

# HPLC 测定宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷含量

徐飞<sup>1,2</sup>, 王晓中<sup>1</sup>, 张雷<sup>1</sup>, 龚波林<sup>1\*</sup>

(1. 宁夏大学 能源化工重点实验室, 银川 750021;  
2. 宁夏疾病预防控制中心, 银川 750004)

**[摘要]** 目的: 采用高效液相色谱法, 建立宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷的含量测定方法。方法: 色谱条件, Diamonsil C<sub>8</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相 A 为乙腈-水-醋酸(5:94.5:0.5), 流动相 B 为乙腈-水-醋酸(72:27.5:0.5), 梯度洗脱。流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 检测波长 346 nm。结果: 东莨菪素在 0.1 ~ 10 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好, 回归方程  $Y = 32\,568X + 637.8$  ( $r^2 = 0.999\,9$ ), 平均回收率 98.2%, RSD 1.45%; 东莨菪苷在 0.1 ~ 10 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好, 回归方程  $Y = 23\,951X + 746.7$  ( $r^2 = 0.999\,9$ ), 平均回收率 101.6%, RSD 1.27%。结论: 该方法准确可靠, 可用于测定宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷的含量, 为宁夏枸杞开发利用提供理论依据。

**[关键词]** 宁夏枸杞; 东莨菪素; 东莨菪苷; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0067-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1158.007.html>

**[网络出版时间]** 2012-05-04 11:58

## Determination of Scopoletin and Scopolin in *Lycium barbarum* by HPLC

XU Fei<sup>1,2</sup>, WANG Xiao-zhong<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, GONG Bo-lin<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Energy & Chemical Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;  
2. Ningxia Center for Disease Prevention and Control, Yinchuan 750004, China)

**[Abstract]** **Objective:** An HPLC method was established for determination of scopoletin and scopolin in *Lycium barbarum*. **Method:** The chromatographic separation was performed on Diamonsil C<sub>8</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), acetonitrile-water-acetic acid (5:94.5:0.5) as mobile phase A and acetonitrile-water-acetic acid (72:27.5:0.5) as mobile phase B with gradient elution. The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup> at 30 ℃, and the detection wavelength was set at 346 nm. **Result:** The calibration curve was linear in the range of 0.1-10 mg·L<sup>-1</sup> for scopoletin ( $r = 0.999\,9$ ), and the regression equation was  $Y = 32\,568X + 637.8$ . The recovery was 98.2%, with RSD of 1.45%. The calibration curve was linear in the range of 0.1-10 mg·L<sup>-1</sup> for scopolin ( $r = 0.999\,9$ ), and the regression equation was  $Y = 23\,951X + 746.7$ . The recovery was 101.6%, with RSD of 1.27%. **Conclusion:** The method is accurate and reliable, which could be used as a quality control method for scopoletin and scopolin in *L. barbarum*, and provide basis for development and utilization of *L. barbarum*.

**[Key words]** *Lycium barbarum*; scopoletin; scopolin; HPLC; determination

**[收稿日期]** 20111226(009)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划子项目(2009BAI72B00); 宁夏回族自治区科技攻关计划项目; 宁夏大学科学研究基金(ZR1144)

**[第一作者]** 徐飞, 在读硕士, 从事色谱固定相的研究及应用, Tel: 13995402553, E-mail: lengyue0524@163.com

**[通讯作者]** \* 龚波林, 博士, 教授, 从事色谱固定相的研究及应用, Tel: 0951-2062300, E-mail: gongbl@nxu.edu.cn

宁夏枸杞为茄科枸杞属宁夏枸杞的干燥果实, 是“药食同用”的上等补品, 其味甘、性平, 归肝、肾经。现代药理学研究证实, 宁夏枸杞具有益精明目、降低血脂、抗衰老、抗肿瘤等多方面的药理作用。宁夏枸杞的化学成分主要为枸杞多糖、黄酮及其苷类、类胡萝卜素、维生素、氨基酸和无机元素等<sup>[1]</sup>。目前对宁夏枸杞的研究多集中在多糖和黄酮等方面。Peng X 等鉴定了枸杞多糖中 LbGp2 等部分<sup>[2]</sup>, Duan

C 等鉴定了枸杞多糖中 LbGp1, LbGp2 等部分<sup>[3]</sup>, Poterat O 鉴定了枸杞多糖中 LbGp5B, LBp1a-1, LBp1a-2 等部分<sup>[2]</sup>。Lea K 等人测定了枸杞中槲皮素、山奈酚和杨梅素的含量<sup>[3]</sup>, Stephen Inbaraj B 等人用 HPLC-DAD-ESI-MS 测定了枸杞中异鼠李素-3-O-芸香糖等黄酮的含量<sup>[4]</sup>。我们在对宁夏枸杞其他活性成分的研究中,分离得到 2 个香豆素类化合物,经理化性质和波谱学数据分析鉴定了它们的结构为东莨菪素和东莨菪苷。这 2 个化合物均具有一定的镇痛抗炎、祛痰平喘作用。到目前为止,文献<sup>[5]</sup>报道过宁夏枸杞中总东莨菪素含量的测定,还未见同时测定宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷含量的报道。我们利用 HPLC 测定了不同地区宁夏枸杞中这 2 个化合物的含量,为宁夏枸杞制定新的标准及品质评价提供依据。

### 1 仪器与试药

AM-400 型核磁共振谱仪(瑞士布鲁克公司), LTQ-XL 型二维线性离子阱质谱仪(美国热电公司), TU-1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), Diamonsil C<sub>8</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)(迪马公司), BS224S 型电子天平(德国赛多利斯公司), 甲醇、乙腈为色谱纯(天津市大茂化学试剂公司), 醋酸为色谱纯(天津市光复精细化工研究所), 甲醇等均均为国产分析纯, 水为纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

原料采自宁夏中宁县舟塔乡靳崖村及购自宁夏药材公司。经宁夏医科大学牛阳教授鉴定为宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥果实宁夏枸杞, 凭证林本现存于宁夏天然产物工程中心。材料取回后, 60 °C 真空干燥, 经多功能中药粉碎机粉碎, 粗粉过 60 ~ 80 目筛后, 密封备用。

对照品均为实验室自制, 系从宁夏枸杞 70% 乙醇提取物乙酸乙酯萃取部位中分离纯化得到, 并经 UV, ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 等光谱鉴定, 并结合文献<sup>[6-7]</sup> 确定其结构分别为东莨菪素和东莨菪苷。按照本方法的色谱条件归一化法测得它们的纯度分别为 98.7%, 98.4%, 供含量测定用。

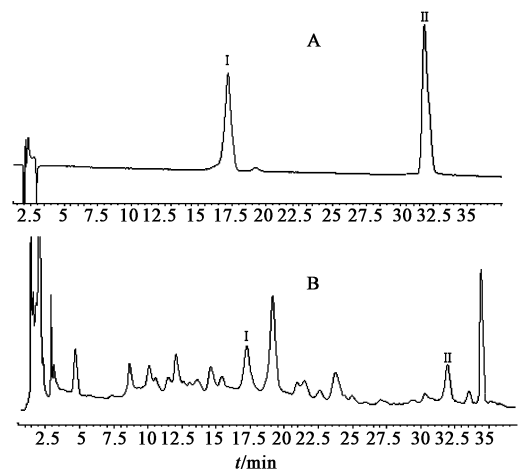
## 2 方法

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 对照品混合溶液** 精密称取东莨菪素和东莨菪苷各 2.0 mg, 置于同一 100 mL 量瓶中, 加色谱甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品混合溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 精密称取干燥的宁夏枸杞粉末 5.0 g, 60 °C 甲醇回流提取 3 次, 液料比(1:20), 回流时间依次为 2, 1.5, 1 h。过滤后, 用少量甲醇多次洗涤滤渣, 合并浓缩提取液, 转入并定容于 100 mL 量瓶中, 用 0.45 μm 的有机滤膜过滤, 即得供试品溶液。

**2.2 色谱条件** Diamonsil C<sub>8</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相 A 为乙腈-水-醋酸(5:94.5:0.5), 流动相 B 为乙腈-水-醋酸(72:27.5:0.5), 梯度洗脱(0 ~ 18 min, 100% ~ 90% A, 18 ~ 35 min, 90% ~ 70% A, 35 ~ 45 min, 70% ~ 0% A); 柱温 30 °C, 检测波长 346 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。见图 1。



I. 东莨菪苷; II. 东莨菪素; A. 对照品; B. 样品

图 1 宁夏枸杞 HPLC

**2.3 线性关系考察** 精密移取东莨菪素和东莨菪苷的对照品混合溶液适量, 以甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 配制成质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 5.0, 10 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液。分别取上述溶液各 20 μL, 平行进样 3 次, 取平均值。结果表明, 东莨菪素和东莨菪苷均在 0.1 ~ 10 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积(Y) 呈现良好的线性关系。回归方程分别为  $Y = 32\,568X + 637.8$  ( $r = 0.999\,9$ );  $Y = 23\,951X + 746.7$  ( $r = 0.999\,9$ )。

**2.4 精密度试验** 精密移取东莨菪素和东莨菪苷的对照品混合溶液适量, 配制成质量浓度 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 20 μL, 测定峰面积。计算东莨菪素和东莨菪苷峰面积的 RSD ( $n = 6$ ) 分别为 1.32%, 1.14%。

**2.5 重复性试验** 取干燥的宁夏枸杞粉末 6 份, 按 2.1.2 项所述的方法操作, 制得 6 份溶液, 每次进样 20 μL, 测定峰面积, 计算样品中东莨菪素和东莨菪苷含量的平均值 ( $n = 6$ ) 分别为 57.3, 167.6 μg·

$g^{-1}$ ,RSD 分别为 1.23%,1.31%。

**2.6 稳定性试验** 供试品溶液在 0~12 h 内每隔 2 h 进样 20  $\mu L$ ,测定峰面积,计算样品中东莨菪素和东莨菪苷峰面积的 RSD 分别为 1.28%,1.54%。结果表明在 12 h 内供试品溶液稳定。

**2.7 加样回收率试验** 取已知含量(其中东莨菪素 57.3  $\mu g \cdot g^{-1}$ ,东莨菪苷 167.6  $\mu g \cdot g^{-1}$ )的干燥的宁夏枸杞粉末 6 份,每份 1.0 g,分别向其中加入 2 种对照品(其中东莨菪素 58  $\mu g$ ,东莨菪苷 166  $\mu g$ ),按 2.1.2 项所述的方法操作,制得 6 份供试品溶液,每次进样 20  $\mu L$ ,测定峰面积,计算样品中东莨菪素和东莨菪苷的平均回收率。结果见表 1。

表 1 宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷的加样回收率试验

成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
东莨菪素	0.057 3	0.058 0	0.1137	97.2	98.2	1.45
	0.057 3	0.058 0	0.113 3	96.6		
	0.057 3	0.058 0	0.115 7	100.7		
	0.057 3	0.058 0	0.114 5	98.6		
	0.057 3	0.058 0	0.114 0	97.8		
	0.057 3	0.058 0	0.114 2	98.1		
东莨菪苷	0.167 6	0.166 0	0.3378	102.5	101.6	1.27
	0.167 6	0.166 0	0.336 1	101.5		
	0.167 6	0.166 0	0.333 1	99.7		
	0.167 6	0.166 0	0.337 4	102.3		
	0.167 6	0.166 0	0.338 7	103.1		
	0.167 6	0.166 0	0.334 4	100.5		

### 3 结果与讨论

**3.1 样品的测定** 分别精密吸取对照品混合溶液和供试品溶液各 20  $\mu L$ ,平行进样 3 次,记录色谱图,按外标法以峰面积计算样品中东莨菪素和东莨菪苷的含量。试验结果见表 2。

**3.2 提取条件的优化** 比较了乙醇、甲醇和 80% 甲醇对提取的影响,结果以甲醇提取效率最佳,故选择甲醇作为提取溶剂。通过不同固液比的提取率的比较,发现  $m$ (宁夏枸杞): $V$ (甲醇)1:20 的溶剂量较为合适。3 次回流时间分别选择 2,1.5,1 h,依据是首次提取需要浸润的时间长,而后含量相对减少,所以后 2 次提取时间依次递减。提取 3 次后,延长提取时间东莨菪素和东莨菪苷的含量不再增加。

**3.3 最大吸收波长的选择** 根据紫外光谱图显示东莨菪素和东莨菪苷的最大吸收波长均在 346 nm,

表 2 不同地区宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷含量( $n=3$ )

样品来源	采摘(购买) 日期	东莨菪素		东莨菪苷	
		含量 / $\mu g \cdot g^{-1}$	RSD /%	含量 / $\mu g \cdot g^{-1}$	RSD /%
宁夏中宁县舟塔乡 乡靳崖村	2010-07-20	57.3	1.23	167.6	1.31
宁夏中宁县	2010-08-07	51.6	1.42	146.4	1.07
宁夏农科院 1 号	2010-08-14	40.5	1.18	80.7	1.49
宁夏农科院 2 号	2010-08-14	39.7	1.71	75.6	1.30
甘肃兰州	2010-08-10	28.3	1.69	72.3	1.57
新疆精河	2010-08-16	27.5	1.85	59.5	1.92

故选定 346 nm 为测定波长。

**3.4 流动相的选择** 分别考察了不同比例甲醇-水和乙腈-水流动相,发现乙腈-水能获得较好的分离效果,但是存在拖尾现象,在流动相中加入 0.5% 的醋酸以后峰形得到明显改善。

**3.5 小结** 不同地区宁夏枸杞中东莨菪素和东莨菪苷的差异较大,采自宁夏永宁县舟塔乡靳崖村的枸杞中这 2 个化合物的含量较高,分别为 57.3,167.6  $\mu g \cdot g^{-1}$ 。这种差异是否与宁夏枸杞的产地、生长环境、采收季节等因素有关,还需要做进一步的研究。

### [参考文献]

- [1] Naf R, Velluz A, Thommen W. Isolation of a glucosidic precursor of damascenone from *Lycium halimifolium* Mill[J]. Tetrahedron Lett,1990,31(45):6521.
- [2] Potterat O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. Chinese*): Phytochemistry, Pharmacology and safty in the perspective of traditional user and recent popularity[J]. Planta Med, 2010,76:7.
- [3] Lea K, Chiub F, Nga K. Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii[J]. Food Chem, 2007,105(1):353.
- [4] Stephen Inbaraj B, Lu H, Kao T H, et al. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2010(52):549.
- [5] 易智彪,曾宝,赖小平. HPLC 法测定枸杞中的东莨菪内酯含量[J]. 亚太传统医药,2010,6(4):13.
- [6] 李胜华,李爱民,伍贤进. 接骨草化学成分研究[J]. 中草药,2011,42(8):1502.
- [7] 张彬锋,俞桂新,王峥涛. 钩吻非生物碱类化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(18):2335.

# HPLC同时测定糖敏灵丸中5种成分的含量

雷定超<sup>1,2</sup>, 鄂秀辉<sup>2</sup>, 张兰兰<sup>2\*</sup>, 周水平<sup>2</sup>, 闫希军<sup>2</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津天士力集团有限公司, 天津 300410)

**[摘要]** 目的:建立 HPLC 同时测定糖敏灵丸中芍药内酯苷、芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷及黄芩苷含量的方法。方法:采用 Aglient ZorbaxSB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以 0.05% 磷酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 流速 1 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C。结果:芍药内酯苷、芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷及黄芩苷的线性范围分别为 0.008 ~ 0.320, 0.021 ~ 0.832, 0.088 ~ 3.52, 0.124 ~ 4.96, 0.086 ~ 3.44 μg (r ≥ 0.999 9, n = 7); 平均回收率 (n = 6) 分别为 99.7% (RSD 2.0%), 100.1% (RSD 1.8%), 100.1% (RSD 1.5%), 100.0% (RSD 2.4%), 103.6% (RSD 2.4%)。结论:所建立的 HPLC 方法简便, 结果准确、可靠, 重复性好。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 糖敏灵丸; 芍药内酯苷; 芍药苷; 柚皮苷; 新橙皮苷; 黄芩苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0070-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1224.026.html>

**[网络出版时间]** 2012-05-04 12:24

## Simultaneous Determination of Five Components in Tangminlingwan by HPLC

LEI Ding-chao<sup>1,2</sup>, E Xiu-hui<sup>2</sup>, ZHANG Lan-lan<sup>2\*</sup>, ZHOU Shui-ping<sup>2</sup>, YAN Xi-jun<sup>2</sup>

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Tianjin Tasy Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method for simultaneous determination of albiflorin, paeoniflorin, naringin, neohesperidin and baicalin in Tangminlingwan. **Method:** The chromatographic method was carried out on an Aglient Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution as the mobile phase by gradient elution. The flow rate was 1 mL · min<sup>-1</sup>. The detection was set at the wavelength of 230 nm. The column temperature was at 30 °C. **Result:** The linear ranges of albiflorin, paeoniflorin, naringin, neohesperidin and baicalin were 0.008-0.320, 0.021-0.832, 0.088-3.52, 0.124-4.96 and 0.086-3.44 μg (r ≥ 0.999 9, n = 7), respectively. The average recoveries were 99.7% (RSD 2.0%), 100.1% (RSD 1.8%), 100.1% (RSD 1.5%), 100.0% (RSD 2.4%) and 103.6% (RSD 2.4%), respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible.

**[Key words]** HPLC; Tangminlingwan; albiflorin; paeoniflorin; naringin; neohesperidin; baicalin

**[收稿日期]** 20111214(002)

**[基金项目]** 国家“十一五”重大新药创制课题(2010ZX09401-406);天津科技计划项目(112CKFSY01400);天津科技计划项目(11ZCKFSY01400)

**[第一作者]** 雷定超, 硕士生, 从事药物分析, Tel: 022-26736549, E-mail: leidingchao@163.com

**[通讯作者]** \* 张兰兰, 从事药物化学研究, Tel: 022-86342608, E-mail: zhanguz@tasy.com

[8] 刘伟, 郭蕾, 崔永霞, 等. HPLC 测定不同产地野生与栽培地骨皮中总东莨菪内酯[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 73.

[9] 刘波, 张浩科, 宫海燕. 反相高效液相色谱法测定新疆枸杞叶茶中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中国实验方

剂学杂志, 2011, 17(14): 92.

[10] 李清民, 王晓中, 周洪玉, 等. HPLC 法测定人参叶中人参黄酮苷的质量分数[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2010, 48(5): 865.

[责任编辑 顾雪竹]