

3.5 对3组茎皮和木心的测定结果显示,木心中刺五加苷E的量在当年新枝中可达茎皮的两倍以上,而在老枝中约为茎皮的一半。推测刺五加苷E在嫩枝中木质部的积累速度高于皮部,随着枝条的生长,刺五加苷持续积累,但木质部的细胞增长速率高于韧皮部,因此老枝中茎皮的刺五加苷E的量高于木心。木心一直被认为是非药用部位而弃去,本实验结果显示木心中的刺五加苷E量较高,应加以利用,对于扩大药源、保护资源有积极意义。

3.6 本实验另对15批不同来源的红毛五加叶进行

了定量测定,其中仅有7批样品中含有刺五加苷E,其量在0.025~0.503 mg/g。

参考文献:

- [1] 四川省中药材标准[S], 1987.
- [2] 党月兰, 龚经纬. 红毛五加总苷的镇痛作用[J]. 中国药物依赖性杂志, 1998, 7(2): 88-92.
- [3] 党月兰, 骆勤, 李淑玉. 红毛五加总苷的抗炎作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(1): 14-18.
- [4] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.
- [5] 楼之岑, 秦波. 常用中药材品种整理和质量研究[M]. 北方编. 第2册. 北京: 北京大学医学出版社, 1995.

## HPLC法测定赶黄草中槲皮苷、槲皮素和乔松素-7-O-葡萄糖苷

贺晓华<sup>1,2</sup>, 王小淞<sup>1</sup>, 曾建国<sup>1,2,\*</sup>, 罗丽娟<sup>1</sup>, 铃木万荣<sup>3</sup>

(1. 湖南省中药提取工程研究中心, 湖南 长沙 410331; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007;

3. 日本丸荣贸易株式会社, 日本 东京 1010032)

**摘要:**目的 建立测定赶黄草中槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷等黄酮类成分的分析方法。方法 用HPLC法; 色谱柱为Luna-C<sub>18</sub>柱; 流动相为乙腈-0.1%磷酸水, 梯度洗脱; 检测波长267 nm; 体积流量0.8 mL/min。结果 槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷获得良好分离, 在10.8~216.0、10.4~208.0、10.4~207.0 μg/mL与峰面积积分值线性关系良好; 重现性试验RSD分别为0.19%、0.19%、0.12%; 加样回收率分别为100.17%、100.06%、99.87%。结论 本方法简便快速, 精密度、分离度良好, 为赶黄草及其制剂质量标准的制定提供了可供借鉴的方法。

**关键词:** 赶黄草; 槲皮苷; 槲皮素; 乔松素-7-O-葡萄糖苷; 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(2009)06-0981-03

赶黄草是虎耳草科扯根菜属植物扯根菜 *Penthorum chinense* Pursh 的干燥地上部分<sup>[1]</sup>, 为苗族民间的草药, 具有清热解毒、退黄利湿、活血散瘀、利水消肿之功效<sup>[2]</sup>, 广泛用于治疗各型肝炎、胆囊炎、脂肪肝等<sup>[3]</sup>。赶黄草中含有黄酮类、有机酸类等成分, 其中已知并且稳定存在的为没食子酸、槲皮素<sup>[4]</sup>, 另外还有槲皮苷(槲皮素-3-O-鼠李糖苷)、乔松素-7-O-葡萄糖苷等其他黄酮成分<sup>[5]</sup>。已有文献报道采用HPLC法测定赶黄草中槲皮素。本研究采用RP-HPLC法对赶黄草中槲皮苷、槲皮素和乔松素-7-O-葡萄糖苷3种黄酮成分进行了测定。实验结果表明, 该方法分离度好, 具有良好的精密度和重现性, 可为赶黄草质量标准建立提供定量测定指标。

### 1 仪器与试药

1.1 仪器: 高效液相色谱仪(岛津20A); 色谱工作站(岛津LC-Solution系统); 超声清洗仪(昆明市超声仪器有限公司); 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 试药: 槲皮素(中国药品生物制品检定所, 质量分数为98%, 批号100081-200406); 槲皮苷(中国药品生物制品检定所, 质量分数为98%, 批号111538-200403); 乔松素-7-O-葡萄糖苷(自制, 经核磁共振、质谱等技术分析鉴定, 峰面积归一化法计算质量分数大于98%)。实验用甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯, 试验用水为自制二次重蒸水。

1.3 药材: 赶黄草药材采于四川古蔺(药材原产地)和湖南浏阳(由四川古蔺引种, 浏阳自种), 经湖南中医药大学周日宝教授鉴定为扯根菜 *P. chinense*

\* 收稿日期: 2008-10-19

基金项目: 湖南省科技厅重点项目(2007wk2003)

作者简介: 贺晓华(1983—), 女, 湖南省长沙市人, 硕士生, 研究方向为中药及其复方化学成分研究。

Tel.: 013574875497 E-mail: hexiaohualuck@163.com

\*通讯作者 曾建国 Tel.: (0731)4686478 E-mail: ginkgo@world-way.net

Pursh。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Luna-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 广州菲罗门科学仪器有限公司;检测波长:267 nm;体积流量:0.8 mL/min;柱温:35 °C;进样量:5 μL;流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)二元线性梯度洗脱(0~45 min,有机相先增大至45%,在逐步回到起始状态)。按上述色谱条件,对照品溶液理论塔板数以槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷峰计算,均不低于5 000;槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷与相邻峰之间的分离度均大于1.5;对称因子均在0.95~1.05。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取于五氧化二磷真空干燥24 h至恒重的对照品槲皮苷、槲皮素和乔松素-7-O-葡萄糖苷适量于50 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成槲皮苷、槲皮素和乔松素-7-O-葡萄糖苷分别为0.216、0.208、0.207 mg/mL的混合溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取赶黄草药材细粉(过四号筛),约1.0 g,精密称定,精密加入甲醇50 mL于具塞锥形瓶中,称质量,超声处理30 min,放冷,再称质量,用甲醇补足损失的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线的制备:取对照品溶液0.5、1.0、2.0、5.0、8.0、10.0 mL,分别置于10.0 mL量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取5 μL进样分析。以各成分峰面积为纵坐标,相应质量浓度为横坐标,进行线性回归分析,得槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷的回归方程分别为: $Y = 4.26 \times 10^4 X + 8.630$ ,  $r = 0.9999$ ;  $Y = 6.44 \times 10^4 X + 0.949$ ,  $r = 0.9999$ ;  $Y = 1.24 \times 10^4 X - 8.160$ ,  $r = 0.9998$ 。结果表明,槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷分别在10.8~216.0、10.4~208.0、10.4~207.0 μg/mL与峰面积积分值线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取上述对照品溶液5 μL,连续重复进样6次,槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷峰面积的RSD分别为0.10%、0.10%、0.13%。

2.6 重现性试验:精密称取同一批样品(产地四川古蔺,批号080201),共6份,按“供试品溶液的制备”项下方法操作,在上述色谱条件下进样,槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷质量分数的平均值分别为2.12、0.73、0.53 mg/g, RSD值分别为0.19%、0.19%、0.12%。

2.7 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液(产地四川古蔺,批号080201)各5 μL,分别在0、4、8、12、24、48 h进样分析,测得槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷峰面积的RSD值分别为0.15%、0.13%、0.17%,表明供试品溶液在48 h稳定性良好。

2.8 加样回收率试验:精密称取赶黄草药材(产地四川古蔺,批号080201)9份,每份0.1 g,每3份为一组,每组分别加入相应对照品,按“供试品溶液的制备”项下方法操作制成所需溶液,在上述色谱条件下进样分析。结果槲皮苷低、中、高3个加入量的平均回收率为100.17%;槲皮素低、中、高3个加入量的平均回收率为100.06%;乔松素-7-O-葡萄糖苷低、中、高3个加入量的平均回收率为99.87%。

2.9 样品测定:取四川古蔺原产地和湖南浏阳自种(四川古蔺引种)的赶黄草药材粉末各约10 g,精密称定,按“供试品溶液的制备”项下方法进行操作,在上述色谱条件下进行分析,用外标法计算样品中槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷的量。药材中槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷的定量测定结果见表1,色谱图见图1。结果表明,槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷的量较高;在所收集的药材中槲皮苷的量明显高于其他成分,说明从量上看槲皮苷为主要黄酮成分;湖南浏阳产地的赶黄草药材的量与四川古蔺产地的药材的量存在差别,这些差别可能是由气候、生长环境、降水量等因素不同引起的。

表1 不同产地赶黄草药材中槲皮素、槲皮苷、乔松素-7-O-葡萄糖苷的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of quercetin, quercitrin, and 3-pinoembrin-7-O-glucopyranoside of *P. chinense* from various habitats (n=3)

产地	批号	槲皮苷/ (mg·g <sup>-1</sup> )	槲皮素/ (mg·g <sup>-1</sup> )	乔松素-7-O-葡萄糖苷/ (mg·g <sup>-1</sup> )
四川古蔺	080201	2.12	0.73	0.53
	080301	2.85	0.80	1.37
	080401	3.01	1.02	1.72
湖南浏阳	080701	0.94	0.45	0.41
	080801	1.50	0.71	0.67
	080901	2.00	0.83	1.05

## 3 讨论

3.1 检测波长的选择:试验过程中通过对槲皮苷、槲皮素、乔松素-7-O-葡萄糖苷对照品溶液在200~400 nm波长处扫描,结果显示槲皮素、槲皮苷在267、360 nm有最大紫外吸收,乔松素-7-O-葡萄糖苷在267 nm处有最大紫外吸收,故选择267 nm为检测波长。

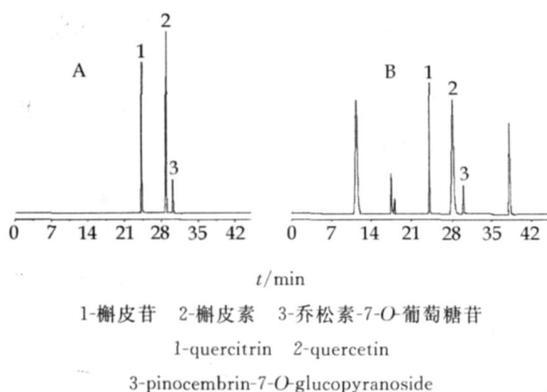


图1 对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances (A) and samples (B)

3.2 流动相的选择: 试验过程中选择了多种流动相,如甲醇-0.1%磷酸水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈水、甲醇-水等。结果表明,用乙腈-0.1%磷酸水溶

液作流动相,基线稳定,分离度好,峰形对称,确定采用乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱。

3.3 提取方法的选择:对冷浸法、热回流法、超声法等进行考察,结果表明,热回流法与超声法提取效率均较高,但由于超声法操作简便,故选择超声提取法。

参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物属检索表 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.  
 [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册) [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.  
 [3] 何述敏, 李敏, 吴众, 等. 扯根菜的研究进展 [J]. 中草药, 2002, 33(6): 5.  
 [4] 张旭, 杨明. 赶黄草有效成分研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2005, 25(4): 46.  
 [5] 赵建勤, 杨明, 赵连三, 等. 扯根菜及其系统提取物抗乙型肝炎病毒体外实验研究 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2002, 2(1): 5.

## 高效液相色谱法测定乌药中乌药醚内酯

余翠琴, 陈方亮\*

(台州市中心医院, 浙江 台州 318000)

摘要:目的 采用反相高效液相色谱法测定天台乌药中乌药醚内酯。方法 色谱柱为 Symmetry C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm);流动相为乙腈-水(57:43);体积流量 1 mL/min;检测波长 235 nm。结果 该方法下乌药醚内酯线性范围为 0.051~2.55 μg,平均回收率为 99.96%。结论 本法简便、经济,结果准确,可用于天台乌药的质量控制。

关键词:乌药;乌药醚内酯;反相高效液相色谱

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)06-0983-02

乌药为樟科山胡椒属植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根,《本草纲目》记载,乌药具散寒、补中、顺气、开郁,具有增加肠胃蠕动、兴奋大脑皮层、加速血液循环等功效,能上理脾胃元气,下通少阴肾经。主产浙江、江西、湖南等地,历代医家都评价“以浙江天台所产者品质最佳”,元、明时曾作为朝廷贡物,历史上著名医家朱丹溪的养生药补方中常用天台乌药。被誉为“长生不老药”的天台乌药,历史悠久,品质超群,享誉中外,是我国名贵地道药材之一。乌药中主要含有挥发油、异喹啉类生物碱、黄酮类及倍半萜类成分<sup>[1]</sup>,其中最能体现乌药特征的成分应是呋喃倍半萜及其内酯类成分,《中国药典》中以乌药醚内酯为指标性成分对乌药进行定性鉴定和定量测定<sup>[2]</sup>。本实验建立简便快速的 HPLC 法测定乌药中乌药醚内酯。

### 1 仪器和试剂

1.1 仪器: Waters 2695 高效液相色谱仪(包括 2695 四元梯度泵,在线脱气机,自动进样器,柱温箱,2487 紫外检测器,Empower 色谱工作站);Mettler AE200 电子分析天平;UV-Vis8500 紫外可见分光光度计;XW-80A 型旋涡混合器;0412-1 型台式离心机;HS2060 型超声波清洗器。

1.2 药品与试剂:乌药产自浙江天台,由天台山乌药生物工程有限公司提供,经本院中药房主任黄瑞平副主任药师鉴定为樟科山胡椒属植物乌药 *L. aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根;乌药醚内酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号 1568-200201);甲醇、乙腈为色谱纯;水为双重蒸馏水;其他试剂为分析纯。

### 2 方法与结果

\* 收稿日期:2008-12-03

基金项目:台州市科技计划基金资助项目(061KY25)