

声和回流两种方法进行提取,结果表明 70% 乙醇和 70% 甲醇超声提取的样品峰数和组分的量较多,且杂质峰较少。对提取时间做了进一步的筛选,最终确定为提取 2 次,每次 0.5 h。

3.4 样品差异性分析:通过对指纹图谱分析可以看出,除泰山羊里镇和良庄镇的两批样品外,泰山周边地区的四叶参药材的指纹图谱相似性都在 0.84 以上,其差异性可能是由生态环境、采收时期等因素引起的。

参考文献:

- [1] 王德才,李同德,康颂建.泰山四大名药之一四叶参[J].食品与药品,2006,8(9):73-75
- [2] 谷红霞,周茂金,苏美英.四叶参化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2009,40(8):1338-1340
- [3] 付成国,文连奎,董然.轮叶党参化学成分与药理研究进展[J].中药材,2007,30(4):497-499
- [4] 王欣杨,于治国,高晓霞,等.高效液相色谱法同时测定槲寄生中 4 种黄酮[J].中草药,2010,41(9):135-137
- [5] 崔洋,王巧,张兰桐,等.河北道地药材连翘的高效液相色谱指纹图谱研究[J].中草药,2010,41(2):297-301
- [6] 龚全炎,吴晓琴,夏道宇,等.RP-HPLC 测定竹叶提取的中黄酮类和酚酸类成分[J].中草药,2010,41(1):63-65

HPLC 法同时测定土荆芥挥发油中驱蛔素、对伞花烃、 α -萜品烯

林万里¹,王振月¹,张兰兰^{2*},黄芝娟²,李瑞明²,宋兆辉²

(1 黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040; 2 天津天士力集团研究院,天津 300410)

摘要:目的 建立 HPLC 法同时测定土荆芥挥发油中驱蛔素、对伞花烃和 α -萜品烯的方法。方法 采用 Agilent SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-水 (60:40); 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 224 nm; 柱温为 30 $^{\circ}$ C。结果 驱蛔素、对伞花烃、 α -萜品烯的线性范围分别为 2.02~40.4 mg/mL ($r=0.9994$)、0.525~10.5 mg/mL ($r=0.9998$)、0.376~7.52 mg/mL ($r=0.9997$); 加样回收率分别为 98.60% (RSD=2.06%)、102.51% (RSD=2.70%)、96.92% (RSD=2.32%)。结论 本方法简单、快速、灵敏、准确、重现性好,适用于同时测定土荆芥挥发油中驱蛔素、对伞花烃、 α -萜品烯的量。

关键词:驱蛔素; 对伞花烃; α -萜品烯; 土荆芥; 高效液相色谱

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)12-2085-03

土荆芥为藜科植物土荆芥 *Chenopodium ambrosioides* L. 带有果穗的全草,具有祛风、杀虫、通经止痛的功效,用于皮肤风湿痹痛、痛经、闭经、皮肤湿疹和蛇虫咬伤^[1]。据文献报道,驱蛔素、对伞花烃和 α -萜品烯是土荆芥挥发油的主要成分,且具有一定的代表性,但是对这 3 种成分同时进行定量测定的方法一直未见报道。挥发油类成分一般选用气相色谱法进行分析,但气相色谱采用毛细管柱,由于分流等因素影响其测定的稳定性^[2-4],本实验建立了用 HPLC 法同时测定土荆芥挥发油中驱蛔素、对伞花烃、 α -萜品烯的方法,为土荆芥挥发油质量标准的制定打下基础。

1 仪器与材料

美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪 (配有紫外检测器、二元泵、自动进样器、柱温箱)。

驱蛔素对照品 (自制,质量分数为 90.0%),对伞花烃对照品 (St. Louis, USA, 质量分数为

99.0%), α -萜品烯对照品 (自制,质量分数为 92.37%),二纯水 (自制),乙腈 (Merck 公司) 为色谱纯,其他试剂为分析纯。

土荆芥经黑龙江中医药大学药学院中药资源与开发教研室王振月教授鉴定为土荆芥 *Chenopodium ambrosioides* L., 其挥发油由陕西天士力植物药业有限责任公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱 Agilent SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-水 (60:40); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 224 nm; 柱温为 30 $^{\circ}$ C。色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取驱蛔素对照品、对伞花烃对照品、 α -萜品烯对照品适量,用无水乙醇溶解,制成含驱蛔素 40 mg/mL、对伞花烃 10 mg/mL、 α -萜品烯 7 mg/mL 的溶液,即得。

收稿日期:2010-03-20

作者简介:林万里(1982—),男,黑龙江省鸡西市人,黑龙江中医药大学中药学在读硕士,现于天津天士力集团研究院现代中药研究所做实习研究员。Tel: (022) 86342546 E-mail: lin_wanli@163.com

* 通讯作者 张兰兰 Tel: (022) 86342608 E-mail: zhangll2@tasly.com

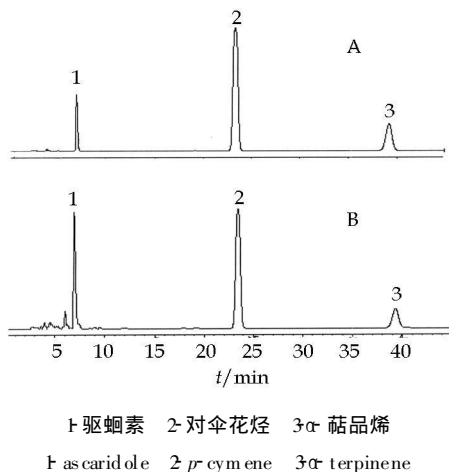


图 1 驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯对照品(A)及土荆芥挥发油供试品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of ascaridole, *p*-cymene, and α -terpinene reference substances (A) and sample of volatile oil in *C. ambrosioides* (B)

2.2.2 供试品溶液的制备: 取土荆芥挥发油 200 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 取适量过 0.45 μ m 滤膜, 即得。

2.3 线性关系考察: 精密吸取对照品溶液 0.1、0.2、0.4、1.0、1.6、2.0 mL 于 2 mL 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 注入高效液相色谱仪测定峰面积。以峰面积为纵坐标、对照品浓度为横坐标, 进行线性回归, 得到驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯的回归方程, 见表 1。

表 1 驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯标准曲线测定结果
Table 1 Regression equations, correlation coefficients, and linearity ranges of ascaridole, *p*-cymene, and α -terpinene

组 分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg · mL ⁻¹)
驱蛔素	$Y = 1\ 058.4 X + 230.73$	0.9994	2.020~40.4
对伞花烃	$Y = 15\ 124 X + 402.32$	0.9998	0.525~10.5
α -蒎品烯	$Y = 10\ 662 X + 31.77$	0.9997	0.376~7.52

2.4 精密度试验: 取同一份对照品溶液进行高效液相色谱分析, 测定峰面积, 连续重复测定 6 次, 考察精密度。驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯的 RSD 分别为 1.55%、1.92%、1.79%。

2.5 稳定性试验: 取同一份对照品溶液, 分别于 0、1、2、4、6、8 h 进行高效液相色谱分析, 测定峰面积, 考察稳定性。驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯的 RSD 分别为 2.93%、2.76%、2.85%, 表明溶液中各个待测定成分在 8 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 精密称取同一批号的土荆芥挥发油约 200 mg, 按照“2.2.2”项下供试品溶液制备的方法制备 6 份样品, 依上述色谱条件进行测定, 结果

驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯质量浓度分别为 67.07%、18.56%、25.99%, RSD 分别为 1.23%、2.24%、2.30%。

2.7 加样回收率试验: 精密称取已测定的土荆芥挥发油 6 份, 每份约 100 mg, 精密加入对照品溶液 1.7 mL, 按照“2.2.2”项下供试品溶液制备的方法制备 6 份样品, 依上述色谱条件进行测定, 结果驱蛔素、对伞花烃、 α -蒎品烯的平均回收率分别为 98.60%、102.51%、96.92%, RSD 分别为 2.06%、2.70%、2.32%。

2.8 样品测定: 精密称取不同批号的土荆芥挥发油约 200 mg, 分别按照“2.2.2”项下供试品溶液制备的方法制备供试品溶液, 依上述色谱条件进行测定, 以外标法计算土荆芥挥发油中各成分的量, 结果见表 2。

表 2 不同批号土荆芥挥发油样品的测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of different samples of volatile oil in different batches of *C. ambrosioides* (n=3)

批 号	产 地	质量浓度/(mg · mL ⁻¹)		
		驱蛔素	对伞花烃	α -蒎品烯
20080915	广东	65.97	18.01	30.79
20080916	广西	67.06	18.24	25.21
20080917	陕西	66.43	18.17	28.56
20080918	广西	67.52	18.26	26.51
20080919	福建	66.49	18.77	29.19
20080920	广东	64.76	17.84	25.37

3 讨论

驱蛔素、对伞花烃和 α -蒎品烯是土荆芥挥发油中的主要成分, 以往的分析检测方法都是以对伞花烃和 α -蒎品烯为指标, 不能够全面反映土荆芥挥发油的质量。经初步药理实验证明, 驱蛔素一方面具有抗溃疡、抗幽门螺旋杆菌的作用, 但同时具有一定的毒副作用。本实验建立的同时测定土荆芥挥发油中驱蛔素、对伞花烃和 α -蒎品烯的 HPLC 分析检测方法避免了气相色谱法测定结果不稳定的缺陷, 又比以往的方法能够在功能性及安全性方面更加客观地评价土荆芥挥发油的品质, 不仅为土荆芥挥发油的质量标准研究奠定了基础, 同时为进一步研究土荆芥的药理活性、寻找抗溃疡、抗幽门螺旋杆菌等活性的药用物质基础及土荆芥挥发油的体内代谢提供检测手段。

本实验建立的 HPLC 分析检测方法曾采用了不同比例的甲醇-水、乙腈-水系统作为流动相, 通过对比结果表明, 以乙腈-水 (60:40) 系统作为流动相洗脱时, 驱蛔素、对伞花烃和 α -蒎品烯峰分离效果良好。

从不同批号土荆芥挥发油样品的测定结果看,

陕西天士力植物药业有限责任公司提供的土荆芥挥发油批次间差异不大,能够保证土荆芥挥发油的质量及相关上市产品的稳定性。

参考文献:

[1] 中国药科大学. 中药辞海 [M]. 第一卷. 北京: 中国医药科技出版社, 1993

- [2] 李 意. RP-HPLC 法分离和测定荆花胃康原料药和胶丸中的对异丙基甲苯和 α -萜品烯 [J]. 分析实验室, 2006, 25 (6): 25-27
- [3] 番 馨, 梁 鸣, 陈森鸿. 土荆芥中挥发油的气相色谱-质谱分析 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6): 909-911
- [4] 黄雪峰, 孔令义. 土荆芥挥发油的化学成分分析 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 256-257

UFLC 法测定茜草中羟基茜草素和大叶茜草素

李芙蓉, 陈世忠, 罗世恒, 王 弘*

(北京大学药学院 天然药物化学系, 北京 100191)

摘要:目的 进行超快速液相色谱 (UFLC) 测定茜草中羟基茜草素和大叶茜草素的方法研究, 并与 HPLC 方法比较, 建立准确、高效的茜草药材质量分析方法。方法 使用新型的 UFLC 系统, 色谱柱为 Shim-pack XR-ODS II (75 mm × 3.0 mm, 2.2 μ m), 流动相为乙腈 0.2% 磷酸 (52:48) 溶液, 体积流量: 1.0 mL/min, 柱温 60 $^{\circ}$ C, 检测波长为 250 nm。结果 UFLC 法和 HPLC 法测定的茜草两种化学成分的量差异不大; UFLC 分析时间显著缩短, 羟基茜草素和大叶茜草素的分析时间由 HPLC 法的 7.2、25.3 min 缩短为 1.2、10.5 min。结论 本研究建立的 UFLC 测定方法精密度高、重现性好、快捷简便, 适用于茜草中羟基茜草素和大叶茜草素的分析, 是一种高效、可行的质量评价技术。

关键词: 茜草; UFLC; 羟基茜草素; 大叶茜草素

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)12-2087-03

超快速液相色谱 (ultra fast liquid chromatography, UFLC) 是一种新型液相色谱技术, 其色谱柱使用 2.2 μ m 粒度的填料, 能获得更高的柱效, 并能缩短分析时间, 增加峰容量, 降低柱外峰展宽效应^[1]。作为一种新的快速分析技术, 它与超高效液相色谱的最大区别是其不需要系统超高压, 在略高于普通液相色谱压力极限下即可实现高流速、高分辨率, 适用于高通量、高效率的分析^[2]。采用高效、灵敏、快速的分析技术进行中药质量分析, 是制定科学可行的质量评价标准的保障。UFLC 采用较小的填料颗粒, 达到更高的分辨率被越来越广泛地应用于快速分析生物制品和中药材中目标化合物的分离^[3-4]。本实验通过方法学研究, 首次建立了 UFLC 法同时测定茜草中羟基茜草素和大叶茜草素的方法, 并与 HPLC 方法进行比较。结果, UFLC 测定方法精密度高、重现性好, 与 HPLC 法比较, 在测定结果差异不大的前提下, UFLC 法可显著缩短分析时间, 并且平衡、冲洗色谱柱的时间也显著缩短, 减少了溶剂消耗。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20A 液相色谱系统: LC-20ADXR 泵; CTO-20AC 柱温箱; Prominence SIL-20AC 自动进样器; SPD-M20A 二极管阵列紫外可见光检测器; DGU-20A3 脱气机; CBM-20A 系统控制器, Shim-pack XR-ODS II (75 mm × 3.0 mm, 2.2 μ m) 色谱柱。

色谱纯甲醇购自天津大茂试剂公司; 色谱纯乙腈为美国 J. T. Baker 公司生产; 磷酸均为分析纯, 由北京化工厂生产; 水为超纯水。大叶茜草素 (rubimaillin) 由中国药品生物制品检定所提供, 批号 110884-200604; 羟基茜草素 (purpurin) 由本课题组纯化精制, 质量分数达 98% 以上。样品为自采集与市购, 经北京大学医学部王弘副教授鉴定为茜草科植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根和根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack XR-ODS II (75 mm × 3.0 mm, 2.2 μ m); 流动相为乙腈 0.2% 磷酸 (52:48); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 60 $^{\circ}$ C; 检测波长为 250 nm。色谱图如图 1。

收稿日期: 2010-05-14

作者简介: 李芙蓉 (1982-), 女, 山东烟台人, 北京大学药学院硕士, 研究方向为药用植物资源和质量控制。

Tel: (010) 82802723 E-mail: fronglee@163.com

* 通讯作者 王 弘 Tel: (010) 82801559 E-mail: hw9505@bjmuedu.cn