

称定,共 5 份,制备供试品溶液,精密吸取 5 μ L,测定峰面积,花旗松素质量分数为 6.385 5 mg/g, RSD 为 1.12%,表明本方法重现性良好。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液,精密吸取 5 μ L,分别于 0、2、4、6、8 h 测定,比较峰面积, RSD 为 1.03%,供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验:取已测定花旗松素的水红花子样品 1 g,精密称定,共 5 份,分别精密加入花旗松素对照品溶液 5 mL (0.247 mg/mL),制备供试品溶液,精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积。结果平均加样回收率为 99.2%,RSD 为 1.83%。

2.9 样品测定:分别精密吸取对照品溶液 (0.247 mg/mL) 与供试品溶液 10 μ L,按上述色谱条件测定,采用外标一点法计算质量分数,结果见表 1。

表 1 不同采收期水红花子中花旗松素 (n=3)

Table 1 Taxifolin in *Fructus Polygoni Orientalis* collected in various periods (n=3)

编号	采集时间	花旗松素/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	2007-08-03	1.288 1	1.32
2	2007-08-13	2.120 4	0.95
3	2007-08-23	4.495 7	2.04
4	2007-09-02	5.632 5	1.17
5	2007-09-16	6.289 2	1.26
6	2007-09-28	7.542 8	1.08
7	2007-10-07	8.737 6	1.64
8	2007-10-14	11.673 2	1.41
9	2007-10-21	8.341 5	0.92
10	2007-11-04	6.941 3	1.62

3 小结与讨论

3.1 测定结果表明花旗松素的量从 8 月初开始逐渐增高,至 10 月中旬达到最高点,然后又呈下降趋

势,总体分析 10 月份花旗松素的量高于其他月份,10 月中旬应为水红花子的最佳采收期,花旗松素的量为 11.673 2 mg/g。有文献报道^[6],不同商品药材水红花子中的花旗松素的量在 0.449 2 ~ 9.131 3 mg/g。11 月份果实已基本脱落,因此本实验 11 月样品仅采集 1 份。

3.2 样品是否脱脂处理对花旗松素的测定影响很大,因此药材用石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C) 脱脂处理。

3.3 提取条件的选择:以回流时间 (1、2、3 h)、回流温度 (60、80、100 $^{\circ}$ C)、酸度 [甲醇-25% 盐酸 (2:1)、甲醇-25% 盐酸 (4:1)、甲醇-25% 盐酸 (6:1)] 为考察条件进行筛选,结果在甲醇-25% 盐酸 (4:1),回流温度为 100 $^{\circ}$ C,回流 3 h 效果最好。

3.4 检测波长的选择:取花旗松素对照品适量,加甲醇溶解,在 200~400 nm 进行波长扫描,花旗松素在 290 nm 处有最大吸收,故检测波长为 290 nm。该测定方法简便准确,重现性好,可以很好地控制水红花子的药材质量。

参考文献:

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [2] 郑占虎,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用 [M]. 北京:学苑出版社,1999.
- [3] 包明惠. 沈仲理治疗子宫肌瘤选药经验录 [J]. 中医文献杂志,1997,52(4): 32.
- [4] 张继振. 红蓼果实黄酮化合物的研究 [J]. 中草药,1990,21(8): 7.
- [5] 乔华,谢 蓂,张晓云. 花旗松素的生物活性及其应用 [J]. 中草药,2003,34(8): 附 15-附 17.
- [6] 张元桐,翟廷君,康廷国,等. HPLC 测定不同地区水红花子中花旗松素含量 [J]. 中国中药杂志,2007,32(20): 2190-2191.

HPLC-ELSD 法测定千斤拔的不同种和不同药用部位中 β -谷甾醇

刘 圆*,任朝琴

(西南民族大学少数民族药物研究所,四川 成都 610041)

摘 要:目的 测定千斤拔的不同种、不同药用部位中 β -谷甾醇的量,以期评价不同种的药材质量,为寻找新药源和新的药用部位提供实验数据。方法 采用 HPLC-ELSD 法。色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),以甲醇为流动相,体积流量 1.0 mL/min;柱温 25 $^{\circ}$ C;蒸发光散射检测器检测参数为漂移管温度 35 $^{\circ}$ C,载气 (N₂) 体积流量 2 mL/min。结果 该方法简便、快速、准确, β -谷甾醇在 0.65~3.25 μ g 呈良好的线性关系,平均回收率为 99.4% (n=9),RSD 为 0.87%。球穗千斤拔与《中国药典》收载种蔓性千斤拔、大叶千斤拔比较,其根、茎和叶中 β -谷甾醇的量低很多,蔓性千斤拔茎、叶中 β -谷甾醇的量远高于其根的量,大叶千斤拔茎、叶中 β -谷甾醇的量也相近或略高于其根中的量。结论 球穗千斤拔不宜替代蔓性千斤拔、大叶千斤拔入药;蔓性千斤拔和大叶千斤拔的茎、

收稿日期:2008-04-29

基金项目:国家科技支撑计划重点项目 (2007BA125B05);四川省青年基金项目 (07ZQ026-011);国家中医药管理局 (06-07ZP43)

* 通讯作者 刘 圆 Tel: (028) 85528878 13808091609 E-mail: yuanliu163@yahoo.com.cn

叶可以与其根同等入药。

关键词: HPLC-ELSD 法; β -谷甾醇; 蔓性千斤拔; 大叶千斤拔; 球穗千斤拔

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)12-1891-04

常见妇科疾病以经前期综合征、阴道炎症、乳腺增生 3 大疾病最为明显,其中阴道炎症为常见和多发妇科疾病,严重影响患者的生活质量。目前市面上治疗效果和销量较好的妇科千金片对阴道炎症有良好的治疗作用;千斤拔为其君药,2005 年版《中国药典》中收载千斤拔为豆科植物蔓性千斤拔 *Moghania philippinensis* (Merr. et Rolfe) Li、大叶千斤拔 *M. macrophylla* (Willd.) O. Kuntze 或锈毛千斤拔 *M. ferruginea* (Wall. ex Benth.) Li 的干燥根^[1],具有镇痛、抗炎作用,可治疗妇科病^[2];地方药用的还有球穗千斤拔 *M. strobilifera* (Linn.) Ait. 等种,其中蔓性千斤拔、大叶千斤拔分布较广,主产于江西、福建、台湾、湖北、湖南、广西、广东、四川等省区;球穗千斤拔未形成大宗商品,但可见到混杂于蔓性千斤拔的商品药材中^[3]。

文献报道千斤拔含有黄酮、多糖、生物碱、 β -谷甾醇等多种成分^[2]。 β -谷甾醇具有明显的降胆固醇、抗炎、止咳、抗癌等药理作用^[4]; β -谷甾醇的分析方法有薄层扫描法、气相色谱法、高效液相-紫外检测法,高效液相色谱-蒸发光散射检测法^[4]。本实验拟采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定 3 个种、不同药用部位 β -谷甾醇的量,以期评价其不同种的药材质量,为寻找新药源和新的药用部位提供实验数据。

1 仪器与试剂

Lab Alliance 分离系统,ELSD model 200 检测器,N2000 色谱工作站;KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),METTLER AE240 电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。 β -谷甾醇对照品(110851-200403,中国药品生物制品检定所),甲醇、乙腈为色谱纯(美国迪马公司),水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。蔓性千斤拔采于湖北宜昌,大叶千斤拔采于四川成都,球穗千斤拔采于广西岑城。经刘圆和戴斌副教授鉴定分别为蔓性千斤拔 *Moghania philippinensis* (Merr. et Rolfe) Li、大叶千斤拔 *M. macrophylla* (Willd.) O. Kuntze、球穗千斤拔 *M. strobilifera* (Linn.) Ait. 的干燥根、茎、叶。

2 方法与结果

2.1 流动相选择:进行色谱流动相系统选择时,分

别用不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇对样品进行分离,结果甲醇的分离效果为佳。

2.2 提取条件的选择

2.2.1 提取溶媒的选择:分别用石油醚、乙醚、氯仿、甲醇作提取溶媒。分别称取千斤拔根药材(24 目)约 5 g,4 份,精密称定,分别用石油醚、乙醚、氯仿、甲醇对样品进行索氏提取 4 h,滤过,挥去溶剂,残渣加入甲醇溶解。结果以氯仿提取液样品中 β -谷甾醇的量最高,故本试验采用氯仿溶液提取。

2.2.2 提取方法的选择:分别称取千斤拔根药材(24 目)约 5 g,3 份,精密称定,用料液比为 1:20 氯仿分别对 3 份样品进行超声处理 1 h,加热回流提取、索氏提取 2 h,滤过,挥去溶剂,残渣加入甲醇溶解。结果索氏提取方法的 β -谷甾醇提取率高,故本试验采用索氏提取法。

2.2.3 粉碎度的考察:分别称取过 10、24、50 目的千斤拔药材约 5 g,精密称定,加入料液比为 1:20 的氯仿溶液,索氏提取 2 h,挥去溶剂,残渣加入甲醇溶解。结果过 10 目的千斤拔药材 β -谷甾醇含量高,故本试验采用过 10 目的药材。

2.2.4 提取时间的考察:分别称取千斤拔根药材(20 目)约 5 g,6 份,精密称定,料液比为 1:20 的氯仿溶液,挥去溶剂,残渣加入甲醇溶解。考察提取时间 1、1.5、2、2.5、3、3.5 h 的 β -谷甾醇的量。结果 3 h 时 β -谷甾醇的量较高;延长提取时间, β -谷甾醇的量增加很少,考虑节约成本,故选择提取时间为 3 h。

2.2.5 料液比的考察:分别称取千斤拔根药材(10 目)约 5 g,5 份,精密称定,分别加入料液比为 1:14、1:16、1:18、1:20、1:22 的氯仿,索氏提取 3 h,滤过,挥去溶剂,残渣加入甲醇溶解。结果料液比为 1:16 时, β -谷甾醇提取率高,增加溶液其差别不大,为节约试剂,采用料液比为 1:16。

2.3 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),柱温 25 $^{\circ}$ C,体积流量 1.0 mL/min,流动相甲醇,蒸发光散射检测器检测参数为漂移管温度 35 $^{\circ}$ C,载气 (N_2) 体积流量 2 L/min。在此色谱条件下, β -谷甾醇峰与样品中的其他组分峰达到基线分离,峰形对称,阴性无干扰。按 β -谷甾醇峰计算,色谱柱的理论塔板数不低于 10 000。

2.4 对照品溶液制备:精密称取β-谷甾醇对照品适量,用甲醇溶解,制成 0.130 mg/mL β-谷甾醇对照品溶液。

2.5 供试品溶液制备:分别称取干燥的大叶千斤拔、蔓性千斤拔、球穗千斤拔药材的根、茎、叶粉末(10目)各 5.0 g,精密称定,精密加入氯仿 80 mL,提取 3 h,挥去溶剂,加入甲醇使之溶解,定容至 25 mL,取溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.6 线性关系考察:分别精密量取对照品溶液 5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0、22.5、25 μL,按色谱条件进行测定,以对照品质量的自然对数为横坐标,峰面积的自然对数为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为:Y=1.988 8 X+11.211 × 10⁴, r=0.999 1,线性范围为 0.65~3.25 μg。

2.7 精密度试验:精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测得峰面积的 RSD 为 1.2%。结果表明精密度良好。

2.8 重现性试验:取同一批样品,精密称取 6 份,制备供试品溶液,测定β-谷甾醇的量,结果质量分数为 0.006 8%,RSD 为 0.8%,表明重现性良好。

2.9 稳定性试验:精密量取供试品溶液 10 μL,分别于 0、2、4、6、8 h 测定,按照β-谷甾醇对照品峰面积计算 RSD 为 0.7%,结果表明供试品溶液在配制后 8 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验:精密称取已测定的药材(根)样品约 2.5 g,分为 3 组分别加入β-谷甾醇对照品溶液(0.130 mg/mL) 20、25、30 mL,制备供试品溶液,按色谱条件测定,计算回收率。结果 9 份样品平均回收率为 99.40%,RSD 为 0.87%。

2.11 样品的测定:按色谱条件分别进样大叶千斤

拔、蔓性千斤拔、球穗千斤拔药材的根、茎和叶供试品溶液 10 μL,测定峰面积,外标法计算β-谷甾醇的量,结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 样品中β-谷甾醇的测定(n=3)

Table 1 Determination of β-sitosterol in samples (n=3)

样品	产地	采集时间	部位	β-谷甾醇/(mg·g ⁻¹)
大叶千斤拔	四川成都	2007-05	根	6.90
			茎	6.91
			叶	8.95
蔓性千斤拔	湖北宜昌	2007-08	根	6.93
			茎	19.07
			叶	13.00
球穗千斤拔	广西岑城	2007-10	根	1.23
			茎	0.46
			叶	1.65

3 讨论

3.1 本实验分别考察了 RP-HPLC-UV 和 RP-HPLC-ELSD 法,发现用 HPLC-ELSD 法可以避免用 UV 检测器β-谷甾醇在紫外区域吸收峰临近流动相的末端吸收,色谱峰容易被淹没的问题。

3.2 采用 RP-HPLC-ELSD 测定玉米须中β-谷甾醇的量曾有报道^[4],但未见关于千斤拔药材β-谷甾醇的量测定研究的报道。本实验建立了千斤拔药材中β-谷甾醇的量测定方法,方法简便、准确,重现性好,可用于千斤拔的质量评价方法之一。

3.3 从结果中可以看出,球穗千斤拔与《中国药典》收载的蔓性千斤拔、大叶千斤拔比较,其根、茎和叶中β-谷甾醇的量低很多,故从有效化学成分β-谷甾醇角度考虑,建议球穗千斤拔不宜替代蔓性千斤拔、大叶千斤拔入药。蔓性千斤拔茎、叶中β-谷甾醇的量远高于其根的量,大叶千斤拔茎、叶中β-谷甾醇的量也相近或略高于其根中的量,故从有效化学成分β-

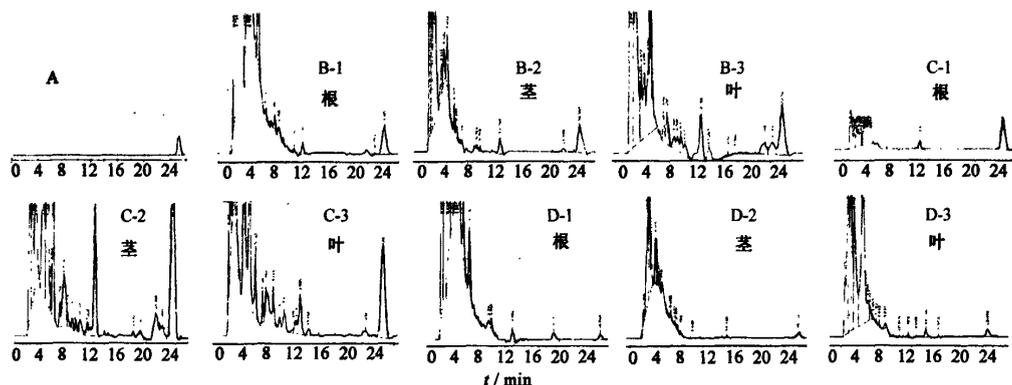


图 1 对照品β-谷甾醇(A)与大叶千斤拔(B)、蔓性千斤拔(C)、球穗千斤拔(D)色谱图
Fig. 1 Chromatograms of β-sitosterol reference substance (A), *M. mucrophylla* (B), *M. philippinensis* (C), and *M. strobilifera* (D)

谷甾醇、资源的综合及可持续利用角度考虑,建议蔓性千斤拔和大叶千斤拔的茎、叶可以与其根同等入药。

3.4 本次实验材料采于国内不同地区的野生药材,很难确定其准确的生长年限,同产地、同采收期的千斤拔药材有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 宋立人,洪 恂,丁续亮,等. 中国中药学大辞典(上)[M]. 北京:人民卫生出版社,2001.
- [3] 饶伟文,黄建楷,温志芳,等. 千斤拔的种调查与质量研究[J]. 中草药,1999,30(3):219-222.
- [4] 张海波,李 钦. HPLC-ELSD 法测定玉米须中 β -谷甾醇的含量[J]. 河南大学学报(医学版),2006,25(4):53-55.

RP-HPLC 法测定绵马贯众药材中绵马贯众素

司云珊¹,徐敬海²,韩 冬¹,赵洪峰¹,解生旭¹,徐雅娟^{1*}

(1. 吉林省中医中药研究院,吉林 长春 130021; 2. 北京中医药大学,北京 100102)

摘要:目的 分离纯化绵马贯众素,建立 RP-HPLC 法测定绵马贯众中绵马贯众素的方法。方法 采用 ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m),流动相为异丙醇-甲醇-氯仿-水-磷酸(102:20:12:24:0.1),检测波长 283 nm。结果 该方法的线性范围为 0.4~1.6 μ g, $r=0.995$ ($n=5$),平均回收率 101.23%,RSD=2.11% ($n=5$)。结论 绵马贯众素质量分数达到 99.13%,可作为对照品。绵马贯众素定量测定方法简便,准确,重现性好,可用于该药材及其制剂中该成分的定量测定。

关键词:HPLC 法; 绵马贯众; 绵马贯众素; 定量测定

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)12-1894-02

绵马贯众为鳞毛蕨科植物粗茎鳞毛蕨 *Dryopteris crassirhizoma* Nakai 的干燥根茎及叶柄残基。具有清热解毒、驱虫的功效,广泛用于临床^[1]。绵马贯众中主要含绵马贯众素、绵马素、绵马次酸等成分^[2]。绵马贯众已被广泛应用于临床制剂中,《中国药典》尚无可质量控制的定量测定,为控制药材及其制剂质量,笔者从绵马贯众药材中分离纯化得到绵马贯众素,测定了绵马贯众中绵马贯众素的量。

1 仪器与试剂

美国 Waters 600E 高效液相色谱仪,486 紫外检测器,7725 手动进样器。对照品绵马贯众素实验室自制,质量分数为 99.13%。药材采自全国各地,经长春中医药大学邓明鲁教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适用性实验:色谱柱为 Novapak C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)。流动相为异丙醇-甲醇-氯仿-水-磷酸(102:20:12:24:0.1)。进样量:10 μ L,理论塔板数按绵马贯众素计算不得少于 2 500。

2.2 对照品溶液制备:精密称取绵马贯众素适量,加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取绵马贯众粉末(过 4 号筛)0.5 g,精密称定,置 50 μ L 量瓶中,加乙醚 30 mL 冷浸 24 h,补乙醚至刻度,取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,加乙醚至刻度,摇匀即得。

2.4 专属性试验:精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 5 μ L,按色谱条件进样,结果供试品色谱中,在与绵马贯众素对照品色谱相同的保留时间处有色谱峰,与其他组分能基本达到基线分离($R>1.5$);阴性对照色谱中,在与绵马贯众素对照品色谱峰相同的保留时间处无色谱峰,表明阴性对照无干扰,具有专属性。见图 1。

2.5 标准曲线的绘制:精密吸取对照品溶液 4.5、

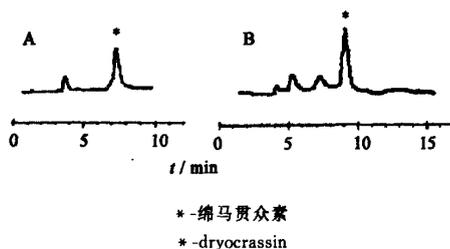


图 1 东北贯众素对照品(A)和样品(B) HPLC 图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of dryocassin reference substance (A) and sample (B)

收稿日期:2008-06-25

基金项目:国家科技部十五公关项目(项目编号 03-929-01-30)

作者简介:司云珊(1970—),1996 年毕业于长春中医药大学中药学专业,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,主要从事中药化学的基础研究和新药研发。 E-mail:siyunshan1970@126.com

* 通讯作者 徐雅娟 Tel: 0431-86816848 Fax: 0431-85910067