

2.8 样品测定 取 5 批样品, 分别按 2.2.2 项下制备供试品溶液, 测得丹参酮 DA 的含量分别为 0.1123%, 0.12%, 0.09%, 0.11%, 0.10%, 0.14%。

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择 实验中考察了 50%、75%、95% 的乙醇及甲醇的提取效率, 结果表明甲醇提取效率最高。故供试液的制备选用甲醇超声提取。

3.2 流动相的选择 参照文献^[2,3], 对不同配比的甲醇/水及梯度洗脱分离效果进行了比较。虽然梯度洗脱能获得满意的分离度, 但流动相配比的变化, 需反复与固定相分配平衡, 基线不稳定, 重现性较差。以甲醇/水 (86/14) 为流动相,

实现了通脉颗粒中丹参酮 DA 与干扰组分的分离, 方法重现性好, 回收率高。

参考文献

[1] 余建清, 雷嘉川, 赵霞. 通脉冲剂质量控制方法的研究 [J]. 广东药学院学报, 1998 14(1): 41.
[2] 李力, 姜子洋, 陈万生. 不同产地丹参中 3 种丹参酮含量变异 [J]. 第二军医大学学报, 2000 21(8): 753
[3] 韩新高, 张家富. 高效液相色谱法测定芪参膏中丹参酮 DA 含量 [J]. 安徽中医学院学报, 2000 19(6): 46

收稿日期: 2005204212

高效液相色谱法测定菟丝子中对 香豆酸含量

谭喜莹, 陆红柳, 赵陆华*, 许璐 (中国药科大学分析测试中心, 南京 210009)

摘要: 目的 用高效液相色谱法测定菟丝子中对 香豆酸的含量。方法 采用 Hypersil C₁₈ 色谱柱 (250mm @4.6mm, 5Lm), 流动相: 乙腈/20.1% 冰醋酸水溶液 (25B75), 流速: 1.0mL·min⁻¹, 检测波长: 308nm。结果 对 香豆酸在 2.0~40.0L·g⁻¹·mL⁻¹ 浓度范围内线性关系良好, r=0.9993 平均回收率为 99.9%, RSD 为 1.9%。结论 本法简便、准确, 可用于菟丝子中对 香豆酸的含量测定。

关键词: 菟丝子; 对 香豆酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.799.1 文献标识码: B 文章编号: 100727693(2006)0920918203

Quantitative determination of p2coumaric acid in Cuscuta Chinensis Lam. by HPLC

TAN Xiying, LU Hongliu, ZHAO Luhu*, XU Lu (Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of p2coumaric acid in Cuscuta Chinensis Lam. by HPLC. METHODS The chromatographic conditions included column Hypersil C₁₈ (250mm @4.6mm, 5Lm), mobile phase acetonitrile/20.1% acetic acid aqueous (25B75), flow rate at 1.0mL·min⁻¹, wavelength at 308 nm. RESULTS The linearity of p2coumaric acid was in the range of 2.0~40.0L·g⁻¹·mL⁻¹ (r=0.9993), and the average recovery was 99.9%, RSD=1.9%. CONCLUSION This method is simple, sensitive and accurate to determine the content of p2coumaric acid in Cuscuta Chinensis Lam.

KEY WORDS Cuscuta Chinensis Lam.; p2coumaric acid; HPLC

菟丝子为旋花科植物菟丝子 Cuscuta Chinensis Lam. 的干燥成熟种子, 分布遍及全国各地^[1]。其传统功效为补肝益肾、益精明目, 现代药理学研究表明, 菟丝子具有保护心血管, 增强免疫力, 改善微循环, 延缓衰老和保肝等作用^[2]。其主要含有黄酮和碳环芳香族酚酸性类 (绿原酸、对 香豆酸等) 物质^[3]。有关菟丝子中化学成分的分析大部分是针对其中黄酮类成分^[4,25]。对 香豆酸, 作为其有效成分之一, 属碳环芳香族酚酸性类物质, 具有抗菌, 提高免疫力, 抗肝毒等作

用^[6]。对于菟丝子中对 香豆酸的高效液相含量测定, 国内外未见文献报道。本试验首次采用高效液相色谱法测定了菟丝子中对 香豆酸的含量, 方法简便, 快捷, 结果准确可靠。

1 实验仪器与试剂

岛津 LC210AD VP 高效液相色谱仪, 岛津 SPD210A VP 紫外检测器, 浙江大学 N2000 色谱工作站。

菟丝子购于山东省青岛市药材市场, 经中国药科大学宋学华教授鉴定为菟丝子 (Cuscuta chinensis Lam.)。甲醇、冰

基金项目: 国家/十五重大科技专项/创新药物与中药现代化 0 (No. 2004 AA2Z3900) 基金资助项目

作者简介: 谭喜莹, 女, 硕士研究生。Tel 025- 83271185

* 通讯作者: 赵陆华: 中国药科大学副研究员 Tel 025- 83271185 E-mail zhao_lu_hua@hotmail.com

醋酸为分析纯 (南京化学试剂一厂), 乙腈为色谱纯 (美国 TEDIA), 水为纯净水, 对 2 香豆酸购于美国 sigma 公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱 (250mm @4.6mm, 5μm); 流动相: 乙腈 20.1% 冰醋酸水溶液 (25B75); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 308nm; 柱温: 30℃; 进样量: 20μL。理论塔板数按对 2 香豆酸峰计算应不低于 4000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取对 2 香豆酸对照品 50mg 置 50mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得储备液。取储备液 1.0 mL 至 10mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 得每 mL 含 10μg 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取菟丝子药材粉末 1g 精密称定, 加 80% 甲醇 40mL, 加热回流提取 3 次, 每次 1h。放冷, 滤过, 合并滤液, 浓缩至 5mL, 浓缩液置 10mL 量瓶中, 用少量 80% 甲醇分次洗涤容器, 洗液置同一量瓶中, 加 80% 甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察

分别精密取对照品储备液 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0mL, 分别置 10mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以对照浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标进行回归, 线性方程为: Y = 37849X - 43720, r = 0.9993。结果表明: 对 2 香豆酸在 2.0~40.0 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取对照品溶液 (10μg/mL), 连续进样 6 次, 每次 20μL, 记录对 2 香豆酸峰面积, 结果表明峰面积的 RSD 为 0.7%。

2.6 稳定性试验

取 2.3 项下溶液 20μL, 分别于 0, 2, 4, 6, 8h 进样, 测得对 2 香豆酸的峰面积 RSD 为 1.1%, 表明样品溶液在 8h 内稳定。

表 1 菟丝子中对 2 香豆酸加样回收率试验结果

Tab 1 Result of recovery of p2coumaric acid in Cuscuta chinensis Lam.

编号 (n)	取样量 (g)	样品含量 (Lg)	对照品加入量 (Lg)	测得总量 (Lg)	测得量 (Lg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.5043	41.05	40.70	82.41	41.36	101.6	99.9	1.9
2	0.4913	39.99	40.70	80.77	40.78	100.2		
3	0.5021	40.87	40.70	81.60	40.73	100.1		
4	0.5156	41.97	40.70	83.32	41.35	101.6		
5	0.5067	41.25	40.70	81.62	40.37	99.2		
6	0.4996	40.67	40.70	79.91	39.24	96.4		

表 2 菟丝子中对 2 香豆酸的含量测定结果 (Lg/g, n = 3)

Tab 2 The content of p2coumaric acid in Cuscuta chinensis Lam. (Lg/g, n = 3)

批号 (Lot No.)	p-coumaric acid
060412	81.40
060418	75.39
060423	79.25

定, 均可进行测定。

2.7 重现性试验

取同一批菟丝子药材 6 份, 按 2.3 项下制备成供试品溶液, 分别进样 20μL, 测定对 2 香豆酸的含量 RSD 为 1.5%, 表明方法可行, 重现性好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品 (81.40 μg/g) 0.5g 精密加入对照品适量, 配成中间浓度溶液, 按 2.3 项下方法操作, 平行操作 6 份, 计算加样回收率。平均回收率为 99.9%, RSD 为 1.9%, 结果见表 1。

2.9 样品含量测定

分别取三份菟丝子样品约 1.0g 精密称定, 按 2.3 项下制备供试品溶液。在选定的色谱条件下外标法测定对 2 香豆酸的含量, 结果见表 2。对照品及供试品色谱图见图 1。

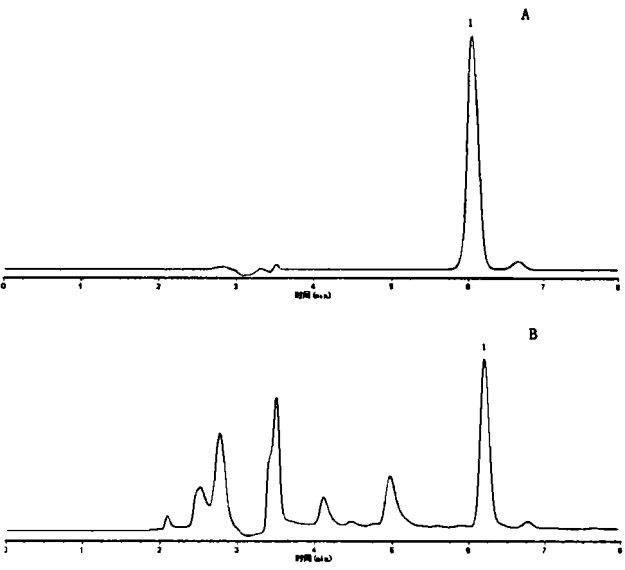


图 1 对 2 香豆酸对照品 (A) 与菟丝子样品 (B) 的 HPLC 图谱
Fig 1 HPLC chromatograms of p2coumaric acid (A) and sample of Cuscuta chinensis Lam. (B) 1: 对 2 香豆酸; 2: p2coumaric acid

3 讨论

3.1 测定波长的选择

取对 2 香豆酸适量, 用流动相溶解, 在 200~400nm 波长范围内扫描, 结果在 308nm 处有最大吸收, 故实验选择 308nm 为测定波长。

3.2 流动相选择

酚酸类成分在 HPLC 测定中易出现拖尾现象, 在流动相

中加入冰醋酸可抑制其拖尾,提高其峰形对称性,经多次测定,系统具有良好的重现性和稳定性。

3.3 提取溶剂的选择

对2香豆酸属于酚酸类化合物,具有较强的极性,易溶于热水和甲醇。用水提取时,发现含量较不稳定,且提取杂质多,而甲醇提取克服了水的缺点,提取效率高,重现性好,故本实验选用甲醇为提取溶剂。

3.4 该方法具有稳定、简便、重现性好、无杂质干扰等特点,适合于菟丝子中对2香豆酸的含量测定。

参考文献

[1] Chp (2005) Vol I (中国药典 2005年版.一部) [S]. 2005 217
[2] LIANG X T. Changyongzhongyaojichuyanjiu (常用中药基础研究) [M]. Vol 1. Science Press 2003 583.

[3] GUO C, WANG Y J, ZHANG J P. Study on the chemical constituents and pharmacological effect of *Cuscuta chinensis* [J]. LISHIZHEN Medicine and Materia Medica Research (时珍国医国药), 2005 16(10): 103521036
[4] ZHENG Y M, XU X Y, YANG Y H, et al. Determination of hy2 peroxide and quercitrin in the seeds of *Cuscuta chinensis* by HPLC [J]. West China J Pharm (华西药 学杂志), 2005 20(3): 2612262
[5] ZHOU X, WANG Z M, ZHENG J et al. Determination of que2 cetin in Chinese Herbal Medicine by Capillary Electrophoresis [J]. Chem J Chinese University (高等学校化学学报), 2005 26(4): 6572659
[6] ZHOU J J, XIE G R, YANG X J. Traditional Chinese Medicines Molecular Structures, Natural Sources and Applications (中药原 植物化学成分手册) [M]. Chemical Industry Press 2004: 181.

收稿日期: 2006206218

高效液相色谱法测定罗汉茶中落新妇苷的含量

姚毅, 周翔, 陈婷* (南京大学生命科学学院医药生物技术国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 目的 建立高效液相色谱测定药材罗汉茶中落新妇苷含量的方法。方法 选用色谱柱为 Lichrospher C218 (4.6 mm @ 250 mm, 5 Lm); 流动相为甲醇20.3%醋酸水溶液 (v/v, 45B55); 检测波长 291 nm; 流速 1.0 mL# min⁻¹; 柱温 25e。结果 落新妇苷进样量在 0.182~1.093 Lg 范围内与峰面积呈良好线性关系 (r=0.9995, n=6); 落新妇苷的加样回收率为 98.60% (RSD=2.49%)。结论 该法简便、准确、可靠, 可用于罗汉茶药材的质量控制。

关键词: 罗汉茶; 落新妇苷; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R917.792.1 文献标识码: B 文章编号: 100727693(2006)092092022

Determination of Astibin contained in the leaf of Engelhardia roxburghiana Wall by HPLC

YAO Y J, ZHOU Xiang, CHEN Ting* (State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a RP2HPLC method for determination of astibin contained in the leaf of Engelhardia ro2 burghiana Wall. METHODS The chromatographic conditions were as follows. Column: Lichrospher C218 (4.6 mm @ 250 mm, 5 Lm). Mobile phase: methano2l 20.3% acetic acid (v/v, 45B55). Wave length: 291 nm. Flow rate: 1.0 mL# min⁻¹. Column tem2 perature: 25e. RESULTS The calibration curves were linear in range of 0.182~1.093 Lg for astibin (r=0.9995, n=6). The average recovery of astibin was 98.60% (RSD=2.49%). CONCLUSION This method is simple, accurate and reliable for the determination of astibin contained in the leaf of Engelhardia roxburghiana Wall, and can be used for the quality control of Engelhardia roxburghiana Wall.

KEY WORDS: Engelhardia roxburghiana Wall; Astibin; HPLC; Determination

罗汉茶为胡桃科植物黄杞 *Engelhardia roxburghiana* Wall 的干燥叶。广西中药材标准 (1996 第二版) 报道, 罗汉茶具有清热解毒, 生津止渴, 解暑利湿等功效, 用于脾胃湿滞, 胸腹胀闷, 感冒发热。罗汉茶的主要成分为落新妇苷等

黄酮类化合物。文献报道, 落新妇苷具有显著的利尿镇痛作用^[1]和选择性免疫抑制作用^[2]。已报道的落新妇苷的测定方法有紫外分光光度法^[3]和高效液相色谱法^[4-5]。本研究采用 HPLC 法, 首次测定了罗汉茶中落新妇苷的含量, 并比

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30472174)
* 通讯作者: 陈婷, 副研究员, 主要从事天然药物活性成分的研究, Tel: 025- 83686786, E- Mail: chenting_nju@163.com