7、9、11、13、16 μL，注入高效液相色谱仪，按上述条件测定，绵马贯众素色谱峰峰面积积分值（X）与质量浓度进行回归，得回归方程 $Y=461\ 599+1\ 718\ 503\ X$，$r=0.995$，质量浓度在 0.4～1.6 μg 与峰面积积分值成良好的线性关系。

2.6 精密度试验：按上述色谱条件精密吸取对照品溶液 10 μL，连续进样 5 次，测峰面积，RSD 为 3.2%。

2.7 重现性试验：精密称取供试品 5 份，分别按供试品溶液制备方法制备，按上述色谱条件测定峰面积并计算质量分数，结果 RSD 为 1.78%。

2.8 稳定性试验：按上述色谱条件，精密吸取对照品溶液 10 μL，每隔 2 h 测定 1 次，测定峰面积，结果 RSD=1.53%。

2.9 回收率试验：精密称取已测定的样品粉末 5 份，每份 0.25 g，分别精密加入一定量对照品溶液，依照 2.3 项下操作，测得绵马贯众素平均回收率为 101.23%，RSD 为 2.6%。

2.10 样品测定：取不同产地绵马贯众药材，照 2.3 项下操作，测定其绵马贯众素的量，结果见表 1。

表 1 绵马贯众中绵马贯众素的测定结果（$n=2$）

Table 1 Determination of dryocrassin in *D. crassirhizoma* ($n=2$)

产 地	采集方式	采集时间	绵马贯众素/%
长春	市售	2000-12	5.58
安图	采集	2000-10	10.20
抚松	采集	2000-09	10.65
通化(1)	市售	2001-02	5.12
吉林(1)	市售	2001-03	6.27
吉林(2)	市售	2001-03	—
二道白河	采集	2000-10	8.53
黑龙江	市售	2001-04	9.39
八道沟	采集	2001-10	7.84
长白县	采集	2001-10	11.80
长白县	采集	2001-10	11.17

3 讨论

从绵马贯众中分离得到了绵马贯众素，质量分数达 99%以上，建立了 RP-HPLC 测定东北贯众素的方法。本方法简便，准确，重现性好。

测定了不同市售药材的绵马贯众素的量，结果差别较大，其中浙江、四平、南京、通化等地的绵马贯众未测出绵马贯众素，而长白县、安图、抚松量高达 10% 以上，说明市售药材质量不一。绵马贯众素为绵马贯众的主要药效成分，绵马贯众素的量可以为绵马贯众的临床合理应用提供依据。

参考文献：

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.

[2] 宋立人，丁绪亮，藏载阳，等. 现代中药学大辞典（上册）[M]. 北京：人民卫生出版社，2001.

HPLC 法测定板蓝根中落叶松脂素-4,4′-二-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷

何立巍，李 祥*，陈建伟，夏 怡，汪莹莹

（南京中医药大学，江苏 南京 210046）

摘 要：目的 建立板蓝根药材抗病毒活性成分落叶松脂素-4,4′-二-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷（直铁线莲宁 B，clemastanin B）的定量测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法，色谱柱为 Lichrospher-C_{18}柱，流动相：甲醇-乙腈-水（24∶1∶75），体积流量：1.0 mL/min；紫外检测波长：280 nm。**结果** 测定了板蓝根主要产地药材中落叶松脂素-4,4′-二-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷的量，平均质量分数为 0.041%，加样回收率为 98.8%，RSD 为 0.60%。**结论** 本方法简便、灵敏、结果可靠，可作为板蓝根药材质量控制的定量方法。

关键词：板蓝根；落叶松脂素-4,4′-二-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷；HPLC

中图分类号：R282.6 **文献标识码：**A **文章编号：**0253-2670(2008)12-1895-03

板蓝根为清热解毒类常用中药，但在药材质量控制标准上，直至 2005 年版《中国药典》中仍没有定量测定项。落叶松脂素-4,4′-二-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷（直铁线莲宁 B，clemastanin B）是在板蓝根抗病毒有效部位中分离得到的量最多的木脂素类化合物，占有效部位的 2% 左右，占生药量的 0.04%。体外

收稿日期：2008-04-09

基金项目：江苏省科技厅高技术研究课题（BG2003315）；江苏省高校自然科学基础研究项目（07KJD360165）；江苏省中医药管理局科技研究专项基金（HZ07044）

作者简介：何立巍（1974—），男，黑龙江省哈尔滨人，博士，讲师。E-mail：heliwei@sina.com

*通讯作者 李 祥 Tel：(025) 51998182 E-mail：Lixiang_8182@163.com

抗 HSV 病毒活性研究结果表明，直铁线莲宁 B 在质量浓度为 0.06～0.50 mg/mL，均表现出一定的抑制 HSV-1 和 HSV-2 型病毒效果，且文献报道直铁线莲宁 B 具有抗氧化和清除自由基活性，即具有超氧化物歧化酶样作用，对细胞具有显著的保护作用[1,2]。直铁线莲宁 B 化学性质稳定，利用 HPLC 法可以准确、快速检测，故可作为板蓝根的定量指标成分。

1 实验材料

1.1 仪器：岛津 CBM—10A 高效液相色谱系统；SPD—10A 紫外检测器；Class Sailnet Driver 工作站。

1.2 试药：直铁线莲宁 B 对照品由板蓝根药材中自行分离，经 UV、IR、NMR、MS 检测并对照报道文献[3]，鉴定为直铁线莲宁 B。经 HPLC 及 TLC 检验为单一成分，HPLC 峰面积归一化法检测质量分数为 99.2%。

1.3 药材：板蓝根药材购自江苏、安徽、河北等主要产地，经本校鉴定教研室陈建伟教授鉴定为菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 干燥根。甲醇、乙腈等试剂均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件：色谱柱为 Lichrospher-C_{18}（250 mm×4.6 mm），江苏汉邦科技公司产品；柱温：25 ℃；流动相：甲醇-乙腈-水（24∶1∶75）；体积流量：1.0 mL/min；进样量：10 μL；检测波长：280 nm。理论塔板数按直铁线莲宁 B 计算不低于 3 000，主色谱峰与其相邻其他色谱分离度不小于 1.5。

2.2 对照品溶液的制备：取直铁线莲宁 B 对照品适量，精密称定，加甲醇制成 10 μg/mL 的溶液。

2.3 供试样品溶液的制备：精密称取板蓝根粉末（过 40 目筛）1 g，置于 25 mL 量瓶中，加 60% 甲醇适量，60 ℃ 超声摄取 1 h，再加 60% 甲醇定容至刻度，离心（3 500 r/min）10 min，上清液过 0.45 μm 微孔滤膜后，得供试品溶液，备用。

2.4 对照品和样品的色谱行为：按上述色谱条件，进行样品及对照品 HPLC 检测，样品与对照品在相同的保留时间处有相应的色谱峰，且与杂质峰得到较好的分离，见图 1。

2.5 线性关系考察：取直铁线莲宁 B 对照品适量，精密称质量，甲醇定容。配成质量浓度为 0.11 mg/mL 的对照品溶液，精密吸取此溶液 0.5、2.5、5.0、7.5、10 mL，加甲醇定容至 10 mL，分别取上述各对照品溶液进样 10 μL，HPLC 测定，以峰面积对样品的量做图。结果表明，对照品在 5.5～110.0 μg/mL 线性关系良好，回归方程为：$A = 2\ 548.05\ C - 3\ 547.65$，$r = 0.999\ 2$。

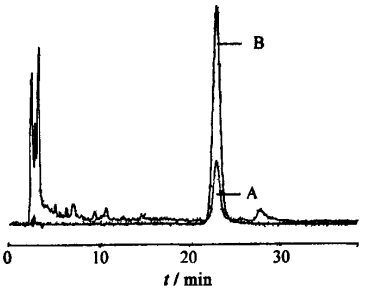

图 1 板蓝根药材(A)及对照品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of *Radix Isatidis* (A) and clemastanin B (B)

2.6 精密度试验：取同一对照品溶液连续进样 7 次，以峰面积计算其精密度，RSD 为 2.89%。

2.7 重现性试验：同时称取江苏产板蓝根样品粉末 1 g，共 5 份，按“供试品溶液的制备”项下进行样品处理，测定，计算药材中直铁线莲宁 B 的量。结果表明，该方法重现性良好，RSD 为 2.79%。

2.8 稳定性试验：同一供试样品溶液，每隔 2 h 测定 1 次，结果表明，该样品溶液在 12 h 内稳定，RSD 为 2.87%。

2.9 加样回收率试验：精密称取已测定的江苏产板蓝根粉末约 1 g，共 6 份，每份加入适量的对照品，精密称定。按“供试品溶液的制备”项下进行样品处理，测定，计算回收率，得直铁线莲宁 B 的平均回收率为 98.80%，RSD 为 0.60%。

2.10 样品测定：分别取板蓝根各产地样品 1 g，精密称定，按“供试品溶液的制备”项下进行处理，测定，结果见表 1。

表 1 板蓝根主产地样品定量测定结果（$n=3$）

Table 1 Determination of samples from main habitats ($n=3$)

产 地	直铁线莲宁 B/(mg·g^{-1})	产 地	直铁线莲宁 B/(mg·g^{-1})
河南商丘	0.346 1	吉林延边	0.619 2
河北定县	0.412 4	湖北房县	0.213 8
河北安国	0.365 6	江苏连云港	0.524 0
安徽亳州	0.440 7		

3 讨论

3.1 为保证色谱峰定性的准确性，除上述流动相外，还用甲醇-水（25∶75）、乙腈-水（10∶90）作为流动相，进行了样品和对照品的定性比较，结果在不同洗脱条件下样品中均有相同的色谱峰与对照品对应。

3.2 检测波长的选择：直铁线莲宁 B 的紫外扫描结果表明在 220 和 280 nm 有最大吸收，但是在 220 nm 处，样品溶液中其他成分干扰较为严重，所

以选定检测波长为 280 nm。

3.3 样品提取方法的选择：根据对照品的溶解性，选择以甲醇为溶剂。考察了甲醇质量分数、提取方式、时间、温度和提取次数对样品中所测成分的影响，以直铁线莲宁 B 的峰面积为评价指标，结果表明 60% 甲醇 60 ℃ 下超声提取 1 h 为最佳提取条件。

3.4 量的限定：板蓝根药材的主产地为河北、河南、安徽、江苏等地，对主产地药材定量测定结果表明，不同产地板蓝根药材直铁线莲宁 B 的量差别较大，以江苏、吉林、安徽、河北量较高。各产地平均量为 0.041%，以降低 20% 为限度计，板蓝根药材中直铁线莲宁 B 的量应不低于 0.033%。

板蓝根抗病毒的有效成分不明确，导致其原药材及其制剂的质量控制方法相对落后。本实验是建立在对板蓝根抗病毒有效成分已进行系统筛选的基础上，在水提物中已经分离得到 31 个化合物中，以木脂素糖苷直铁线莲宁 B 的量最高，且具有明显的抗病毒及抗氧化活性，此前对该物质的定量测定方法未见报道。

参考文献：

[1] Hirano H, Takashi T, Toshio Y, *et al*. Isolation of free radical seavenger from *Coptidis Rhizoma* [J]. *Nat Med*, 1997, 51(6): 5391.

[2] 俞善昌. 氧自由基与清除剂 [J]. 中国实用儿科杂志, 1993, 8(2): 78.

[3] 张永文, 俞敏倩, 陈玉武, 等. 板蓝根中的木脂素双葡萄糖苷 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 395-399.

RP-HPLC 法测定赤芍药材中没食子酸、儿茶素、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸

董 玄，高文远*，高 颖

（天津大学药物科学与技术学院，天津 300072）

摘 要：目的 建立了用 RP-HPLC 对赤芍中没食子酸、儿茶素、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸同时定量的方法，并对不同产地赤芍药材进行考察。**方法** 高效液相色谱法，色谱柱为 Waters Sunfire columns C_{18}（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇-乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱；检测波长采用变波长检测；柱温为 40 ℃；进样量为 10 μL。同时测定了赤芍中没食子酸、儿茶素、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸的量。**结果** 没食子酸在 0.013～0.506 μg 线性关系良好（r=0.999 6）、儿茶素在 0.025～0.993 6 μg 线性关系良好（r=0.999 7）、芍药苷在 0.200～8.017 μg 线性关系良好（r=0.999 6）、芍药内酯苷在 0.030～1.184 μg 线性关系良好（r=0.999 6）、苯甲酸在 0.037～1.485 μg 线性关系良好（r=0.999 6）。平均回收率没食子酸为 98.08%，RSD 为 1.65%；儿茶素为 101.80%，RSD 为 3.07%；芍药内酯苷为 99.18%，RSD 为 3.25%；芍药苷为 95.95%，RSD 为 1.39%；苯甲酸为 101.85%，RSD 为 1.35%。**结论** 本方法测定了不同产地、不同批号赤芍样品中 5 种化学成分的量，该方法分离度好，快速，简便，重现性好。

关键词：赤芍；没食子酸；儿茶素；芍药苷；芍药内酯苷；苯甲酸；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)12-1897-03

赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 或川赤芍 *P. veitchii* Lynch 的干燥根[1]。主产于内蒙古、辽宁、河北、黑龙江、吉林等地，甘肃、山西、青海等地亦产[2]。赤芍的功能为清热凉血、散淤止痛[1]。赤芍总苷中主要含有芍药苷（paeoniflorin）、芍药内酯苷（albiflorin）、羟基芍药苷（oxypaeoniflorin）、苯甲酰芍药苷（benzoyl paeoniflorin）等单萜类化合物，还有儿茶素〔(+)-catechin〕、没食子酸（galic acid）等多酚类物质。此外，赤芍中还含有苯甲酸（benzoic acid，BA）[3,4]。本实验采用 RP-HPLC 法测定了赤芍中有效成分没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷的量，同时对苯甲酸也进行了定量。

1 仪器与试药

美国 HP1100 色谱仪 Agilent 公司，G1311A 四元泵，G1322A、G1314AVWD 检测器，HPRev. A0501 化学工作站；甲醇、乙腈为色谱纯，康科德公司生产；实验用水为娃哈哈纯净水，其余试剂均为分

收稿日期：2008-06-22
基金项目：天津市科技创新专项资金项目（06FZZDSH00404）
作者简介：董 玄（1985－），女，天津人，在读硕士，主要从事中药资源学及中药质量控制方法研究。
*通讯作者 高文远 Tel/Fax：(022) 87401895 E-mail：pharmgao@tju.edu.cn