

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  $\alpha$ -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  $\mu$ 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  $\mu$ 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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3-4]</sup>。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  $\mu$ 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  $\mu$ 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

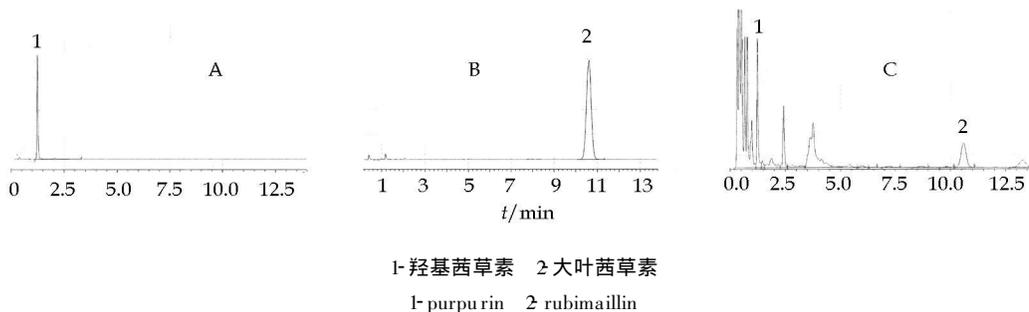


图 1 羟基茜草素(A)、大叶茜草素(B)、供试品溶液(C)的UFLC图

Fig. 1 UFLC Chromatograms of purpurin (A), rubimailin (B), and *Rubiae Radix* sample solution (C)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取大叶茜草素、羟基茜草素对照品适量, 分别置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得含大叶茜草素 108.2 μg/mL 和含羟基茜草素 48.2 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取茜草样品粉末 (过四号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 100 mL, 称定质量, 放置过夜, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 50 mL, 蒸干, 残渣加甲醇 25% 盐酸 (4: 1) 混合溶液 20 mL 溶解, 加热回流水解 30 min, 立即冷却, 加入三乙胺 3 mL, 混匀, 转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 备用。依次用甲醇 (5 mL)、水 (5 mL) 活化规格为 3.0 mL 的 PEP/C<sub>18</sub> 固相萃取小柱, 取备用液预洗小柱, 弃最先流出的 5 mL 后收集流分, 得供试品溶液。

2.4 标准曲线制备和线性范围考察: 精密吸取对照品溶液 0.5、1、2、4、6 μL 注入 UFLC 色谱仪中, 按上述色谱条件测定。以峰面积 (X) 为横坐标, 对照品进样量 Y 为纵坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程: 羟基茜草素  $Y = 2.5463 \times 10^{-7} X + 4.7229 \times 10^{-4}$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 5$ ), 线性范围为 0.0241 ~ 0.2892 μg; 大叶茜草素  $Y = 4.1747 \times 10^{-7} X + 3.6193 \times 10^{-3}$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 5$ ), 线性范围为 0.0541 ~ 0.6492 μg。

2.5 精密度试验: 按照 2.3 供试品溶液制备方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液 5 μL, 注入液相色谱仪中, 连续测定 5 次, 按上述色谱条件测定峰面积, 计算 RSD 值, 结果表明, 羟基茜草素 RSD 为 0.86%, 大叶茜草素 RSD 为 0.09%。

2.6 稳定性试验: 按照 2.3 供试品溶液制备方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液 5 μL, 分别于 0、1、2、3、4、5、6、7、8 h 注入液相色谱仪中, 记录峰面积, 计算 RSD 值, 结果羟基茜草素 RSD 为

0.70%, 大叶茜草素 RSD 为 0.09%。

2.7 重现性试验: 精密称取 1 号茜草样品粉末 (过 4 号筛), 约 0.5 g, 共 5 份, 精密称定, 按照 2.3 供试品溶液制备方法制得供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μL, 注入液相色谱仪中, 每份样品测定 3 次, 羟基茜草素质量分数的 RSD 为 1.45%, 大叶茜草素质量分数的 RSD 为 0.48%, 说明本法重现性良好。

### 2.8 加样回收率试验

2.8.1 羟基茜草素的加样回收率试验: 精密称取 11 号茜草样品粉末, 约 0.5 g, 共 5 份, 精密称定, 每份精密加入羟基茜草素对照品溶液 (1.01 mg/mL) 1 mL, 按照 2.3 供试品溶液制备方法进行处理, 并按上述色谱条件进行测定, 计算羟基茜草素加样回收率。羟基茜草素的平均回收率为 95.89%, RSD 为 1.07%。

2.8.2 大叶茜草素的加样回收率试验: 精密称取 11 号茜草样品粉末, 约 0.5 g, 共 5 份, 精密称定, 每份精密加入大叶茜草素对照品溶液 (1.048 mg/mL) 1 mL, 按照 2.3 供试品溶液制备方法进行处理, 并按上述色谱条件进行测定, 计算大叶茜草素的加样回收率。大叶茜草素的平均回收率为 99.47%, RSD 为 0.24%。

2.9 UFLC 与 HPLC 测定结果比较: 取 3 份自采茜草药材样品和 12 份市售茜草饮片, 按照上述 UFLC 测定方法测定。羟基茜草素保留时间为 1.2 min, 大叶茜草素保留时间 10.5 min。另按照 2010 版《中国药典》茜草项下 HPLC 测定方法, 羟基茜草素保留时间为 7.2 min, 大叶茜草素保留时间 25.3 min。各样品中羟基茜草素和大叶茜草素测定结果见表 1。

### 3 讨论

3.1 本实验通过方法学研究, 首次建立了茜草中羟基茜草素和大叶茜草素的 UFLC 测定方法。该方

表 1 UFLC 和 HPLC 测定羟基茜草素和大叶茜草素

Table 1 Determination of purpurin and rubimallin in samples using UFLC and HPLC

序号	来源	产地	羟基茜草素/(mg·g <sup>-1</sup> )		大叶茜草素/(mg·g <sup>-1</sup> )	
			UFLC	HPLC	UFLC	HPLC
1	自采	陕西渭河	2.04	2.07	3.12	3.14
2	浙江中医药大学	陕西渭南	1.06	1.04	7.43	7.35
3	北京志新堂	陕西陇南	1.04	1.14	4.60	4.61
4	自采	山东烟台	1.68	1.70	7.94	7.91
5	北京老百姓大药房	山东聊城	2.88	2.84	4.67	4.70
6	自采	河南栾川	1.94	2.01	6.14	6.18
7	浙江中医药大学	河南信阳	1.53	1.53	5.14	5.06
8	北京航天中心医院	安徽合肥	1.12	0.94	4.77	4.82
9	浙江中医药大学	河北祁州	1.36	1.44	4.75	4.81
10	联康药店	河北保定	1.34	1.37	6.01	6.08
11	新街口药店	河北沧州	0.91	0.98	5.02	4.97
12	北京同仁堂远大路店	山西运城	1.18	1.24	2.42	2.40
13	新概念大药房	江西九江	0.97	0.84	3.96	3.90
14	中日友好医院	湖北随州	2.88	2.98	2.36	2.41
15	知春堂药店	北京	3.14	3.12	2.25	2.27

法精密度高、重现性好、快捷简便,适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。

3.2 UFLC 色谱柱采用的填料粒径为 2.2 μm, 色谱柱内径为 3.0 mm, 色谱分析中极性小的成分不容易被洗脱,如产生堆积会严重影响色谱柱的使用寿命。SIL-20AC 自动进样器采用的管路内径仅 0.1 mm, 易被堵塞,因此该方法对供试品溶液的制备有特殊要求。本实验在供试品溶液制备中采用了固相萃取小柱净化的方法制备供试品溶液。

3.3 采用 UFLC 与 HPLC 测定 15 份同样的茜草样品中两种成分的量,结果表明,在测定结果差异不大的前提下,UFLC 法可显著缩短分析时间,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。另因 UFLC 法使用的色谱柱长度短,平衡、冲洗色谱柱的时间也显著

缩短,减少了溶剂消耗。

3.4 UFLC 作为一种的新型液相色谱技术,精密度、稳定性和重现性都符合中药材质量控制和化学分析要求。其分析效率高,在中药的快速检测方面具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 王 军, 权勤波, 宋建建, 等. UFLC 同时测定复方氨酚烷胺片中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量 [J]. 中国药师, 2009, 12(12): 1775-1777.
- [2] Nikolin B, Imamovic B, Medanhodziec Vuk S, et al. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2004, 4(2): 5-9
- [3] Kong W J, Zhao Y L, Xiao X H, et al. Quantitative and chemical fingerprint analysis for quality control of *Rhizoma Coptidis Chinensis* based on UPLC/PAD combined with chemometrics methods [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16: 950-959
- [4] Min J Z, Shimizu Y, Toyooka T, et al. Simultaneous determination of 11 designated hallucinogenic phenethylamines by ultrafast liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 873: 187-194

## 生干漆及煨干漆的生药学研究

赵 猛<sup>1,2</sup>, 魏朔南<sup>1</sup>, 胡正海<sup>1\*</sup>

(1 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2 山西师范大学, 山西 临汾 041004)

摘要: 目的 对生干漆和煨干漆进行生药学研究。方法 采用生药性状描述、粉末特征鉴定、理化鉴别等方法, 对生干漆与煨干漆的主要性状进行了比较。结果 生干漆及煨干漆在生药性状、粉末特征及化学成分上均有一定的差异。结论 可为生干漆及煨干漆的进一步开发利用提供理论依据。

关键词: 生干漆; 煨干漆; 生药学

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)12-2089-04

收稿日期: 2010-04-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30870136), 西北大学研究生创新基金

作者简介: 赵 猛 (1980—), 男, 讲师, 在读博士, 研究方向为结构植物学和资源植物学。

\* 通讯作者 胡正海, 教授, 博士生导师。Tel: (029) 88302684。