

C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 结果供试品溶液在这 3 种色谱柱上均能得到很好的结果。柱温分别为 35 ℃和 45 ℃时, 供试品溶液均能得到很好的分离效果。

2.10 样品含量测定

取硫酸亚铁缓释片, 研细, 取细粉约 0.1 g(共 5 批), 精密称定, 置具塞玻璃离心管中, 按“2.2”项下方法制得供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 测定 DOP MRM 391→149 的峰面积, 按外标法计算样品中 DOP 浓度, 进一步换算为固体样品中 DOP 的含量(μg·g⁻¹), 结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果(n=3)

Tab 3 Determination results of samples(n=3)

批号	含量/μg·g ⁻¹	RSD/%
20101101	2.5	2.52
20110101	3.2	2.31
20100604	3.2	1.94
101118	2.8	2.43
110210	2.5	2.02

3 讨论

由于塑化剂广泛存在于塑料制品中, 因此配制样品时不能使用塑料制品, 而是全部采用玻璃

容器。流动相如果只用甲醇-水, DOP 的响应很低。改用 5%乙酸铵溶液后, 响应明显增高。

采用多反应监测模式, 显著提高了检测的灵敏度和专属性, 且样品处理操作简便、快速。美国 FDA 认为, DOP 可耐受的日摄入量为 600 μg·kg⁻¹。实验结果表明, 5 批硫酸亚铁缓释片中 DOP 的含量均很小, 按照说明书的要求使用, 摄入的 DOP 量对人体几乎无害。

REFERENCES

- [1] SONIA H, ALLEN A, KATHERINE E. Medications as a potential source of exposure to phthalate in U.S. population [J]. Environ Health Perspect, 2009, 117(2):185-189.
- [2] EVE M, RUSSELL C C, PAUL M D. Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to di(n-butyl)phthalate: an antiandrogenic mechanism [J]. Toxicol Sci, 1998, 43(1): 47-48
- [3] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 1198.
- [4] LIU H H, HUANG X Q, WANG H. Determination of phthalate acid esters in food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Prev Med(现代预防医学), 2008, 35(1): 119-121
- [5] XIONG M J, FEI X F, CHEN C. Determination of di(2-ethylhexyl) phthalate in PVC medicinal bags by LC-MS/MS [J]. West Chin J Pharm Sci(华西药学杂志), 2008, 23(1): 92-93.

收稿日期: 2011-12-18

HPLC 同时测定大血藤中红景天苷和绿原酸的含量

刘宇文, 殷红妹, 邹耀华(浙江省杭州市药品检验所中药室, 杭州 310017)

摘要: 目的 建立高效液相转换波长法, 同时测定大血藤中红景天苷和绿原酸的含量。方法 采用 Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 乙腈-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱; 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 检测波长 220, 325 nm。结果 红景天苷和绿原酸分别在 0.061 7~1.234 μg(r=0.999 7)和 0.030 2~0.605 μg(r=0.999 9)与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率(n=6)分别为 97.8%和 98.1%, RSD 分别为 1.9%和 1.7%。结论 该方法同时测定大血藤中的红景天苷和绿原酸的含量, 方法简单、准确度高、重复性好, 可为大血藤药材的质量控制提供参考。

关键词: 大血藤; 红景天苷; 绿原酸; 波长转换法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)10-0947-03

Simultaneous Determination of Salidroside and Chlorogenic Acid in *Sargentodoxa Cuneata* by HPLC

LIU Yuwen, YIN Hongmei, ZOU Yaohua(Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a wavelength conversion method for determination of salidroside and chlorogenic

作者简介: 刘宇文, 男, 硕士, 主管中药师

Tel: (0571)85463891

E-mail: liuyuwen01@126.com

acid in *Sargentodoxa cuneata*. **METHODS** The separation was performed on a Inertsil ODS-SP column(4.6 mm×250 mm, 5 μm). Acetonitril-0.1% H₃PO₄ was used as the mobile phase with gradient elution. The flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 220 nm and 325 nm. **RESULTS** The linear range was 0.061 7–1.234 μg(*r*=0.999 7) and 0.030 2–0.605 μg(*r*=0.999 9), respectively. The average recoveries(*n*=6) of salidroside and chlorogenic acid were 97.8% and 98.1%, respectively. **CONCLUSION** This method is simple, sensitive and it may be used for the quality control of *Sargentodoxa cuneata*. **KEY WORDS:** *Sargentodoxa cuneata*; salidroside; chlorogenic acid; wavelength conversion method

大血藤为木通科(Lardi zabalaceae)大血藤属(*Sargentodoxa* Rehd. et Wils.)落叶木质藤本大血藤 *Sargentodoxa cuneata* Rehd. et Wils. 的干燥藤茎根, 味苦性平, 归大肠、肝经。具有清热解毒、活血、祛风止痛之功效, 用于肠痈腹痛、热毒疮疡、经闭、痛经、跌扑肿痛等^[1]。药理研究证明, 其具有抗辐射、抗菌、抗炎、抗慢性过敏、抗癌及心血管系统等多种药理活性^[2]。

与药理活性相对应的, 大血藤亦含有多种有效成分, 本实验以红景天苷和绿原酸作为指标性成分, 采用高效液相转换波长法同时测定红景天苷和绿原酸含量, 为大血藤药材的质量标准的完善提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); XS105 分析天平(Mettler Toledo); Agilent 1260 Infinity 可变波长检测器(美国 Agilent 公司); KQ-600DV 台式数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DK-S24 恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); UE400 电子控温干燥箱(德国 Memmert)。

1.2 试剂

红景天苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110818-200103, 纯度: 100%); 绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200212, 纯度: 100%); 色谱纯乙腈(德国 Merck); 色谱纯甲醇(德国 Merck); 大血藤药材(市售), 经本所殷红妹副主任中药师鉴定为木通科植物大血藤(*Sargentodoxa cuneata* Rehd. et Wils.)的干燥藤茎根。其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 A(乙腈)-B(0.1%磷酸水溶液); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 0~15 min 为 220 nm, 15~30 min 为 325 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 30 ℃;

梯度洗脱: 0~30 min(7%→10%A)。在上述色谱条件下分析, 理论板数按红景天苷计不低于 4 000, 按绿原酸计不低于 5 000, 两种成分与共存的其他成分分离良好, 分离度均>1.5, 色谱图见图 1。

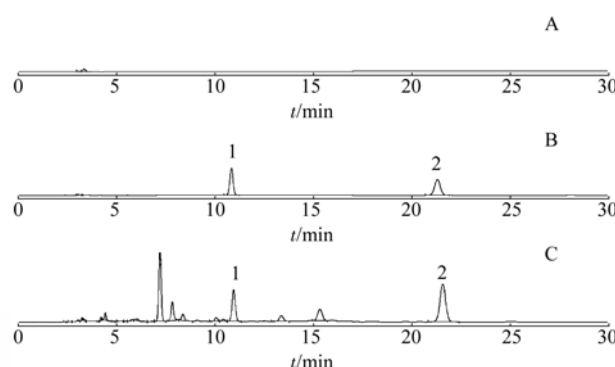


图 1 高效液相色谱图

A-空白溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-红景天苷; 2-绿原酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A-blank; B-standard solution; C-sample solution; 1-salidroside; 2-chlorogenic acid

2.2 对照品溶液的制备

精密称取红景天苷对照品 24.68 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀; 再精密称取绿原酸对照品 12.10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀; 再精密吸取上述对照品溶液各 5 mL, 置 20 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品混合溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取过三号筛大血藤药材粉末 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 100 mL, 称定重量, 超声 30 min, 放冷后补足重量, 过滤, 取续滤液置微型离心管中以 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL 的对照品混合溶液, 分别注入液相色谱仪中, 按“2.1”项下色谱条件测定色谱峰面积, 红景天苷和绿原酸的回归方程分别为 $Y=1\,423.8X+24.57$, $r=0.999\,7$; $Y=3\,138.3X-0.005\,4$, $r=0.999\,9$, 表明红景天苷在 0.061 7~1.234 μg, 绿原酸在 0.030 2~0.605 μg 呈良

好的线性关系。

2.5 仪器精密度试验

取同一批次大血藤供试品溶液，连续进样 6 次，进样量 10 μL ，结果红景天苷和绿原酸的 RSD 分别为 0.30%，0.15%，仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一批次大血藤供试品溶液，于 0，3，6，9，12，18，24 h 进行测定，进样量 10 μL ，结果红景天苷和绿原酸的 RSD 分别为 0.40%，0.77%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批次大血藤药材 6 份，每份 0.5 g，精密称定，按“2.3”项下方法制备，按“2.1”项下色谱条件测定，进样量 10 μL ，结果红景天苷和绿原酸的 RSD 分别为 1.07%，0.98%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取同一批次大血藤药材 6 份(编号 1)，每份 0.25 g，精密称定，分别精密加入适量红景天苷对照品和绿原酸对照品，按“2.3”项下方法制备，按“2.1”项下色谱条件测定，进样量 10 μL ，分别计算红景天苷和绿原酸的加样回收率，结果红景天苷及绿原酸平均回收率($n=6$)分别为 97.8%和 98.1%，RSD 分别为 1.9%和 1.7%，结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 The recovery rate of added samples

被测成分	取样量/ 原有量/		加入量/ 测得量/		回收率/ 平均值/		RSD/
	g	mg	mg	mg	%	%	
红景天苷	0.251 2	1.037	1.234	2.224	97.9		
	0.248 9	1.028	1.234	2.237	98.9		
	0.250 5	1.035	1.234	2.244	98.9	97.8	1.9
	0.247 9	1.024	1.234	2.127	94.2		
	0.251 7	1.040	1.234	2.246	98.8		
绿原酸	0.253 2	1.046	1.234	2.236	98.1		
	0.251 2	1.670	1.815	3.423	98.2		
	0.248 9	1.655	1.815	3.418	98.5		
	0.250 5	1.666	1.815	3.463	99.5	98.1	1.7
	0.247 9	1.649	1.815	3.415	98.6		
	0.251 7	1.674	1.815	3.304	94.7		
	0.253 2	1.684	1.815	3.460	98.9		

2.9 样品测定

取 3 批大血藤药材约 0.5 g，精密称定，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，分别精密吸取供试品溶液 10 μL ，进高效液相色谱仪测定，结果见表 2。

表 2 样品测定结果($n=3$)

Tab 2 Determination results of sample($n=3$)

编号	红景天苷		绿原酸	
	含量/%	RSD/%	含量/%	RSD/%
1	0.413	0.98	0.665	0.56
2	0.398	1.02	0.702	0.76
3	0.452	1.13	0.592	0.66

3 讨论

试验考察了甲醇、乙醇、水 3 种提取溶剂；超声、回流 2 种提取方法；15，30，45 min 等提取时间；最后确定以甲醇超声提取 30 min，提取操作简便，效率高，且杂质干扰小。

本试验考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液 4 种流动相系统，发现前两者绿原酸峰峰形不理想，且第 1 种系统基线不稳，而第 3 种系统分析时，因含盐系统对仪器损耗较大，且分离效果也不好，最后选择作为乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相系统。

目前中国药典 2010 年版大血藤项下尚无含量测定项，而大血藤中大黄素、酚酸类、红景天苷的含量测定方法文献^[3-5]已有报道，但尚未见采用高效液相转换波长法同时测定红景天苷和绿原酸的含量的相关文献。红景天苷在 220 nm 波长处有最大吸收，而绿原酸在 325 nm 波长处有最大吸收，且干扰少，所以笔者采用转换波长法建立了同时测定大血藤药材中红景天苷和绿原酸的 HPLC 测定方法，选择在 15 min 从波长 220 nm 转换波长为 325 nm，能保证红景天苷和绿原酸都能在各自最大吸收波长区域有稳定的紫外吸收，杂峰干扰也减少，且不影响两者的紫外检测。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版.一部) [S]. 2010: 176-177.

[2] NI S F, FU C X, WU P. Progress in medical studies of *Sargentodoxa cuneata* Rehd. et Wils [J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源), 2004, 23(4): 8-10.

[3] MA B Z, GAO Z P. Quantitative determination of emodin in the vine of *Sargentodoxa cuneata* by RP-HPLC [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2005, 28 (1): 57-59.

[4] DENG C,YAN Y G. Multi-index evaluation of extraction of phenolic compounds from *Sargentodoxa cuneata* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17 (13): 12-14.

[5] SHI L L,GUI S Y,ZHOU J F. Determination of salidroside in *Sargentodoxa cuneata* by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2011, 15(4): 441-442.

收稿日期: 2012-01-18