⅰ)、2 α -羟基熊果酸(Ⅱ)对照品(本实验室自制,质量分数大于98%),齐墩果酸(Ⅲ)、熊果酸(Ⅳ)(质量分数95%,北京百灵威试剂公司),甲醇(色谱纯,美国天地公司),二次蒸馏水,冰醋酸、乙醇(分析纯,中国医药集团)。

枇杷叶样品采自安徽省黄山,为大红袍品种。由鲍丽仙鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为Phenomenex-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);柱温:27℃;流动相:甲醇-1.0%醋酸水溶液(88:12);检测波长:215 nm;体积流量:0.8 mL/min;进样方式:自动进样;柱温:25℃。

2.2 对照品溶液的配制:将Ⅰ~Ⅳ对照品放入烘箱,在105℃干燥至恒质量,分别准确称取10.0 mg对照品,置入10.0 mL量瓶中,以甲醇超声溶解,定容。

2.3 供试品溶液制备:新鲜枇杷叶干燥至恒重后粉碎过60目筛。取2.0 g枇杷叶粉,加入90%乙醇溶液20 mL于90℃提取3 h,提取3次,自然冷却后将所得提取液合并用90%乙醇溶液定容至100 mL。取20.0 mL提取液浓缩至5.0 mL,加入40.0 mL二次蒸馏水滤过,将沉淀物干燥后甲醇溶解定容至25.0 mL,备用。

2.4 线性关系的考察:将Ⅰ~Ⅳ对照品溶液分别进样1、2、3、4、5、6 μ L,按照色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标,以对照品进样量为横坐标,绘制标准曲线, $Y = 3.342 + 350.371 X$, $r = 0.999\ 99$; $Y = -1.411 + 325.538 X$, $r = 0.999\ 99$; $Y = -19.153 + 417.334 X$, $r = 0.999\ 99$; $Y = -3.249 + 368.621 X$, $r = 0.999\ 99$ 。

该色谱条件下,Ⅰ~Ⅳ进样量在1.0~6.0 μ g,

线性关系良好。

2.5 精密度试验:将4种三萜酸对照品5 μ L各进样6次,测定峰面积,结果4种三萜酸成分RSD分别为Ⅰ1.2%,Ⅱ1.6%,Ⅲ0.8%,Ⅳ0.9%。

2.6 重现性试验:取编号为050106的样品按“2.3”项下方法平行制备6份供试液,在“2.1”项色谱条件下进样20 μ L分析,Ⅰ~Ⅳ质量分数分别为7.20、8.56、3.47、9.56 mg/g, RSD分别为3.0%、2.6%、2.7%、1.2%。

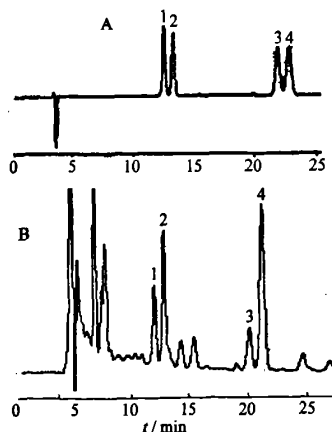
2.7 回收率试验:取5个已测定的枇杷叶样品各1.0 g,分别加入Ⅰ~Ⅳ对照品5.0 mg,按供试液制备方法操作,并按上述色谱条件测定峰面积,4种成分平均回收率分别为Ⅰ96.2%(RSD=0.64%)、Ⅱ99.0%(RSD=0.36%)、Ⅲ101.%(RSD=0.31%)、Ⅳ98.2%(RSD=0.44%)。

2.8 样品测定:在“2.3”项下供试样制备方法下,对黄山所送5个批次枇杷叶中4种三萜酸的量进行测定,结果见表1,其色谱图见图1。

表1 枇杷叶样品中4种三萜酸测定($n=3$)

Table 1 Determination of four triterpene acids in *E. japonica* leaves ($n=3$)

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	2 α -羟基齐墩果酸	2 α -羟基熊果酸	齐墩果酸	熊果酸
050106	7.20	8.56	3.47	9.56
050307	6.48	7.98	4.12	8.12
050510	6.59	7.81	3.96	8.72
050804	7.12	8.23	3.49	9.12
051108	7.43	8.12	4.11	9.37



1-2 α -羟基齐墩果酸 2-2 α -羟基熊果酸 3-齐墩果酸 4-熊果酸
1-2 α -hydroxy oleanolic acid 2-2 α -hydroxy ursolic acid
3-oleanolic acid 4-ursolic acid

图1 对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substances (A) and samples (B)

3 讨论

3.1 提取条件的优化:通过正交设计实验考察了乙醇浓度、温度、时间和料液比4个因素对有效成分转移率的影响,结果发现当乙醇为90%,提取温度为90℃,料液比为1:10时,提取3h为最优。在此条件下提取3次后4种三萜酸有效成分转移率均在96.2%以上,能够满足测定要求。

3.2 水洗涤对测定效果的影响:在供试液制备中曾将提取液直接进行HPLC分析测定,结果发现,由于大量水溶性杂质的存在严重干扰了2 α -羟基齐墩果酸和2 α -羟基熊果酸色谱峰的分离,增加测定结果不确定性。通过洗涤可以去除水溶性杂质的干扰,使得基线飘逸得到改善,测定效果准确性增强。对洗涤前后样品中4种三萜酸定量测定结果表明,洗涤过程不会造成成分损失。

3.3 本实验建立的枇杷叶中4种三萜酸RP-HPLC

测定方法,具有操作简单、快速、准确的优点,为枇杷叶质量控制提供了一个可靠的测定方法,同时也为枇杷叶在治疗糖尿病和抗癌方面的研究提供了一个定量分析方法。

参考文献:

- [1] Judy W V, Siva P. Antidiabetic activity of a standardized extract (Glucosol TM) from *Lagerstroemia speciosa* leaves in type I diabetics a dose-dependence study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 87(4): 115.
- [2] Taniguchia S, Imayoshi Y, Kobayashi E. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(3): 315.
- [3] 胡长平,陈龙胜,忻 畅. 反相高效液相色谱法测定枇杷叶中的科罗素酸 [J]. 色谱, 2006, 24(5): 492.
- [4] 罗晓清,郭小仪,俞学炜. RP-HPLC法测定枇杷叶中熊果酸和齐墩果酸的含量 [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5): 50.
- [5] 任秀莲,魏琦峰,周春山. 沉淀吸附法提取苦丁茶中的熊果酸 [J]. 中南大学学报, 2004, 35(4): 599.

附子中3种双酯型生物碱的定量分析

简 晖^{1,2},董宁霞¹,郑 晗¹,冯育林^{1,2},龚千锋^{1,2*},杨世林^{1,2}

(1. 江西中医学院,江西 南昌 330006; 2. 中药制剂制造技术国家工程研究中心,江西 南昌 330004)

摘 要:目的 建立附子中乌头碱、次乌头碱、新乌头碱的定量测定方法。方法 采用反相高效液相色谱法,选择Hypersil ODS2色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m),以40 mmol/L 乙酸铵溶液-乙腈为流动相梯度洗脱,检测波长235 nm。结果 乌头碱、次乌头碱、新乌头碱均得到较好分离,分别在0.170~85.0、0.319~159.5、0.218~109 μ g呈良好的线性关系,平均回收率为102.1%(RSD=1.84%)、97.7%(RSD=1.92%)、96.4%(RSD=2.51%)。结论 该方法简便、灵敏、准确,可用于附子的质量控制。

关键词:附子;乌头碱;次乌头碱;新乌头碱;高效液相色谱

中图分类号:R282.6 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)09-1413-02

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 根的加工品,具有回阳救逆、补火助阳等功效^[1],是临床常用的重要中药。附子生品有大毒,其中所含的二萜双酯型生物碱既是有效成分,又是毒性成分^[2],为保证临床用药的安全有效,须严格控制附子中此类生物碱的量。附子所含的二萜双酯型生物碱中,较重要和量较高的有乌头碱、次乌头碱、新乌头碱^[3],本实验采用高效液相色谱法同时测定这3种双酯型生物碱的量,操作简便,准确度高,对附子的质量控制和药效评价具有重要意义。

1 仪器与材料

Dionex U3000(T-3X00 柱温箱,PDA-3000

检测器,P-3400A 分析泵,WPS 自动进样器),KQ-100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

乙腈、甲醇为色谱纯,乙酸铵、乙醚、氯仿等试剂均为分析纯。盐附子购于四川江油恒源药业集团有限公司,经本院生药教研室赖学文教授鉴定为正品附子。乌头碱对照品(批号110720-200410)、新乌头碱对照品(批号110799-200404)、次乌头碱对照品(批号110798-200404)购于中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Hypersil ODS2 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:40 mmol/L 乙酸铵溶液-

RP-HPLC同时测定枇杷叶中4种三萜酸

作者: [陈龙胜](#), [忻旸](#), [许舒雯](#)
作者单位: [安徽省分析测试中心, 安徽, 合肥, 230031](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (9)
被引用次数: 2次

参考文献(5条)

1. [Judy W V;Siva P](#) [Antidiabetic activity of a standardized extract\(Glucosol TM\)from Lagerstroemia speciosa leaves in type I diabetics a dose-dependence study](#)[外文期刊] 2003 (04)
2. [Taniguchia S;Imayoshi Y;Kobayashi E](#) [Production of bioactive triterpenes by Eriobotrya japonica calli](#)[外文期刊] 2002 (03)
3. [胡长平;陈龙胜;忻旸](#) [反相高效液相色谱法测定枇杷叶中的科罗索酸](#)[期刊论文]-[色谱](#) 2006 (05)
4. [罗晓清;郭小仪;俞学炜](#) [RP-HPLC法测定枇杷叶中熊果酸和齐墩果酸的含量](#)[期刊论文]-[中国野生植物资源](#) 2004 (05)
5. [任秀莲;魏琦峰;周春山](#) [沉淀吸附法提取苦丁茶中的熊果酸](#)[期刊论文]-[中南大学学报](#) 2004 (04)

本文读者也读过(10条)

1. [鞠建华](#), [周亮](#), [郑瑞霞](#), [王春兰](#), [杨峻山](#) [高效液相色谱法测定中药枇杷叶中熊果酸的含量](#)[期刊论文]-[中国药杂志](#) 2003, 38 (9)
2. [何晓文](#), [满铭辉](#), [纵伟](#), [HE Xiao-wen](#), [MAN Ming-hui](#), [ZONG Wei](#) [分光光度法测定枇杷叶总三萜物质含量](#)[期刊论文]-[郑州轻工业学院学报 \(自然科学版\)](#) 2007, 22 (1)
3. [张锋](#), [宋粉云](#), [ZHANG Feng](#), [SONG Fen-yun](#) [枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸含量的毛细管电泳高频电导法测定](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2010, 21 (8)
4. [张守梅](#), [许奇志](#), [张立杰](#), [胡文舜](#), [张丽梅](#) [不同基因型枇杷叶片总黄酮含量的比较](#)[会议论文]-2008
5. [韩小龙](#), [陈开勋](#) [薄层扫描法测定枇杷叶中熊果酸](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2005, 36 (7)
6. [吕寒](#), [陈剑](#), [李维林](#), [张涵庆](#), [L\(U\) Han](#), [CHEN Jian](#), [LI Wei-lin](#), [ZHANG Han-qing](#) [枇杷叶中三萜酸类成分的提取工艺研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2007, 18 (11)
7. [胡长平](#), [陈龙胜](#), [忻旸](#), [蔡群兴](#), [HU Changping](#), [CHEN Longsheng](#), [XIN Yang](#), [CAI Qunxing](#) [反相高效液相色谱法测定枇杷叶中的科罗索酸](#)[期刊论文]-[色谱](#) 2006, 24 (5)
8. [冷桂华](#), [黄宏伟](#), [叶文峰](#), [王芳](#) [枇杷叶中黄酮类化合物提取方法的研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2007, 35 (25)
9. [李跃中](#), [纵伟](#), [董海丽](#) [枇杷叶中熊果酸的提取、分离工艺研究](#)[期刊论文]-[广西轻工业](#) 2008, 24 (3)
10. [陈龙胜](#), [蔡群兴](#), [忻旸](#), [陈涛](#), [戴莹琦](#), [CHEN Long-sheng](#), [CAI Qun-xing](#), [XIN Yang](#), [CHEN Tao](#), [DAI Ying-qi](#) [正交试验法优选枇杷叶中科罗索酸提取工艺的研究](#)[期刊论文]-[林产化学与工业](#) 2006, 26 (3)

引证文献(2条)

1. [蔡雪萍](#), [李松林](#), [华俊磊](#), [吕寒](#), [李维林](#), [鞠建明](#) [HPLC-ELSD同时测定枇杷叶中6种三萜酸成分的含量](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2013 (1)
2. [王晓燕](#), [李多伟](#), [何斌](#) [枇杷叶中熊果酸及其衍生物的研究进展](#)[期刊论文]-[西北药学杂志](#) 2012 (1)