

HPLC 测定不同产地野生与栽培地骨皮中总东莨菪内酯

刘伟*, 郭蕾, 崔永霞, 陈志红, 龚海燕
(河南中医学院分析测试中心, 郑州 450008)

[摘要] 目的:建立反相高效液相色谱测定地骨皮中总东莨菪内酯含量的方法。方法:采用 HPLC, Kromasil C₁₈ 色谱柱, 流动相乙腈-1% 冰醋酸水溶液(15:85), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 345 nm。结果:总东莨菪内酯在 6~48 mg·L⁻¹ 呈良好线性关系($r=0.9999$), 平均回收率 97.19% (RSD 1.77%)。结论:该方法准确、可靠并且专属性强。

[关键词] 高效液相色谱法; 地骨皮; 东莨菪内酯; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)11-0073-03

Content Determination of Total Scopoletin in Wild and Cultivated *Cortex Lycii* from Different Areas by HPLC

LIU Wei*, GUO Lei, CUI Yong-xia, CHEN Zhi-hong, GONG Hai-yan
(Center of Analysis and Measurement of Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] Objective: To establish an HPLC method for content determination of total scopoletin in wild

[收稿日期] 20101102(005)

[基金项目] 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2009A360010)

[通讯作者] *刘伟, 教授, 从事中药质量标准 and 仪器分析方法的研究, Tel:0371-65575838, E-mail: hnliuwei2088@sina.com

表 2 复方茵陈糖浆样品含量测定($n=3$)

批号	龙胆苦苷 /g·L ⁻¹	平均值 /g·L ⁻¹	RSD /%
20090311	0.888 4	0.884 8	1.25
	0.872 4		
	0.893 4		
20090318	0.902 4	0.895 2	1.06
	0.898 8		
	0.884 4		
20090325	0.895 2	0.887 3	0.93
	0.878 8		
	0.888 0		

由于本方为中药复方制剂,成分复杂,采用供试品通过大孔吸附树脂后,再用正丁醇萃取的方法能较好的排除其他组分的干扰。

有关正丁醇萃取次数的确定,笔者在试验中曾就第 4 次正丁醇萃取液作了相关检测,结果表明,第 4 次正丁醇萃取液中已不含相应组分,故确定正丁醇萃取次数为 3 次。

本方法选择 2010 年版《中国药典》龙胆项下含量测定所用流动相,分离效果好,重复性好,且可有效排除其他组分的干扰。

综上所述,本方法灵敏度高、简便、准确,可用于复方茵陈糖浆的质量控制。

[参考文献]

- [1] 卫生部药典委员会. 中药成方制剂. 第 15 册[S]. 北京:化学工业出版社,1998:140.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:89.

[责任编辑 蔡仲德]

and cultivated Cortex Lycii from different areas. **Method:** The separation was performed on a column C_{18} , the mobile phase was acetonitrile-1% acetic acid (15:85); the flow rate was $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; the column temperature was at $30 \text{ }^\circ\text{C}$; the detective wavelength was at 345 nm. **Result:** The linear range of scopoletin was from 6 to $48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The average recovery was 97.19% (RSD 1.77%). **Conclusion:** The method is reliable, accurate and has a good specificity.

[**Key words**] HPLC; Cortex Lycii; scopoletin; content determination

地骨皮为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 或宁夏枸杞 *L. barbarum* L. 的干燥根皮^[1]。具有凉血除蒸,清肺降火之功效,用于阴虚潮热、骨蒸盗汗、肺热咳嗽、咯血、衄血^[2],为临床常用中药。地骨皮含东莨菪内酯、东莨菪苷、地骨皮甲素、香草酸等成分,其中东莨菪内酯、东莨菪苷均具有镇痛抗炎,祛痰平喘的作用^[3-4],为地骨皮有效成分之一。目前,关于地骨皮药材中有效成分定量分析报道不多,本实验首次分离提取并测定了不同产地野生与栽培地骨皮药材中总东莨菪内酯的含量,为该药材的质量评价提供参考依据。

1 仪器与试剂

DIONEX Summit 系统高效液相色谱仪, METTLER AE240 1/10 万天平, FA2004A 1/万天平; 实验所用乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯; 东莨菪内酯对照品(批号 110768-200504, 中国药品生物制品检定所); 地骨皮药材均来自于河南等不同省份, 由河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为茄科植物枸杞 *L. chinense* Mill. 和宁夏枸杞 *L. barbarum* 的干燥根皮。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Dikma Kromasil C_{18} 100A ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \text{ } \mu\text{m}$), 流动相乙腈-1% 冰醋酸水溶液(15:85), 流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 检测波长 345 nm, 进样量 $10 \text{ } \mu\text{L}$ 。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取东莨菪内酯对照品 3.00 mg, 置于 50 mL 的量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含东莨菪内酯对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 乙醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 2 h, 放冷, 再称定质量, 用 80% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 35 mL, 置烧瓶中, 浓缩至约 1 mL, 加 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 20 mL, 水浴中加热水解 2 h, 立即

冷却, 移入分液漏斗中, 用水 10 mL 分次洗涤容器, 并入分液漏斗中, 加氯化钠 2 g, 用三氯甲烷强力振荡提取 4 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷液, 加无水硫酸钠 2 g, 搅拌, 滤过, 容器用少量三氯甲烷洗涤, 滤过, 滤液合并, $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 以下浓缩至近干, 加甲醇使溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 过微孔滤膜 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察 精密量取 2.2 项下东莨菪内酯对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 混匀即得浓度分别为 6, 12, 24, 36, 48 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的东莨菪内酯对照品溶液。按上述色谱条件各进样 $10 \text{ } \mu\text{L}$, 以峰面积(Y)为纵坐标, 对照品的量(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程 $Y = 0.904 6X - 2.614 8$ ($r = 0.999 9$), 东莨菪内酯在 $6 \sim 48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系。

2.4.2 精密度试验 精密吸取同一东莨菪内酯对照品溶液 $4 \text{ } \mu\text{L}$, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 其 RSD 1.56%。表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批地骨皮样品 1.0 g 共 6 份, 精密称定, 照 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件分别进样 $10 \text{ } \mu\text{L}$, 计算总东莨菪内酯含量 RSD 2.02%。

2.4.4 稳定性试验 取地骨皮样品, 精密称定, 照 2.3 项下的方法制备, 按上述色谱条件, 精密吸取供试品溶液 $10 \text{ } \mu\text{L}$, 分别于 0, 2, 4, 8, 10, 12 h 注入高效液相色谱仪, 计算东莨菪内酯含量 RSD 1.74%, 表明样品中总东莨菪内酯在 12 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的地骨皮样品 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 每份加入东莨菪内酯对照品 58.2 μg , 按 2.3 项下方法制备供试品溶液并按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2.4.6 样品含量测定 精密称取各批次样品 1.0 g, 按照 2.3 项下方法制备成供试品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液 $10 \text{ } \mu\text{L}$ 进样, 按上述色谱条件

表1 东莨菪内酯加样回收率试验($n=6$)

称样量 /g	样品含量 / μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.500 1	60.15	58.2	116.80	97.34		
0.499 8	60.12	58.2	115.45	95.07		
0.501 0	60.26	58.2	116.51	96.65	97.19	1.77
0.499 5	60.08	58.2	117.99	99.50		
0.500 7	60.22	58.2	115.95	95.76		
0.500 2	60.16	58.2	117.68	98.83		

测定各样品中总东莨菪内酯的含量,结果见表2和图1。

表2 地骨皮样品中总东莨菪内酯含量测定 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

购(产)地	采集日期	东莨菪内酯
宁夏固原(栽)	2008-12-08	52.23
宁夏银川(栽)	2008-12-15	71.13
宁夏中卫(栽)	2009-01-12	173.00
山西太原(栽)	2008-12-27	86.55
山西晋城(栽)	2008-12-27	112.45
甘肃兰州(栽)	2008-12-03	72.27
河南孟州(栽)	2009-02-17	95.67
广西柳州(栽)	2009-04-14	99.87
安徽亳州(栽)	2009-04-01	89.34
四川成都(栽)	2009-03-28	168.77
河南舞钢(野)	2009-03-02	51.54
河南桐柏(野)	2009-03-13	120.63
河南焦作(野)	2009-02-07	48.28
河南郑州(野)	2009-03-21	68.30
河南辉县(野)	2009-02-27	94.38
河南济源(野)	2009-03-03	65.07
河南孟州(野)	2009-02-17	51.09
浙江杭州(野)	2009-03-12	48.16
江苏苏州(野)	2009-03-12	44.57
青海西宁(野)	2009-01-19	146.53

3 讨论

地骨皮中含有东莨菪苷和游离东莨菪内酯,东莨菪内酯不溶或难溶于水,但东莨菪内酯及东莨菪苷可溶于甲醇、乙醇。用乙醇提取后杂质干扰较少,所以采用80%乙醇提取,再用酸溶液加热水解,将

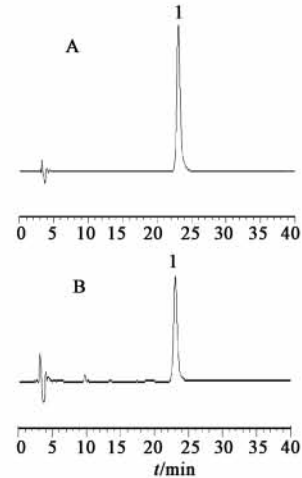


图1 地骨皮 HPLC

A. 对照品; B. 地骨皮; 1. 东莨菪内酯

东莨菪苷水解产生东莨菪内酯。因此,本试验检测的地骨皮中的总东莨菪内酯为东莨菪苷水解产生的东莨菪内酯和游离的东莨菪内酯的总量。

由表2可以看出,不同产地野生与栽培地骨皮的总东莨菪内酯差异较大,在相同省份内总东莨菪内酯含量也存在较大差异,其中,宁夏中卫栽培地骨皮含量最高,江苏苏州野生地骨皮最低。栽培地骨皮总东莨菪内酯含量(除了宁夏固原样品含量较低)均在 $70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,而野生地骨皮含量多数在 $70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以下,由于地骨皮药材中游离东莨菪内酯含量较少,测定结果重复性差。总东莨菪内酯含量较多,重复性好(除河南桐柏野生地骨皮外),总体上栽培地骨皮总东莨菪内酯含量高于野生地骨皮含量。因此提示我们在用药时应注意产地、生长方式与药材质量的关系,在进行地骨皮的栽培研究时,应注意生长环境对药材质量的影响。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:82.
- [2] 江苏新医学院《中药大辞典》编写组.中药大辞典:上册[M].上海:上海人民出版社,1997:819.
- [3] 郑军义,赵万洲.地骨皮的化学与药理研究进展[J].海峡药学,2008,20(5),62.
- [4] 周洁,朱伟.地骨皮的化学成分及药理研究进展[J].山西中医,2008,24(2),47.

[责任编辑 蔡仲德]