续表 1

序号	保留时间/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量
40	32.302	Phenanthrene,1-methyl 1-甲基菲	$C_{15}H_{12}$	192	0.192
41	32.651	4,5-Methylenephenanthrene 4,5-亚甲基菲	$C_{15}H_{10}$	190	0.198
42	33.405	Hexadecanoic acid 棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	4.882
43	33.490	Butyl phthalate 酞酸丁酯	$C_{16}H_{22}O_4$	278	3.144
44	34.036	Palmitic acid ethyl ester 棕榈酸乙酯	$C_{18}H_{36}O_2$	284	0.720
45	34.951	Sulfur S8 硫	S_8	256	15.035
46	35.431	Fluoranthene 荧蒽	$C_{16}H_{10}$	202	0.248
47	36.609	Linoleic acid 亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	0.816
48	36.760	9,17-Octadecadienal, 9,17-十八二烷烯酮	$C_{18}H_{34}O_2$	282	2.264
49	37.137	9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)(Z,Z)-9,12 十八碳二烯酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	0.699
50	42.377	9-Octadecenoic acid (Z)-,(Z)-9-十八碳烯酸	$C_{21}H_{40}O_4$	356	1.686
				合计	95.21

3 讨论

对叶百部挥发性成分中共提取分离并鉴定 50 个化学成分,占挥发油总量的 95.21%,其中相对含量较高的为硫 15.035%、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 9.098%、1-辛烯-3-醇 7.879%、邻苯二甲酸二异丁酯 6.391%、棕榈酸 4.882%、愈创木酚 3.250%、、蓝木醇 3.087%、蒽 3.089%、α-雪松醇 2.453%、4-乙基愈创木酚 2.364%。由上述分析结果可以看出,对叶百部根块的挥发性成分很丰富。其中部分化合物具有生物活性,如挥发性烯醇一般具有舒张支气管作用。对叶百部的化学成分研究主要针对百部中的生物碱类成分,故需从不同角度用不同方法对其不同成分进行研究[3-12]。本文对对叶百部的挥发性化学成分进行研究,尚未见其它相关文献报道,为综合利用对叶百部提供了科学依据。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上) [M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:858.
[2] 张宏武. 中药百部炮制历史沿革及现代研究概述 [J]. 国外医学中医中药分册. 2004,26(5):265-270.
[3] 中国药典 [S]. 一部. 2010:123-124.
[4] 林文翰,叶 阳,徐任生. 狭叶百部中新生物碱的结构研究 [J]. 有机化学,1991,11:500-503.
[5] Lin wenhan, Ye yang, Xu Rensheng. Studies on new alkaloids from Stemona tuberosa Tour [J]. *Nat Prod*,1992,55-57.
[6] 林文翰,徐任生,钟琼芯. 百部生物碱的化学研究Ⅱ. 细花百部中微量生物碱的结构研究 [J]. 化学学报,1991,49: 1034-1037.
[7] 丛晓东,徐国钧,金蓉鸾,等. 百部生药学研究Ⅸ. 中国百部属植物块根中总生物碱的测定和评价 [J]. 药学学报,1992,27(7):556-560.
[8] 叶 阳. 中国百部科植物生物碱成分研究 [D]. 上海:中国科学院上海药物所. 1992.
[9] 柯昌强. 细花百部生物碱的化学研究 [D]. 上海:中国科学院上海药物所. 2001.
[10] 崔育新,林文翰. 对叶百部烯酮和对叶百部酮的 2DNMR 研究 [J]. 波谱学杂志, 1998, 15(6): 515-520.
[11] 金 岩. 百部流浸膏对环磷酰胺模型小鼠的免疫调节作用 [D]. 辽宁:辽宁中医学院. 2003.
[12] 刘世旺,付宏征,林文翰. 对叶百部生物碱的结构研究 [J]. 药学学报, 1999, 34(5): 372-375.

UPLC 测定超声提取冬凌草中冬凌草甲素的含量

赵 鹏[1,2,3], 余旭亚[1,2,3], 黄遵锡[1,2*], 唐湘华[1,2], 李俊俊[1,2]
(1. 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心,云南 昆明 650092; 2. 云南师范大学生命科学学院,云南 昆明 650092; 3. 昆明理工大学生命科学与技术学院,云南 昆明 650224)

关键词:超高效液相色谱; 冬凌草; 冬凌草甲素

摘要:目的:建立了超高效液相色谱法测定冬凌草中冬凌草甲素的方法。方法:以甲醇作溶剂,超声提取 40 min,提取液经 0.22 μm 滤膜过滤后,采用 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×50 mm,1.7μm),乙腈-水为流动相梯度洗

收稿日期:2010-08-18
作者简介:赵 鹏(1977 -),男,博士生,主要从事天然产物开发方面的研究工作。E-mail:roc746412@ gmail. com
* 通讯作者:黄遵锡,教授,博士生导师。Tel:(0871)5847822 E-mail:huangzunxi@ 163. com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

脱，流速为 0.4 mL/min，柱温 40 ℃，PDA 检测器于 242 nm 波长下对冬凌草中甲素的含量进行测定。结果：冬凌草甲素在 0.022 ~ 0.44 μg 范围内有良好的线性关系（r = 0.999 7），平均回收率为 97.3 %，RSD 1.05 %。结论：该方法便捷，结果稳定、准确，可用于为冬凌草相关产品的质量控制及评价。

中图分类号：R284.1 文献标识码：B 文章编号：1001-1528（2011）03-0540-03

冬凌草学名碎米亚，是唇形科香茶菜属植物 *Rabdosia rubescens*（Hemsl.）Hara 又称 *Isodon rubescens*（Hemsl.）C. Y. Wu et Hsuan。冬凌草甲素是冬凌草中主要活性成分，在体内和体外均具有较强的抗肿瘤和抗菌活性[1-3]，其分析方法有比色法[4]、薄层扫描法[5]、HPLC[6]和 HPCE[7]等。其中比色法和薄层扫描法存在定量不准确的缺点；HPCE 法虽然快速、试剂用量少且柱不易受污染而优于 HPLC，但是进样精度较 HPLC 低，存在重现性较差、线性范围窄和灵敏度较低等缺陷。目前 HPLC 法是较为常用的冬凌草甲素的测定方法。本实验采用 UPLC 测定冬凌草中冬凌草甲素含量，比常规 HPLC 省时 9 min 以上，是一种简便、快捷、高效、准确的检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

ACQUITY UPLC（美国 Waters 公司），ACQUITY UPLC PDA 检测器（美国 Waters 公司），Empower 2 色谱数据工作站（美国 Waters 公司）；超声波提取器（Automatic Science，60W）；冬凌草甲素对照品购自西安旭煌生物技术有限公司（批号 090621）；冬凌草全草药材购自市场；乙腈（美国 Fisher 公司，色谱纯）；甲醇（AR）；水为超纯水。

1.2 色谱条件

Acquity UPLC BEH C_{18} 超高效色谱柱（50 mm × 2.1 mm，1.7 μm）；柱温 40 ℃；样品室温度 8 ℃；检测波长 242 nm，进样量为 1 μL。

表 1 洗脱梯度

时间/min	流量/（mL/min）	乙腈/%	水/%	曲线
0	0.400	20.0	80.0	6
0.10	0.400	20.0	80.0	6
1.50	0.400	35.0	65.0	6
1.80	0.400	90.0	10.0	6
2.00	0.400	90.0	10.0	6
2.10	0.400	20.0	80.0	6

1.3 对照品贮备液的制备

准确称取冬凌草甲素对照品 5.5 mg，甲醇溶解并定容到 25 mL，制得 0.22 mg/mL 的冬凌草甲素对照品溶液。

1.4 样品溶液的制备

取冬凌草全草药材，粉碎过 40 目筛，精密称取 1 g，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL 称重，超声处理 40 min，放至室温，称重，用甲醇补至原重，过滤，取滤液 2 mL，甲醇定容至 10 mL，经微孔滤膜（0.22 μm）滤过作为供试样品溶液。

2 结果与讨论

2.1 系统适用性试验

样品溶液及对照品溶液依次进样，获得色谱图（见图 1）。可以从图中看出，冬凌草甲素与相邻峰的分离度达到完全基线分离。

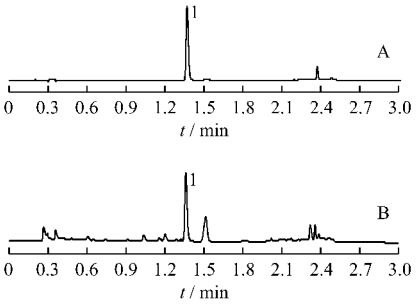

图 1 冬凌草甲素对照品（A）和冬凌草全草（B）UPLC 图

A. 对照品 B. 样品 1. 冬凌草甲素

2.2 线性关系考察

精确吸取对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、1.0、2.0 μL 按文中 1.2 项下色谱条件分别进样，以对照品溶液进样量（μg）为横坐标（X），峰面积积分值为纵坐标（Y），计算回归方程为 $Y = 3 \times 106X + 25246$，$r$ = 0.999 7，冬凌草甲素进样量在 0.022 ~ 0.44 μg 呈良好的线性关系。

2.3 样品溶液稳定性试验

取冬凌草粗粉（样品 1），按文中 1.4 项下制备样品溶液，在 0、2、4、6、8、12 h 按 1.2 项下色谱条件分别进样，记录峰面积平均值为 346 273，RSD 1.04 %。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.4 进样精密度试验

取冬凌草粗粉（样品 1，湖北金贵），按 1.4 项下制备样品溶液，按 1.2 项下色谱条件进样 5 次，测得冬凌草甲素平均含量为 6.662 %，RSD 0.35 %，表明进样精密度较好。

2.5 重复性试验

取冬凌草粗粉（样品 1）5 份，按 1.4 项下方法制备，按 1.2 项下色谱条件分别进样测定，测得平均含量为 6.744 %，RSD 1.93 %，表明方法的精密度较好。

2.6 回收率试验

分别精密吸取 0.192 mg/mL 的冬凌草甲素对照品溶液 5 份，每份 2 mL，分别加入约 1 g 已知含量的冬凌草粗粉（样品 1）中。按 1.4 项下方法处理，按 1.2 项下色谱条件分别进样，冬凌草甲素的平均回收率为 97.3 %，RSD 1.05 %，结果见表 2。

2.7 样品测定

采用文中 1.4 项下方法，对多个不同来源的冬凌草样品进行处理，用文中 1.2 项下色谱方法进行测定，记录峰面积，计算冬凌草甲素的含量。见表 3。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 冬凌草甲素回收率试验结果(n =5)

样品含甲素量/mg	对照品加入量/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
5.864	0.384	6.096	97.6		
5.122	0.384	5.286	96.0		
5.527	0.384	5.742	97.1	97.3	1.05
5.392	0.384	5.709	98.8		
6.605	0.384	6.776	97.0		

表 3 冬凌草全草药材中冬凌草甲素含量测定结果(n =5)

样品编号	样品来源	含量/%	RSD/%
1	购于湖北金贵中药饮片有限公司	0.674 0	0.651 0
2	购于云南绿生药业有限公司	0.508 4	0.771 4
3	购于河北安国市京兴药业有限责任公司	0.552 6	0.651 4
4	购于安徽省亳州市国鑫医药有限公司	0.661 9	0.969 3

3 结论

本实验采用 UPLC 对冬凌草药材中冬凌草甲素的含量进行测定，与常用的 HPLC 测定方法[6,8-9]相比，在保持较高的准确度和精密度的同时，提高了分析效率。甲素的保留时间从 10 min 以上缩短为 1.361 min，出峰时间缩短了 9 min 以上，分析时间缩短至 3 min 以内，在分析时间大幅缩短的同时，减少了溶剂的损耗和废液的处理费用，节省了分析成本，为提高冬凌草的质量控制及其新产品的开发利用提供了一种更为快速准确测定方法。

参考文献：

[1] Kadota S, Basnet P, Ishii E, *et al*. Antibacterial activity of trichorabdal A from Rabdosia trichocarpa against Helicobacter pylori [J]. *Zentralblatt Für Bakteriologie*, 1997, 286(1):63-67.

[2] Chen S, Gao J, Halicka HD, *et al*. The cytostatic and cytotoxic effects of oridonin (Rubescenin), a diterpenoid from Rabdosia rubescens, on tumor cells of different lineage [J]. *Int J Oncol*, 2005, 26(3):579-588.

[3] Liu J J, Huang R W, Lin D J, *et al*. Oridonin-induced apoptosis in leukemia K562 cells and its mechanism [J]. *Neoplasma*, 2005, 52(3):225-230.

[4] 赵清治，晁金华，王汉清. 注射剂“癌得宁”中冬凌草甲素含量的紫外分光光度定量测定 [J]. 河南医学院学报 医学版，1981，16(2):351-354.

[5] 袁 珂，胡润淮. 薄层扫描法测定冬凌草中冬凌草甲素的含量 [J]. 中药材，1997，20(5):242-243.

[6] 袁 珂，吕洁丽，贾 安. 超声提取 HPLC 法测定冬凌草中冬凌草甲素 [J]. 中草药，2005，36(12):1823-1824.

[7] 贾 欣，高 岩，杜 斌，等. HPCE 法测定冬凌草片中冬凌草甲素的含量 [J]. 郑州大学学报，2006，41(1):156-157.

[8] 冀春茹，冯卫生，胡润淮，等. HPLC 法测定冬凌草菇含片中冬凌草甲素的含量 [J]. 中国现代应用药学杂志，1999，16(5):35-36.

[9] 李可强，王 坤，张振秋. HPLC 切换波长法同时测定冬凌草片中迷迭香酸和冬凌草甲素含量 [J]. 中成药，2008，30(4):526-528.

HPLC-ELSD 测定八珍益母丸中水苏碱的含量

蒋 歆[1]， 丁永辉[2*]， 魏学冰[3]， 杨 锡[3]
(1. 兰州大学药学院，甘肃 兰州 730000；2. 甘肃省食品药品监督管理局，甘肃 兰州 730000；3. 甘肃省药品检验所，甘肃 兰州 730000)

关键词：HPLC-ELSD；八珍益母丸；水苏碱

摘要：目的：建立高效液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)检测测定八珍益母丸中水苏碱含量的方法。方法：采用高效液相色谱法，以蒸发光散射检测器进行测定。色谱柱为 Venusil HILIC (250 mm×4.6 mm，5 μm)，以乙腈-0.2% 冰醋酸(80∶20)为流动相，流速：0.5 mL/min，柱温：35 ℃；ELSD 检测器：漂移管温度为 105 ℃，载气(N_2)气体流速为 2.8 L/min，增益值为 135。结果：盐酸水苏碱进样量在 1.014 4～7.608 0 μg 范围内呈良好的线性关系(r =0.999 3)，平均回收率为 99.10%，RSD=1.96%(n =8)。结论：本方法快速简便，结果准确可靠，重现性好，可用于八珍益母丸的质量控制。

中图分类号：R927.2 文献标识码：B 文章编号：1001-1528(2011)03-0542-03

收稿日期：2010-05-28

作者简介：蒋 歆(1983－)，女，硕士生，研究方向：药物分析。Tel：13919862335 E-mail：xjiang04@126.com
* 通讯作者：丁永辉，男，教授，硕士生导师。Tel：13893612269 E-mail：dingyonghui@gsda.gov.cn

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net