

RP-HPLC法测定毛鸡骨草中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷含量

黄平, 廖玉丹

(广西中医药研究院, 广西南宁 530022)

摘要: 目的 建立测定毛鸡骨草药材中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷含量的方法。方法 用反相高效液相色谱法, 色谱柱为 Lichrospher C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%三氟乙酸 (35:65), 流速1.0 mL/min, 检测波长272 nm, 柱温为室温。结果 芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷在0.010 2~0.102 0 mg/mL范围内线性关系良好 ($r = 0.999 8$); 平均回收率 ($n = 6$) 99.3%, RSD 2.43%。结论 所建方法简捷、快速, 结果准确, 可为评价毛鸡骨草药材的质量提供可靠的依据。

关键词: 毛鸡骨草; 反相高效液相色谱法; 芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1672-979X (2011) 09-0337-04

Determination of 6, 8-Di-C-Glucosylapigenin in *Abrus mollis* by RP-HPLC

HUANG Ping, LIAO Yu-dan

(Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of 6,8-di-C-glucosylapigenin in *Abrus mollis*.

Methods A RP-HPLC method was adopted. Chromatographic assay was performed on a Lichrospher C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at room temperature with methanol - 0.1% TFA (35:65) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was 272 nm. **Results** The 6,8-di-C-glucosylapigenin had a good linearity in the range of 0.010 2-0.102 0 mg/mL ($r = 0.999 8$). The average recovery was 99.3% ($n = 6$) and RSD was 2.43%.

Conclusion The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of *Abrus mollis*.

Key Words: *Abrus mollis*; RP-HPLC; 6,8-di-C-glucosylapigenin

豆科相思属植物毛鸡骨草 *Abrus mollis* Hance, 又西、广东民间, 毛鸡骨草较普遍地用作《中国药典》名毛相思子、大叶鸡骨草, 主要分布于广西、广东、收载品种鸡骨草 (*A. Contoniensis*) 的替代品, 用于海南、福建等地, 有清热解毒、利湿等功效。在广治疗肝炎和保健食疗。近年研究发现毛鸡骨草含有黄

收稿日期: 2011-04-01

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科能05112001-3A5)

作者简介: 黄平 (1953-), 男, 研究员, 从事天然药物化学及质量标准研究 E-mail:hping1208@yahoo.com.cn

4 结论

本法测定葛根中亚硝酸盐含量简单、准确, 精确度及回收率均好, 适用于葛根中亚硝酸盐含量的测定。由于人们主要采用葛根根部入药及食用, 葛根根部长长期吸收土壤及化肥中的氮, 在储存与运输过程中容易生成亚硝酸盐并累积, 建议药典对葛根中亚硝酸盐含量做出规定。

参考文献

- [1] 叶淑静. 中药葛根研究进展[J]. 浙江中医学院学报. 2003, 27(6): 94-96.
- [2] 唐春红, 陈琪. 国内外葛根营养保健功能的研究与开发现状

[J]. 中国食品添加剂, 2002, (6): 56-58.

- [3] 刘植权. 葛根的药用进展[J]. 广西中医药, 1996, 19(3): 50-55.
- [4] 周家华, 杨辉荣, 黎碧娜, 等. 食品添加剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 16.
- [5] 国家药典委员会. 葛根[S]. 中国药典2010年版一部. 北京: 中国医药科技出版社. 2010: 312.
- [6] 中华人民共和国卫生部. GB5009332010 食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐和硝酸盐测定[S]. 2010-03-26.
- [7] 范亚娜, 盖轲. 几种腌制蔬菜中亚硝酸盐含量的测定[J]. 宝鸡文理学院学报: 自然科学版, 2008, 28(1): 41-43.
- [8] 杨艳, 曹宏建, 刘泽鑫, 等. 食品中亚硝酸盐的测定因素影响因素探讨及安全调控[J]. 浙江化工, 2006, 37(1): 21-22.

酮、生物碱、三萜、甾醇和脂肪酸类化合物^[1-3]，其中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷等黄酮碳苷类化合物具有保肝降酶活性^[4]。毛鸡骨草中的总黄酮和生物碱含量测定虽有研究^[5-8]，但对其中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的含量测定尚未见报道。现从毛鸡骨草中提取分离出芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷对照品（结构见图1），并采用反相高效液相色谱（RP-HPLC）法测定了其含量，为评价毛鸡骨草的质量提供了科学依据。

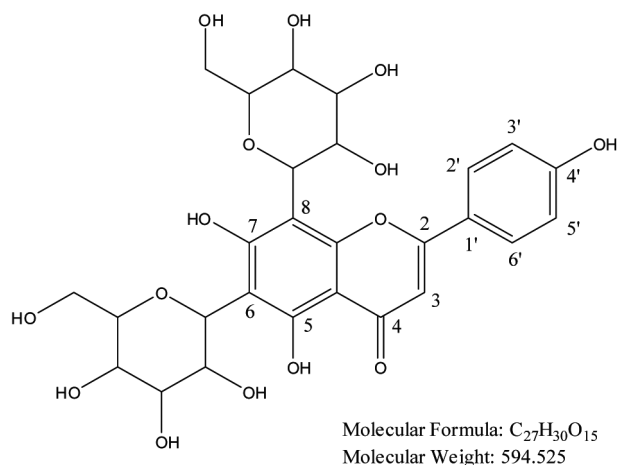


图1 芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的结构式

1 仪器与试剂

1200高效液相色谱仪，包括二极管阵列检测器、ChemStation色谱工作站（美国安捷伦）；B2200S超声波清洗器（必能信超声）；梅特勒-托利多XS分析天平。甲醇为色谱纯，三氟乙酸和磷酸为分析纯，水为纯净水，芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷对照品（纯度>99%，广西中医药研究院自制，经¹H-NMR、¹³C-NMR、HSQC、HMBC和MS鉴定结构）。所用毛鸡骨草药材购自玉林、崇左、来宾、贵港、南宁、北海、珠海等地，经广西中医药研究院中药室方鼎研究员鉴定为*Abrus mollis* Hance。

2 溶液的制备

2.1 对照品溶液

精密称取经五氧化二磷减压干燥48 h的芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷对照品0.025 5 g，置入5 mL量瓶，加流动相溶解并制成5.1 mg/mL对照品溶液。

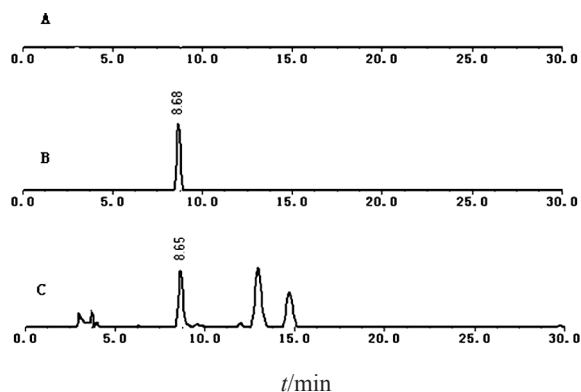
2.2 供试品溶液

取经20目筛的毛鸡骨草药材粉末约0.5 g，精密称定，置入150 mL锥形瓶，精密加水50 mL，浸泡过夜。超声处理（80 W，50 kHz）30 min，放冷，过

滤，精密吸取续滤液25 mL，加在已处理的D101型大孔吸附树脂柱（5.0 g，湿法装柱）上。滤液反复过柱5次后，用50 mL水洗脱，弃水液，再用45%乙醇50 mL洗脱，收集醇洗脱液，定容至50 mL，摇匀，作为供试品溶液。

3 色谱条件

色谱柱为Lichrospher C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为甲醇-0.1%三氟乙酸（35:65），流速0.8 mL/min，紫外检测波长272 nm；进样量10 μL。此色谱条件下，空白对照液、对照品溶液和供试品溶液的色谱见图2。



A: 空白对照液; B: 对照品溶液; C: 供试品溶液

图2 HPLC图谱

4 方法学考察

4.1 检测波长的选择

利用DAD检测器在200~400 nm范围内对芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷对照品溶液扫描，发现272 nm和339 nm波长处附近有最大吸收峰，分别于2处波长测试样品，272 nm波长处灵敏度较高，故选择272 nm为检测波长。

4.2 对照品纯度检查

分别以甲醇-0.1%三氟乙酸（35:65）、甲醇-0.2%磷酸（37:63）、甲醇-0.2%磷酸（28:72）为流动相，进样对照品溶液4 μL，用面积归一化法计算，对照品纯度均大于99%，说明符合对照品纯度检查的要求。

4.3 专属性试验

以流动相作为空白对照液，按上述色谱条件，进样10 μL，图谱见图2（A）。对比空白对照液、对照品溶液色谱图可见，芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷可以较好地分离。

4.4 线性关系考察

精密量取上述对照品溶液2 mL置入50 mL量瓶,用流动相稀释至刻度,摇匀,分别精密量取0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL置入10 mL量瓶,用流动相稀释至刻度,各进样10 μ L,按上述色谱条件测定。以芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标绘制标准曲线图。实验表明,芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷浓度在0.010 2~0.102 0 mg/mL范围内与峰面积呈良好的线性关系,其回归曲线方程为 $Y=1.01 \times 10^7 X + 673$,相关系数为 $r=0.999 8$ 。

4.5 精密度试验

精密吸取同一浓度的芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷对照品溶液,重复进样6次,每次10 μ L,峰面积的相对标准偏差(RSD) 1.39%,表明仪器精密度良好。

4.6 稳定性试验

取表1中5号毛鸡骨草样品0.5 g,按2.2项方法制备供试品溶液,分别于2, 4, 6, 8, 10, 12 h取样10 μ L,依照上述色谱条件检测。结果样品峰面积的RSD=1.64%,表明毛鸡骨草样品中的芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷在12 h内稳定。

4.7 重复性试验

精密称取表1中5号毛鸡骨草样品6份,按2.2项的方法制备供试品溶液,精密吸取10 μ L,进行高效液相检测,测定峰面积并计算每份供试品溶液中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的含量。结果显示,毛鸡骨草样品中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的平均含量为2.096 mg/g, RSD=2.59%,表明该方法的重复性良好。

4.8 加样回收率试验

分别称取6份已知含量(2.096 mg/g)的毛鸡骨草样品0.25 g,精密称定,分别加入对照品溶液(5.1 mg/mL) 0.11 mL,混匀,按2.2项方法制备供试品溶液,各取10 μ L检测高效液相。结果芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的平均回收率为99.3%, RSD=2.43%。

4.9 样品含量测定

取不同产地的毛鸡骨草样品0.5 g,精密称定,按2.2项的方法制备供试品溶液,依照3项下的色谱条件测定,每次进样10 μ L,测定峰面积,计算不同产地毛鸡骨草中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的含量,见表1。

5 讨论

参照文献吸取经超声波处理后的毛鸡骨草样品溶液25 mL,分别上聚酰胺和D101型大孔吸附树脂柱,

表1 样品含量测定结果

编号	产地	含量/mg·g ⁻¹
1	广西来宾(全草)	1.459
2	广西崇左(根)	0.000
3	广西崇左(茎)	0.044
4	广西崇左(叶)	3.087
5	广西玉林(叶)	2.096
6	广西北海(叶)	0.673
7	广东珠海(叶)	3.891
8	广西横县(叶)	2.484
9	广西贵港(叶)	2.694

在同一条件下洗脱^[9]。比较HPLC检测结果, D101型大孔吸附树脂洗脱液中杂质峰较少,样品峰型较好,分离度均大于1.5。用聚酰胺柱处理则流速慢,耗时长,除杂质效果较差。实验发现,毛鸡骨草样品溶液中的黄酮碳苷类化合物可吸附在大孔树脂柱上,用水无法洗出,而水溶性多糖、黏液质、色素、树脂等大分子杂质几乎不被吸附或吸附力弱,容易被水洗去。用45%乙醇可将黄酮碳苷类化合物洗脱,一些极性较低的化合物则仍留在大孔吸附树脂上,从而达到分离纯化目的。

由测定结果可见,不同部位的毛鸡骨草药材含黄酮苷的量不同,如测定来自崇左的毛鸡骨草药材根、茎、叶的含量,结果毛鸡骨草不同部位中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的含量表现为叶>茎>根。此结果与孔德鑫等^[8]利用傅立叶红外二阶导数谱和半定量分析法测定毛鸡骨草中总黄酮含量的结果相似;与胡彦等^[5]采用比色法测定的结论则有差异,其结论是毛鸡骨草中总黄酮含量为根>叶>茎。不同产地的毛鸡骨草药材中芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷的含量也有差异,如珠海的毛鸡骨草(叶)中的含量最高,其次是来自崇左的毛鸡骨草(叶),含量最少的是北海的毛鸡骨草(叶)药材。

参考文献

- [1] 刘卓伟, 阙兆麟, 叶志文, 等. 毛鸡骨草地上部分的化学成分[J]. 中国天然药物, 2008, 6(6): 415-417.
- [2] 温晶, 史海明, 屠鹏飞. 毛鸡骨草的化学成分研究[J]. 中草药, 2006, 37(5): 658-660.
- [3] 卢文杰, 田小雁, 陈家源, 等. 毛鸡骨草化学成分的研究[J]. 华西药学杂志, 2003, 18(6): 406-408.
- [4] 汪豪, 熊丰, 刘卓伟, 等. 黄酮碳苷类化合物在制备治疗和预防肝炎药物中的应用[P]. CN 101161668A, 2008-04-16.
- [5] 胡彦, 罗永明, 张志信, 等. 鸡骨草、毛鸡骨草不同部位总

泌尿生殖系感染病原学分析及支原体药物敏感试验

王立平, 李保强*, 段昕所, 陆洁, 于立勤, 邢恩鸿

(承德医学院附属医院, 河北承德 067000)

摘要: **目的** 了解河北承德地区泌尿生殖系感染常见病原体构成及支原体的药物敏感性。**方法** 定性检测有临床症状或有不洁性史者的尿道或宫颈分泌物的沙眼衣原体; 培养鉴定淋球菌、支原体, 并做支原体药物敏感试验。**结果** 370例患者检出阳性结果214例, 其中混合感染40例, 占18.69%, 以支原体和沙眼衣原体混合感染居多; 单纯淋球菌感染占14.02%; 单纯沙眼衣原体感染占14.49%; 单纯支原体感染占52.80%。对支原体敏感率较高的药物为交沙霉素、多西环素、米诺环素。**结论** 应重视泌尿生殖系混合感染, 支原体感染需和临床症状相结合, 可首选交沙霉素、多西环素或米诺环素等治疗。

关键词: 淋球菌; 沙眼衣原体; 支原体; 药物敏感试验

中图分类号: R759.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-979X(2011)09-0340-03

Pathogenic Analysis of Genitourinary Tract Infection and Drug Sensitivity Test for Mycoplasma

WANG Li-ping, LI Bao-qiang, DUAN Xin-suo, LU Jie, YU Li-qin, XING En-hong

(Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

Abstract: Objective To investigate the constitution of local common pathogens of genitourinary tract infection and the drug sensitivity for mycoplasma. **Methods** The samples from urethral or cervical secretions of patients with clinical symptoms or impure sex relations were quantitatively detected for Chlamydia trachomatis by colloidal gold method, and Neisseria gonorrhoeae, mycoplasma were identified by culture. The drug sensitivity test was taken for mycoplasma. **Results** In 370 patients, 214 patients were positive. Among them, 40 cases (18.69%) suffered from multiple infections, especially multiple infection of mycoplasma and Chlamydia trachomatis. The rate of single infection was 14.02%, 14.49% and 52.80% for Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis and mycoplasma, respectively. Mycoplasma was sensitive to josamycin, doxycycline and minocycline. **Conclusion** The attention should be paid to multiple infection of genitourinary tract. The mycoplasma infection should be considered with clinical symptoms and can be treated by josamycin, doxycycline or minocycline.

Key Words: Neisseria gonorrhoeae; Chlamydia trachomatis; mycoplasma; drug sensitivity test

淋球菌、沙眼衣原体和支原体感染是泌尿生殖系感染常见的致病微生物, 有时为混合感染。尽管支原体可在部分正常人群中检测到, 但在特定条件下也可致病, 且因近年抗生素滥用, 支原体耐药也日益受到关注。我们联合检测了有临床症状或有不洁性史者的

尿道或宫颈分泌物的淋球菌、沙眼衣原体和支原体包括解脲支原体(UU)、人型支原体(MH)等, 现将检测结果总结如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收稿日期: 2011-06-24

作者简介: 王立平(1971-), 女, 河北沧州人, 副主任医师, 从事临床流行病学研究

*通讯作者: 李保强(1969-), 男, 教授, 从事性传播疾病及皮肤血管炎等研究 Email:lbqq07@yahoo.com.cn

- 黄酮含量的比较[J]. 文山师范高等专科学校学报, 2008, 21(1): 99-101.
- [6] 黄平, 莫虎, 马雯芳, 等. RP-HPLC法同时测定鸡骨草药材中的相思子碱和下箴刺桐碱[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(10): 1702-1704.
- [7] 潘浪胜, 周国平, 吴学文, 等. 鸡骨草中黄酮类物质的提取与

分析[C]. 第五届全国制药工程科技与教育研讨会 / 中药制药, 2006: 421-424.

- [8] 孔德鑫, 黄荣韶, 黄庶识, 等. 基于FTIR比较分析鸡骨草与毛鸡骨草的化学组分[J]. 光谱实验室, 2010, 27(2): 512-515.
- [9] 国家药典委员会. 中国药典2010版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 230, 277.