

物产量,又能获得最高的总皂苷和总黄酮产量。

参考文献:

- [1] 刘世彪,林如,胡正海¹ 绞股蓝属 5 种植物的茎叶结构和总皂苷含量差异 [J] 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35(5): 4952499
- [2] 巫世红,胡丰,杨晨,等¹ 绞股蓝的药理作用研究近况 [J] 广西中医学院学报, 2008, 11(1): 86288
- [3] 李乐,孙晓东,高小利,等¹ 绞股蓝总黄酮对犬急性缺血心肌的保护作用 [J] 中国病理生理杂志, 2008, 24(2): 3882389
- [4] 蒋伟哲,周燕文,李锦燊¹ 六种广西产绞股蓝中总黄酮的含

- 量测定 [J] 中国药房, 2006, 1(17): 2428
- [5] 王临润,黄明珠¹ 中国东南部 4 种绞股蓝中黄酮成分的分析 [J] 中草药, 2007, 38(4): 6182619
- [6] 刘世彪,林如,胡正海¹ 绞股蓝人参皂苷的组织化学定位及其含量的变化 [J] 实验生物学报, 2005, 38(1): 54260
- [7] 丁树利,朱兆仪,李勇¹ 绞股蓝及同属植物的生药学研究 [J] 中国药学杂志, 1994, 29(2): 79283
- [8] 李兰芳,陈玲燕¹ 河北引种绞股蓝中总皂苷、总黄酮、多糖及氨基酸的分析 [J] 时珍国药研究, 1997, 8(2): 1512152
- [9] 王志芬,孙红祥,孙国梅¹ 两种绞股蓝植物茎不同时期黄酮类成分 [J] 科技通报, 1994, 10(6): 3922393

HPLC 法测定不同生长年限杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷

王丽楠,杨美华*

(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所,北京 100193)

摘要:目的 采用 HPLC 法测定不同生长年限杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷的量。方法 色谱柱为 Agilent Zorb2 ax Eclipse XDB₂C₁₈(250 mm@4.6 mm, 5 Lm), 流动相为甲醇:水 (25B 75), 检测波长为 277 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 e。结果 13、22 年生杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷量相对较高; 13 年生杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷量出现最低点。从杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷总量考虑, 22 年为最佳采收期。结论 本实验建立的杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷量测定方法, 重现性好, 结果准确可靠, 为杜仲皮质量控制提供了参考。通过对不同生长年限杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷量的研究, 为杜仲的合理采收提供了科学依据。

关键词: 杜仲; 生长年限; 松脂醇二葡萄糖苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 025322670(2009)040651203

杜仲为杜仲科植物杜仲 *Eucommiae ulmoides* Oliver 的干燥树皮, 别名思仲, 丝连木。杜仲是第四纪冰川侵袭后残留下来的孑遗古老树种, 其近缘种类都已绝灭^[1]。我国是现存杜仲资源的唯一保存地, 至今在世界各地尚未发现其近缘植物, 故有“活化石植物”的美称, 被列为国家二类重点保护树种^[2]。我国第一部药理学专著《神农本草经》就记载了杜仲皮的神奇药效, 称“杜仲味辛平”, 主治“腰膝痛、补中、益精气、坚筋骨、强志。除阴下痒湿, 小便馱沥, 久服轻身耐老”, 并把杜仲列为中药上品。

杜仲的生长期较长, 一般 10 年以上才能开始剥皮。杜仲传统采剥方法采收期为 15~ 20 年, 嫩树剥皮易死, 且皮不易再生^[3]。《中国药典》2005 年版(一部)规定杜仲的初加工方法为刮去粗皮, 堆置/发汗 0 至内皮呈紫褐色, 晒干即可^[4]。由于杜仲独特的药用价值和潜在的经济价值, 国内外学者对其进行大量的研究。现已明确松脂醇二葡萄糖苷 (pi2

noresinol diglucoside, PDG) 有明确的降压作用, 是杜仲主要活性成分^[5]。《中国药典》2005 年版一部杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷的定量测定采用高效液相色谱法^[4]。本实验以《中国药典》方法为基础, 并做出改进, 首次考察了不同生长年限杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷, 为杜仲的合理采收提供科学依据。

1 仪器与试剂

Waters 2695) 2996 高效液相自动进样色谱仪。

松脂醇二葡萄糖苷对照品 (批号: 1115372 200502) 购于中国药品生物制品检定所; 甲醇为色谱纯 (Fisher 公司生产); 蒸馏水为娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯。

样品于 2007 年 5 月采自中国药材集团都江堰华泰川芎药业有限责任公司三大药材基地杜仲种植区。采收方法: 在离地 1 m 处环割, 以此为起点向上取一定高度, 割第二道切口, 在两切口间纵割一切口, 用竹片沿切口将整张树皮剥下。共采集杜仲

* 收稿日期: 20080702

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2006BAI09B05)

作者简介: 王丽楠, 女, 在读博士, 研究方向为中药质量分析及新药研究开发。E-mail: wln246@hotmail.com

* 通讯作者: 杨美华 E-mail: yangmeihua15@hotmail.com Tel: (010) 62899730 13041071999

8、13、22、30 年生 4 组样品, 每组 3 批。将样品自然晾干, 将栓皮刮下后, 内皮、栓皮分别粉碎, 待用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse XDB2C₁₈(250 mm @4.6 mm, 5 Lm), 流动相为甲醇2水 (25 B 75), 检测波长为 277 nm, 进样量 10 LL, 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 e。在此条件下, 样品中松脂醇二葡萄糖苷与其他相关峰能达到基线分离, 见图 1。

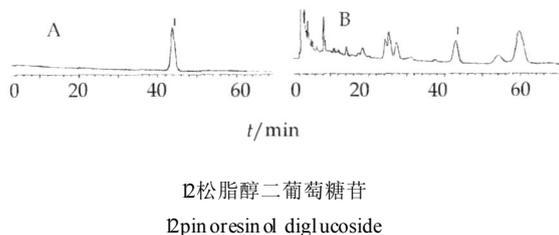


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance (A) and sample (B)

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取松脂醇二葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成 0.5 mg/mL 的溶液, 摇匀, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备: 取药材 2 g, 精密称定, 精密加入三氯甲烷适量, 超声提取 30 min, 弃去三氯甲烷液, 药渣挥去三氯甲烷, 再加入甲醇适量, 分别超声提取 45 min, 提取液回收甲醇至适量, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 精密度试验: 取一定质量浓度松脂醇二葡萄糖苷对照品溶液连续测定 5 次, 计算质量分数, 其 RSD 为 0.04%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验: 取对照品溶液于室温放置 0、2、4、6、8 h 测定质量分数, RSD 为 0.21%。表明对照品在 8 h 内稳定。

2.1.6 重现性试验: 精密称取杜仲内皮样品 (批号: 20070501) 6 份, 按上述定量测定方法进行测定, 质量分数为 0.12%, RSD 为 1.90%, 表明重现性良好。

2.1.7 加样回收率: 精密称取杜仲内皮样品 (批号: 20070501) 1.10 g, 分别精密加入对照品 1.2 mg, 各份均按上述定量测定方法进行测定, 平均回收率 101.56%, RSD 为 1.85% (n = 6)。

2.1.8 样品测定: 分别将杜仲栓皮、内皮样品按照 2.1.3 项所述处理后, 测定质量分数。结果见表 1。

3 讨论

3.1.1 提取方法的考察: 取杜仲内皮样品 (批号:

表 1 不同生长年限杜仲栓皮、内皮松脂醇二葡萄糖苷测定结果

Table 1 Determination of pinoresinol diglucoside from *E. ulmoides* bark and endodermis in various growing years

生长年限/年	批号	栓皮/%	内皮/%
8	20070501	0.04	0.12
	20070502	0.06	0.17
	20070503	0.11	0.20
13	20070504	0.00	0.23
	20070505	0.00	0.44
	20070506	0.01	0.31
22	20070507	0.12	0.37
	20070508	0.11	0.33
	20070509	0.14	0.38
30	20070510	0.07	0.22
	20070511	0.17	0.26
	20070512	0.05	0.19

20070501) 2.10 g (n = 2), 精密称定, 精密加入三氯甲烷适量, 分别采用索氏提取 6 h、超声提取 1 h, 弃去三氯甲烷, 药渣挥去三氯甲烷, 再加入甲醇适量, 再依次分别采用索氏提取 6 h、超声提取 1 h, 提取液滤过, 蒸干, 流动相定容至 10 mL, 即得。按 2.1.1 项色谱条件进行定量测定。实验结果表明, 超声提取与索氏提取效果基本一致, 故采用超声提取方法。

3.1.2 提取时间的考察: 取杜仲内皮样品 (批号: 20070501) 2.10 g (n = 6), 精密称定, 精密加入三氯甲烷适量, 超声提取 30 min, 弃去三氯甲烷, 药渣挥去三氯甲烷, 再加入甲醇适量, 分别超声提取 15、30、45、60 min, 提取液回收甲醇至适量, 转移至 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。按 2.1.1 项色谱条件进行定量测定。实验结果表明, 超声提取 45 min 效果最佳。

3.1.3 由表 1 看出, 各组杜仲样品栓皮松脂醇二葡萄糖苷量明显低于内皮。5 中国药典 6 规定杜仲去栓皮入药, 而笔者了解市场上杜仲存在不去栓皮入药的情况。就本实验结果分析, 仅从松脂醇二葡萄糖苷量角度考虑, 杜仲去栓皮入药更具科学性。

表 1 中 4 组杜仲样品内皮松脂醇二葡萄糖苷量变化不明显, 13、22 年生杜仲内皮松脂醇二葡萄糖苷量相对较高。由表 1 分析, 4 组杜仲样品栓皮松脂醇二葡萄糖苷的量 13 年生杜仲松脂醇二葡萄糖苷量出现最低点, 由于杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷总量 22 年生最高, 因此, 从杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷总量考虑, 22 年为最佳采收期。

3.1.4 本实验对 5 中国药典 6 中杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷定量测定方法进行改进, 与 5 中国药典 6 方法比

较,测定结果相似,方法简便,重现性好,为杜仲皮质量控制提供了参考。同时,通过对不同生长年限杜仲皮松脂醇二葡萄糖苷量的研究,为杜仲的合理采收提供了科学依据。

致谢:感谢中国药材集团都江堰华泰川芎药业有限责任公司在采集药材方面提供的支持和帮助!

参考文献:

[1] 张康健¹ 中国杜仲研究 [M] 西安: 陕西科技出版社, 1992
 [2] 傅主国¹ 中国植物红皮书)) 稀有濒危植物 [M] 北京: 科学出版社, 1991
 [3] 吴吉龙, 张国清¹ 杜仲皮的采制与加工 [J] 安徽林业, 1999, 4: 19
 [4] 中国药典 [S] 一部 1, 2005
 [5] 王海燕¹ 肾脏病学 (第 2 版) [M] 北京: 人民卫生出版社, 1996

HPLC 法测定滨蒿中对羟基苯乙酮

叶 婷¹, 万 丽^{1*}, 周 立², 王 敏¹, 王 凌¹

(¹ 成都中医药大学, 四川 成都 611137; ² 贵阳市农业局, 贵州 贵阳 550000)

摘要:目的 从滨蒿中分离得到对羟基苯乙酮并建立其定量测定方法。方法 采用硅胶柱色谱和 Sephadex LH20 从滨蒿的三氯甲烷部位分离得到对羟基苯乙酮; 采用 Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱 (250 mm@4.6 mm, 5 Lm), 甲醇 2% 醋酸溶液 (30B 70) 为流动相, 检测波长为 275 nm, 对不同产地滨蒿中对羟基苯乙酮的量进行测定。结果 对羟基苯乙酮在 0.098~0.786 Lg 线性关系良好, 精密性、稳定性、重现性、加样回收率试验的 RSD 均小于 2%, 平均加样回收率为 99.80%。结论 该方法准确、快速、重现性好, 可用于滨蒿中对羟基苯乙酮量的测定。

关键词: 滨蒿; 对羟基苯乙酮; 定量测定

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)04-0653-02

滨蒿为 2005 年版中国药典一部茵陈项下收载品种之一, 为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分, 具有清湿热, 退黄疸的功效^[1], 为利胆退黄的要药^[2], 现代研究表明, 对羟基苯乙酮具有明确的利胆活性^[3], 是滨蒿的有效成分之一, 而茵陈的现行质量标准中没有定量测定项, 相关文献报道^[4-8] 也尚未见关于滨蒿中对羟基苯乙酮定量测定方面的报道。本实验运用硅胶柱色谱从滨蒿的三氯甲烷部位中分离得到对羟基苯乙酮, ¹H²NMR、¹³C²NMR 光谱数据与对羟基苯乙酮文献值一致^[9]。采用 HPLC 法测定了 10 个产地滨蒿中对羟基苯乙酮, 为滨蒿的质量控制以及茵陈药材质量标准的建立奠定基础。

1 仪器与试剂

Varian ProStar 210 高效液相色谱仪 (Varian Model 325 检测器): 美国瓦里安公司; BP211D (万分之一、十万分之一) 型电子天平: 德国 Sartorius 公司; 对羟基苯乙酮对照品: 自制, 质量分数大于 98%; 滨蒿药材购自四川、山西、辽宁、广西、陕西、河南、安徽、新疆, 经成都中医药大学严铸云教授鉴定为滨蒿 *A. scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部

分; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱 (250 mm@4.6 mm, 5 Lm); 以甲醇 22% 醋酸溶液 (30B 70) 为流动相; 体积流量为 1 mL/min; 检测波长为 275 nm; 柱温: 30 °C。理论塔板数按对羟基苯乙酮峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 1。

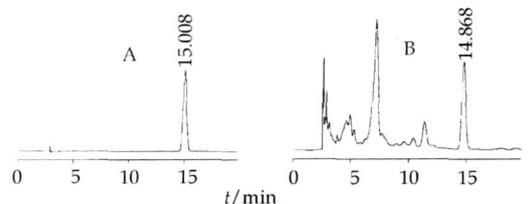


图 1 对羟基苯乙酮对照品(A)和样品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of p2hydroxyacetophenone reference substance (A) and sample (B)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取对羟基苯乙酮对照品适量, 加甲醇制成含 0.1 mg/mL 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取滨蒿药材约 2 g, 精密称定, 加入甲醇 30 mL, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤

* 收稿日期: 2008-02-18

作者简介: 叶 婷(1984), 女, 南宁市人, 在读硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础与质量标准的研究。

Tel: (028) 61801628 E2mail: yep_130@163.com

* 通讯作者 万 丽