

UPLC 测定云实皮中二氢红花菜豆酸苷和原苏木素 B 的含量

刘俊宏^{1,2}, 刘佳¹, 刘丽娜^{1,2}, 谭安菊¹, 李勇军^{1,2}, 刘童^{1,2}, 王爱民^{1,2*}
(1. 贵阳医学院药学院 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004;
2. 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:建立 UPLC 测定云实皮中二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 含量的方法。方法:采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×150 mm,1.7 μm),以乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱,流速 0.3 mL·min⁻¹,检测波长 266 nm,柱温 45 ℃。结果:二氢红花菜豆酸苷、(±)原苏木素 B 分别在 0.497~79.6 mg·L⁻¹(0.999 8),1.50~240 mg·L⁻¹(0.999 9)有良好的线性关系;平均加样回收率为 100.9%(RSD 1.9%),99.89%(RSD 1.8%)。结论:该方法简便、准确,可用于评价云实皮药材的质量。

[关键词] 云实皮;二氢红花菜豆酸苷;(±)原苏木素 B;超高压液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0077-04

[doi] 10.11653/syfy2013200077

Determination of Two Components Content in *Caesalpinia decapetala* by UPLC

LIU Jun-hong^{1,2}, LIU Jia¹, LIU Li-na^{1,2}, TAN An-ju¹, LI Yong-jun^{1,2}, LIU Tong^{1,2}, WANG Ai-min^{1,2*}
(1. School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Engineering Research Center for the Development and Application of ethnic Medicines and TCM, Ministry of Education, Guiyang 550004, China;
2. Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province, Guiyang 550004, China)

[Abstract] Objective: To establish UPLC method for the determination of two components in *Caesalpinia decapetala*. Method: Separation was performed at 45 ℃, on a ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm) with a gradient solvent system of acetonitrile-0.1% aqueous formic acid as the mobile phase. The flow rate was 0.3 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 266 nm. Result: The linear response ranges of (1'R, 3'S, 5'R, 8'S, 2E, 4E)-dihydrophaseic acid-3'-O-β-D-glucopyranoside and (±) Protosappanin B were 0.497-79.6 mg·L⁻¹ (r=0.999 8), 1.50-240 mg·L⁻¹ (r=0.999 9), respectively. The mean recoveries of the two components were 100.9% (RSD 1.9%), 99.89% (RSD 1.8%). Conclusion: The method is simple and accurate, and is suitable for evaluating the quality of *Caesalpinia decapetala*.

[Key words] *Caesalpinia decapetala*; (1'R, 3'S, 5'R, 8'S, 2E, 4E)-dihydrophaseic acid-3'-O-β-D-glucopyranoside; (±) protosappanin B; UPLC

云实皮又称阎王刺,为豆科植物云实的干燥根

或根皮,收载于 2003 年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》中,具有祛风除湿、解毒消肿的功效,用于感冒发热、咳嗽、咽喉肿痛等症^[1],主要分布于贵州、广西、云南等地区^[2]。目前仅见一些关于云实皮极性较小的化学成分研究^[3-5],未见对云实皮药材的药理活性和质量控制方面的文献报道,本课题根据云实皮用于感冒发热、咳嗽、咽喉肿痛等症,采用抗炎模型对其活性部位进行筛选,对活性部位进行系统化学成分研究,从中首次分离得到具有代表性和专属性的化学成分二氢红花菜豆酸苷[(1'R,

[收稿日期] 20130529(001)
[基金项目] 贵州省科学技术基金项目(20112289);贵阳市中药现代化项目(2010-1-中-9);贵州省省中医药管理局项目(QZYY2010-92)
[第一作者] 刘俊宏,博士,讲师,从事中药质量控制及天然产物研究,E-mail:liujunhong84517@126.com
[通讯作者] *王爱民,教授,硕士生导师,从事中药质量评价与新药研究,Tel:0851-6908468,E-mail:gywam100@163.com

3'S, 5'R, 8'S, 2E, 4E)-dihydrophaseic acid-3'-O-β-D-glucopyranoside]^[6]和(±)原苏木素 B^[7-8]作为对照品,并参考文献^[9]建立超高效液相色谱法测定云实皮药材中这 2 种成分的含量,该方法可用于评价云实皮药材的质量。

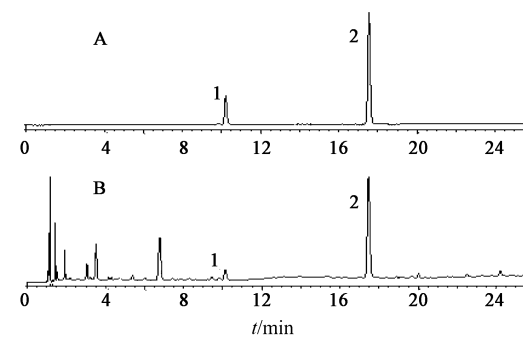
1 材料

超高效液相色谱系统(ACQUITY UPLC,美国沃特世公司,包括二元梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower 2 工作站),AE240 型 1/10 万电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),超纯水机(四川沃特科技发展有限公司)。

二氢红花菜豆酸苷,(±)原苏木素 B(本实验室自制,经 HPLC 检查,用峰面积归一化法计算,纯度 <98%);乙腈和甲酸为色谱纯,屈臣氏纯净水。实验用 32 批云实皮药材采收于贵州省,经贵阳医学院药用植物与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为豆科植物云实 *Caesalpinia decapetala* (Roxb.) Alston 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 柱(2.1 mm×150 mm,1.7 μm)色谱柱,流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸/水(B),梯度洗脱,(0~12 min,5% A;13~30 min,5%~14% A),流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 45℃;检测器为阵列二极管检测器(PDA),检测波长为 266 nm,进样 1 μL。二氢红花菜豆酸苷,(±)原苏木素 B 对照品溶液及云实皮药材提取液供试品溶液 UPLC 图,见图 1。



A. 混合对照品;B. 供试品;
1. 二氢红花菜豆酸苷;2. (±)原苏木素 B

图 1 云实皮供试品 UPLC

2.2 对照品溶液制备 分别精密称取二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 适量,用 50% 甲醇配置成质量浓度分别为 0.796 0,2.400 g·L⁻¹ 混合对照品储备液,备用。

2.3 供试品溶液制备 取云实皮药材粉末(过 40

目筛)约 2 g,精密称定,精密加入 70% 甲醇 25 mL,加热回流提取 2 h,放冷,用 70% 甲醇补足减失的质量,滤过,滤液置 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取上述混合对照品储备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液①。精密量取 5 mL 混合对照品储备液①,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液②,依次等比稀释,分别得系列混合对照品溶液③,④,⑤。再精密量取 1 mL 混合对照品溶液⑤,置 10 mL 量瓶,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液⑥。分别精密吸取各混合对照品溶液 1 μL,按拟定的色谱条件,注入液相色谱仪中,以峰面积(Y)为纵坐标,进样浓度(X)为横坐标,绘制工作曲线计算二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B,回归方程分别为 $Y = 6.00 \times 10^6 X - 2.96 \times 10^3$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 7.99 \times 10^6 X - 1.09 \times 10^4$ ($r = 0.999\ 9$),结果表明二氢红花菜豆酸苷在 0.497~79.6 mg·L⁻¹,(±)原苏木素 B 在 1.50~240 mg·L⁻¹ 有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取同一供试品溶液,按 2.1 项下的色谱条件,精密吸取供试品溶液 1 μL,连续进样 6 次,测定二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 0.7%,0.3%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号云实皮药材,精密称定 6 份,按 2.3 项下方法制备成供试品溶液,平行测定,计算二氢红花菜豆酸苷平均含量 0.128 8 mg·g⁻¹,RSD 0.9%;(±)原苏木素 B 平均含量 0.892 9 mg·g⁻¹,RSD 0.5%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,于室温下 0,2,4,6,8,12,24 h 进样,测定和(±)原苏木素 B 色谱峰峰面积,计算 RSD 分别为 1.1%,1.6%,表明样品在 24 h 稳定。

2.8 回收率试验 称取已测定含量(二氢红花菜豆酸苷为 0.128 8 mg·g⁻¹,(±)原苏木素 B 为 0.892 9 mg·g⁻¹)的云实皮药材 6 份,每份约 1 g,精密称定,分别加入精密加入二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 对照品适量,照 2.3 项方法制备供试品溶液,按 2.1 项色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

2.9 样品测定 取 32 批不同产地的云实皮药材粉末各 2 g,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析,对超过线性范围的样品,稀释

表 1 云实皮药材加样回收率试验(*n* = 6)

化合物	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
二氢红花菜豆酸苷	1.001 6	0.129 0	0.124 4	0.255 1	101.37	100.9	1.9
	1.000 8	0.128 9	0.124 4	0.251 3	98.39		
	1.002 3	0.129 1	0.124 4	0.256 9	102.73		
	1.008 5	0.129 9	0.124 4	0.256 8	102.01		
	1.001 6	0.129 0	0.124 4	0.251 7	98.63		
	1.008 5	0.129 9	0.124 4	0.256 9	102.09		
(±)原苏木素 B	1.001 6	0.894 3	0.850 0	1.742 6	99.80	99.89	1.8
	1.000 8	0.893 6	0.850 0	1.736 8	99.20		
	1.002 3	0.895 0	0.850 0	1.765 7	102.44		
	1.008 5	0.900 5	0.850 0	1.736 5	98.35		
	1.001 6	0.894 3	0.850 0	1.757 3	101.53		
	1.008 5	0.900 5	0.850 0	1.733 5	98.00		

后进样测定,测定结果见表 2。

表 2 32 批药材含量测定				mg·g ⁻¹
产地	批号	二氢红花 菜豆酸苷	(±)原苏 木素 B	总量
贵州贵阳	2011031501	0.128 8	0.892 9	1.021 7
贵州从江县	2011041501	0.064 2	0.232 3	0.296 5
贵州从江县	2011041502	0.121 7	0.175 1	0.296 8
贵州贵阳药用植物园	2011041503	0.096 4	0.042 9	0.139 3
贵州贵阳药用植物园	2011061201	0.071 8	0.031 8	0.103 6
贵州贵阳	2011062601	0.100 5	0.511 1	0.611 6
贵州关岭	2012010201	0.130 1	1.230 3	1.360 4
贵州镇宁	2012010202	0.182 1	0.493 3	0.675 4
贵州关岭	2012010203	0.195 2	0.962 6	1.157 8
贵州兴义	2012010204	0.127 1	3.417 5	3.544 6
贵州镇宁	2012010205	0.209 0	0.347 2	0.556 2
贵州关岭	2012010206	0.175 6	1.218 6	1.394 2
贵州贵阳	2012010207	0.102 7	0.502 5	0.605 2
贵州镇宁	2012010209	0.176 1	0.474 0	0.650 1
贵州从江县	2012010210	0.092 5	0.335 1	0.427 6
贵州从江县	2012010211	0.076 6	0.350 0	0.426 6
贵州贵阳	2012031101	0.097 6	0.330 3	0.427 9
贵关兴义	2012031102	0.140 7	1.577 1	1.717 8
贵州孟关	2012031103	0.098 1	0.811 6	0.909 7
贵州兴义	2012031104	0.100 2	1.696 5	1.796 7
贵州镇宁	2012031105	0.197 2	0.375 5	0.572 7
贵州镇宁	2012031106	0.091 6	0.564 5	0.656 1
贵州关岭	2012031107	0.174 2	2.053 8	2.228 0

续表 2

产地	批号	二氢红花 菜豆酸苷	(±)原苏 木素 B	总量
贵州贵阳	2012031108	0.049 9	0.488 6	0.538 5
贵州关岭	2012031109	0.149 5	1.703 1	1.852 6
贵州兴义	2012031110	0.066 6	1.899 1	1.965 7
贵州镇宁	2012031111	0.059 4	0.450 4	0.509 8
贵州兴义	2012031112	0.190 2	2.500 7	2.690 9
贵州关岭	2012031114	0.129 1	1.034 6	1.163 7
贵州贵阳	2011121001	0.094 2	0.651 5	0.745 7
贵州贵阳	2012040901	0.068 5	0.820 9	0.889 4
贵州贵阳	2012042601	0.097 4	1.645 8	1.743 2

3 讨论

样品溶液制备方法分别以甲醇(100% ,70% ,50% ,30%)、乙醇为溶剂,用索氏提取法、回流提取法和超声提取法进行提取,并对提取时间进行考察,结果 70% 甲醇回流提取 2 h 效率最高。

采用 PDA 在 190 ~ 400 nm 对待测成分进行紫外扫描,2 个化合物在 266 nm 处均有较大吸收。经试验研究,在 266 nm 进样测定,基线平稳,图谱分离较好,且峰形好,故选择 266 nm 作为检测波长。

本研究从云实药材的主产区贵州收集了 32 批药材,含量测定结果显示,32 批药材中均含有二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B,说明上述 2 种化学成分是云实皮药材的共有成分。本研究建立的含量测定方法简便、准确,可为云实药材的质量评价和控制提供依据。

近红外光谱法快速检测玉竹酒基提取液中多糖的含量

樊玲玲^{1,2}, 张雯雯^{1,2}, 丛晓东^{1,2*}, 蔡宝昌¹, 钱建华³, 方小民³, 彭美仙³
(1. 浙江中医药大学中药炮制技术研究中心, 杭州 310053;
2. 浙江省省级药学类工程实践教学基地, 杭州 310053;
3. 浙江致中和实业有限公司, 浙江 建德 311607)

〔摘要〕 目的:建立测定玉竹酒基提取液中多糖含量的近红外光谱(NIR)快速分析方法。方法:采用苯酚-硫酸法测定 73 批玉竹酒基提取液中多糖含量,采用傅里叶变换近红外透射光谱技术采集玉竹酒基多糖提取液的近红外光谱,结合偏最小二乘法(PLS)建立多糖的定量校正模型。结果:玉竹酒基提取液多糖校正模型校正集的相关系数(R)、内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为 0.970 3,0.771,经外部验证,预测值与实测值的相关系数为 0.969 2,预测均方差(RMSEP)为 0.624。结论:该方法快速方便、准确可靠,可用于玉竹酒基提取液多糖含量的快速测定。

〔关键词〕 在线近红外光谱; 定量分析; 多糖; 快速检测

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0080-04

〔doi〕 10.11653/syfy2013200080

Rapid Determination of the Polysaccharide Content in Polygonatum Wine Matrix Extract by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

FAN Ling-ling^{1,2}, ZHANG Wen-wen^{1,2}, CONG Xiao-dong^{1,2*}, CAI Bao-chang¹,
QIAN Jian-hua³, FANG Xiao-min³, PENG Mei-xian³
(1. Zhejiang Chinese Medical University, Research Center of Traditional Chinese Medicine Processing Technology, Hangzhou 310053, China;

〔收稿日期〕 20130506(025)
〔基金项目〕 卫生部科学研究基金项目(WKJ2010-2-019);浙江省中医药科学研究基金计划项目(2012ZB032)
〔第一作者〕 樊玲玲,硕士研究生,从事中药活性成分及质量标准研究,Tel:18268160694,E-mail:yichun2424@163.com
〔通讯作者〕 *丛晓东,硕士生导师,从事中药活性成分与新药创制研究,Tel:0571-87195886,E-mail:congxiaodong199@yahoo.cn

〔参考文献〕

[1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:75.

[2] 李新茂,贾正平,张承忠,等. 云实化学成分研究(II) [J]. 中草药,2004,35(7):741.

[3] 李新茂,张承忠,李冲,等. 云实化学成分研究(I) [J]. 中药材,2002,25(11):794.

[4] 张琼,刘雪婷,梁敬钰,等. 云实的化学成分[J]. 中国天然药物,2008,6(3):168.

[5] 欧阳晓伟. 三种药用植物化学成分研究[D]. 上海:中国科学院研究生院,2009.

[6] Ui Joung Youn, Jun Lee, Joo Won Nam, et al. Identification of a new isomer of dihydrophaseic acid 3'-

O-β-D-glucopyranoside from *Nelumbo nucifera* [J]. Bull Korean Chem Soc, 2011, 32(11):4083.

[7] Lin-chun Fu, Xin-an Huang, Zhen-yuan Lai, et al. A New 3-benzylchroman derivative from Sappan Lignum (*Caesalpinia sappan*) [J]. Molecules, 2008, 13(8):1923.

[8] 陈玉平,毕丹,屠鹏飞. 苏木的质量标准研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2068.

[9] 王爱民,鄢艳,郑林,等. UPLC 同时测定荭草花中 7 种指标成分的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(22):3141.

〔责任编辑 顾雪竹〕

• 80 •