

2.4 线性关系考察:在上述色谱条件下,将配制的系列对照品溶液分别进样 10 μL ,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程分别为:柚皮苷 $Y = 1\,704.51 X + 37.07$, $r = 0.999\,9$,在 0.147~2.944 μg 线性关系良好;橙皮苷 $Y = 1\,735.45 X + 11.61$, $r = 0.999\,9$,在 0.050~1.006 μg 线性关系良好;新橙皮苷 $Y = 2\,613.21 X + 26.62$, $r = 0.999\,9$,在 0.065~1.309 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 10 μL ,连续重复进样 6 次,记录峰面积,结果柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 0.81%、0.83%、0.80%,表明精密度良好。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,按照上述色谱条件,在 0、2、4、6、8 h 进样,结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.53%、1.25%、1.69%。

2.7 重现性试验:取同一批枳壳药材,制备供试品溶液 6 份,分别进样 10 μL ,测定峰面积计算质量分数。柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷质量分数的 RSD 分别为 1.65%、0.94%、1.62%。

2.8 加样回收率:精密称取枳壳样品 0.05 g,共 6 份,分别加入一定量对照品,按照 2.2 项下制备,在上述色谱条件下进样分析,计算回收率。柚皮苷平均加样回收率为 103.31%,RSD 为 1.45%,橙皮苷平均加样回收率为 103.13%,RSD 为 1.96%,新橙皮苷平均加样回收率为 97.42%,RSD 为 2.49%。

2.9 样品测定:取不同产地的枳壳药材,按供试品制备方法制备样品,测得结果见表 1。

3 讨论

3.1 本研究以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷为测定指

表 1 不同产地枳壳药材中的柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of naringin, hesperidin, and neohesperidin in Fructus Aurantii samples from different habitats ($n=3$)

样品产地	柚皮苷/ %	橙皮苷/ %	新橙皮苷/ %
江西	5.578	0.402 6	2.957
湖南	6.181	0.235 3	2.273
重庆江津	3.343	0.176 4	3.161

标,考察了 50%甲醇、75%乙醇、甲醇的提取效果,结果表明甲醇提取效果为佳;比较超声和回流两种提取方式,结果表明回流提取效果较好;进而比较了回流提取 0.5、1、2、3 h 的提取效果,以 2 h 提取率最高。

3.2 本实验采用 RP-HPLC 对不同产地枳壳样品中的柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷 3 种黄酮类成分同时进行定量测定。结果表明,不同产地枳壳药材中 3 种成分的量变化很大。参照《中国药典》2005 年版只限定枳壳药材中柚皮苷量不得低于 4.0%,采用本方法检测的结果显示除柚皮苷外的两种成分量差异较大,不同产地枳壳药材质量明显存在优劣,故增加定量测定的指标,可以更加全面系统地评价枳壳的质量。在实际应用中,“江枳壳”为道地药材,“湘枳壳”为大宗药材,“川枳壳”为主流品种^[4]。结合本实验结果,综合 3 种成分的量以江西产枳壳质量为佳。这从一个侧面证明了江西作为枳壳药材道地产区的合理性。该方法简便,快捷,准确,为全面控制枳壳的质量提供了方法基础。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(上)[M]. 上海:上海人民出版社, 1993.
- [3] 黄璐琦. 中药材质量标准研究[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006.
- [4] 王惠清. 中药材产销[M]. 成都:四川科学技术出版社, 2004.

不同产地款冬花中款冬酮的测定

张志伟¹, 马致洁¹, 董红红¹, 李震宇¹, 周玉枝¹, 秦雪梅^{1,2,*}

(1. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006; 2. 山西大学 化学生物学与分子工程国家教育部重点实验室 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006)

摘要:目的 建立款冬花中款冬酮的 RP-HPLC 定量测定方法。方法 采用 RP-HPLC 法测定款冬花中款冬酮的量, 色谱柱: Dikma Technologies C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (77 : 23), 体积流量: 1 mL/min,

* 收稿日期: 2009-01-22

基金项目: 山西省科技攻关项目 (042033)

* 通讯作者 秦雪梅 (1964—), 女, 教授, 研究生导师, 主要从事中药质量标准与代谢组学研究。

Tel: (0351) 7011202 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

柱温:25℃,检测波长:219 nm。结果 款冬酮在0.15~6 μg 线性关系良好,回归方程为 $Y = 3E + 06 X - 9\ 588.3$, $r = 0.999\ 8$ ($n = 2$),平均回收率($n = 3$)为99.78%,RSD为2.08%。结论 款冬酮的RP-HPLC定量测定方法简便、准确,重现性好,可用于款冬花药材中款冬酮的定量测定。

关键词:款冬酮;款冬花;RP-HPLC

款冬花,又名冬花,为菊科款冬属 *Tussilago* L. 植物款冬的未开放的干燥头状花序,性温,味辛,主治咳逆上气善喘,喉痹,肺痿肺痛,吐血衄血等疾病^[1]。历版《中国药典》均收载款冬花药材标准,但至今无定量测定项^[2],目前仅有对黄酮类成分芦丁^[3]定量分析的研究,对款冬花中倍半萜类成分的HPLC分析研究未见报道。款冬酮为款冬花特征性有效成分,具有升高血压等药理作用^[4,5],在药材中的量较高且性质稳定,可作为质量控制的专属性指标成分,然而市场无标准对照品供应,也无相应研究报道。故本课题组参考相关文献方法^[6]改进了款冬酮的提取分离方法,得到的款冬酮达到化学对照品要求,建立了款冬酮的RP-HPLC定量分析方法,测定了不同来源的款冬花药材中款冬酮的量,为款冬花的质量评价提供了科学依据,同时也为款冬花药材及其制剂的质量标准研究奠定了基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器:Waters 高效液相色谱仪(1525泵,2487紫外检测器);Breeze 工作站;电子分析天平(BS210S,北京赛多利斯天平有限公司);数控超声波清洗器(KQ2200DB)。

1.2 试药:款冬花药材(采自山西灵丘种植基地及购于太原各药店,经山西大学秦雪梅教授鉴定为正品);款冬酮对照品(自制,质量分数98%);甲醇为色谱纯(USA 迪马公司);水为重蒸水;中性氧化铝(色谱用,100~200目);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:C₁₈柱 Dikma Technologies (迪马公司);流动相:甲醇-水(77:23),体积流量:1 mL/min,检测波长:219 nm,柱温:25℃。

2.2 对照品溶液的制备:取款冬酮对照品1 mg,用无水乙醇制成0.1 mg/mL 溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取款冬花药材粉末1 g,精密称定,加无水乙醇30 mL,超声提取30 min,滤过,滤液通过2 g 中性氧化铝柱(内径1 cm,柱高1.2 cm),加5 mL 无水乙醇洗脱,收集洗脱液,转移至50 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:精密吸取质量浓度为7.5、15.0、30.0、75.0、150.0、225.0、300.0 μg/mL 的款

冬酮对照品溶液各20 μL,进样测定,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,回归方程为: $Y = 3E + 06 X - 9\ 588.3$, $r = 0.999\ 8$ 。结果表明,款冬酮进样量在0.15~6 μg 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液连续进样5次,测款冬酮峰面积。结果峰面积RSD为1.69%,精密度良好。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在0、2、4、8、16、24 h 检测。结果款冬酮峰面积RSD为1.8%。说明样品溶液的稳定性良好。

2.7 重现性试验:取同一产地药材,精密称取样品5份,按供试品溶液制备方法平行操作。结果款冬酮质量分数的RSD为2.32%,重现性良好。

2.8 加样回收率:取已知量的款冬花药材样品6份,每份0.5 g,精密称定,分别加入对照品,按样品制备方法和色谱条件制备溶液,进行测定,记录色谱图。按外标法进行计算,结果表明:平均回收率为99.78%,RSD为2.08%。

2.9 样品测定:分别取不同产地的款冬花药材粉末,按2.2项下制备供试品溶液,分别取对照品溶液、供试品溶液各20 μL 进样测定,记录色谱图(图1)。计算款冬花中款冬酮的量,结果见表1。

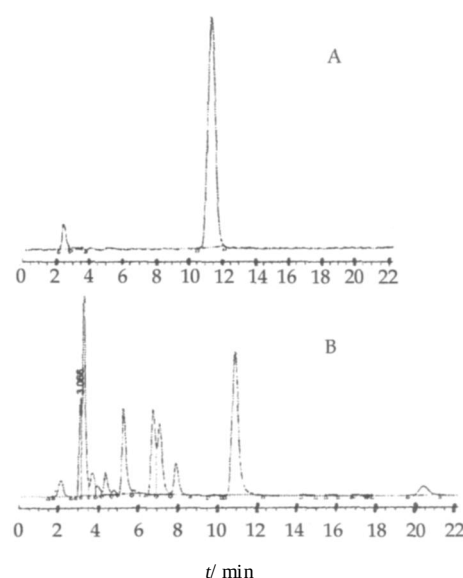


图1 款冬酮(A)和样品(B)高效液相色谱图

Fig 1 HPLC Chromatogram of tussilagone (A) and sample (B)

表1 不同产地药材测定结果($n=3$)Table 1 Determination of tussilagone in medical materials collected from various habitats ($n=3$)

编号	产地	款冬酮/ %
1	山西灵丘种植(采集于山西灵丘种植基地)	16.5
2	山西灵丘野生(采集于山西灵丘种植基地)	16.0
3	山西(购买于太原药店)	13.2
4	河南(山西华阳药业有限公司)	15.7
5	河北(山西华阳药业有限公司)	10.8
6	甘肃(购买于同仁堂药店)	7.4
7	甘肃蜜炙(购买于同仁堂药店)	11.9

由结果可知,不同产地之间比较山西灵丘地区产款冬花中款冬酮的量明显高于其他几个地区,其次是河南,甘肃产样品量最低;蜜炙明显高于生品,达1.6倍;同一产地种植品与野生品的量相当。

3 结论与讨论

3.1 本实验分离得到的款冬酮化学结构经测定与文献报道^[6]相符,其质量分数达98%以上,达到了定量测定用要求。

3.2 本实验在相关文献的基础上改进了款冬花中款冬酮的分离方法,将柱色谱与高效液相半制备柱相结合,提高了分离的效率,但是本方法使用易燃易爆有机溶剂,在室温下操作,耗时长,收率在0.17%左右,根据款冬酮理化性质,本实验室对其提取分离方法做了进一步优化(另见报道)。

3.3 本研究建立的款冬酮的RP-HPLC定量测定方法简便、准确、稳定,重现性好,可用于款冬花药材中款冬酮的定量测定。通过对不同款冬花药材中款冬酮的测定,可知产地环境和蜜炙对其量影响较大,山西灵丘是款冬花传统产区,质量较佳;蜜炙明显高于生品,达1.6倍,这初步佐证了蜜炙款冬花治疗咳嗽的效果优于原药材,为临床应用提供了参考依据。

3.4 对款冬酮进行加速实验以考察其稳定性,加速实验的条件为 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 $(75 \pm 5)\%$,实验期间每个月取样一次,按2.1项下方法测定进行考察。通过对款冬酮对照品及药材中款冬酮稳定性的考察可知,款冬酮对照品较稳定,可在室温条件下存放1.5~2年,药材也可存放较长时间,存放条件无特殊要求。

参考文献:

- [1] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,1982.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [3] 李仲,郭玫,余晓晖,等. 用高效液相色谱法测定款冬花中芦丁的含量[J]. 甘肃中医学院学报,2000,17(3):20-21.
- [4] 王筠默. 款冬花药理研究(二)对心血管系统的作用[J]. 药理学学报,1978,14(5):268-275.
- [5] 刘可越,张铁军,高文远,等. 款冬花的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(22):1837.
- [6] 肖培根. 新编中药志(第2卷)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.

鹿花盘中胆固醇的 HPLC 测定

王芳,赵余庆*

(沈阳药科大学中药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 采用高效液相色谱法检测鹿花盘中胆固醇的量,建立鹿花盘品质的质量评价标准和方法。方法以 Kromasil-C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为固定相,甲醇-水(93:7)为流动相,体积流量为1.0 mL/min,检测波长为205 nm。结果 胆固醇质量在0.4~12 μg与色谱峰面积呈良好的线性关系($r^2 = 0.9993$),平均加样回收率为98.5%(RSD = 1.2%, $n=6$)。结论 此方法简便、可靠,可用于鹿花盘品质的质量评价。

关键词:鹿花盘;胆固醇;高效液相色谱;定量测定

鹿茸为传统中药和滋补品,也是东北三宝之一。鹿花盘别名“鹿角盘”、“花盘”、“角盘”、“珍珠盘”、“鹿角帽”^[1],为鹿经锯茸后,自然形成和脱落的残角。作为鹿茸副产品被人们研究和应用不够广泛^[2]。据中医古书《神农本草经》记载,该品有温补肝肾,活血消肿,治阴症疮疡,乳痈初起瘀血肿痛

等^[3,4]。我国民间用“鹿花盘”治疗乳腺炎有悠久的历史^[5]。胆固醇是从鹿血中分得的一个甾醇类化合物,近年来的研究发现,天然胆固醇具有抗癌功效^[6]。因此,检测鹿花盘胆固醇的量和建立其质量控制的方法,对鹿花盘的合理应用和进一步的开发研究具有重要的意义。

* 收稿日期:2009-06-12

* 通讯作者 赵余庆 Tel:(024)23986522 E-mail:zyq4885@126.com