

流动相 异秦皮定易溶于甲醇,微溶于水,选择甲醇和甲醇:水分别为 99:1、98:2、97:3 4 种流动相。当甲醇:水为 97:3 时,能使异秦皮定与其它成分吸收峰很好分离(图 1)。

检测波长 使用 Shimadzu UN-210A 双光束紫外分光光度仪扫描异秦皮定在流动相中的紫外吸收(图 2)。



图 1 试样的 HPLC 分离图谱

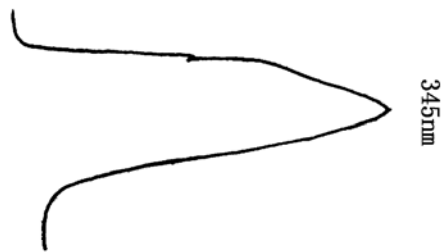


图 2 异秦皮定在流动相中的紫外吸收图谱

选用 345 nm 为检测波长。
色谱参数 在本实验条件下,流量 0.8 mL/min,保留时间为 3.92 min。在选用 1.5 mL/min 和 1.0 mL/min 流速时,保留时间相应缩短,试样谱图中异秦皮定吸收峰和其它成分吸收峰不能很好分离。

试样中异秦皮定吸收峰的确证 改变流动相溶剂系统,异秦皮定的吸收峰与标准品的吸收峰保留时间一致。同时在试样溶液中加入标准品溶液,加标准溶液后峰高增加,平均加标回收率为 96%。

1.3 试样测定

称取刺五加浸膏 0.20 g 左右(精确到小数点后 2 位),加入甲醇使其溶解,振摇 5 min 后定容于 10 mL 容量瓶中,过滤,贮于磨塞管中备用。

准确吸取试样溶液 2 μL,注入色谱仪中,测得峰面积值,按外标法计算含量,结果见表 1。

表 1 试样含量测定结果

试样	测量值 % (n=3)	s
9701	0.45	0.016
9708	0.46	0.013

2 结果与讨论

2.1 线性关系试验

精密吸取异秦皮定标准品,用甲醇配成每毫升约含 0.1 mg 的溶液。准确吸取该溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL 注入色谱仪中,测得峰面积为 10 934.10, 23 916.20, 44 478.80, 67 095.70, 86 556.50, 107 459.00, 线性回归 $y = 1\,759.10 + 106\,414.74x$, $r = 0.999$, 异秦皮定浓度在 0.12~1.20 μg 范围内呈良好线性。

2.2 精密度试验

精密吸取标准品溶液 2.0 μL,进样 5 次,得峰面积值为 23 907.30, 22 423.50, 24 416.90, 22 465.40, 22 243.10, 计算 RSD 为 4.30%。

2.3 回收率实验

称取试样浸膏 5 份,分别加标准溶液 0.129 75 mL,按试样测定方法处理,分别注入色谱仪 2 μL,测得峰面积值,结果表明回收率为 92.48%~103.28(表 2)。

表 2 回收率试验结果 mg

对照品加入量	回收量	回收率 %
0.12975	0.1210	93.25
0.12975	0.1200	92.48
0.12975	0.1200	92.48
0.12975	0.1340	103.28
0.12975	0.1280	98.65

由上表计算得出平均回收率为 96.03%。

2.4 讨论

本实验试样测定过程中,必须使甲醇充分溶解试样浸膏,否则会使试样测定结果偏低。

本实验条件易于控制,也可为其它刺五加制剂中异秦皮定的测定提供参考。

3 参考文献

1 傅克治,等.中国刺五加古今本草几个问题的探讨.哈尔滨:黑龙江省科技出版社,1981,5~12
2 曹先兰,等.刺五加国外实验研究.中草药,1980,11(6):277~283
3 许正斌,等.刺五加各部位有效成分的含量测定.中草药,1984,15(5):32~34
4 田明,等.高效液相色谱法测定刺五加注射液中异秦皮定含量.黑龙江医药,1997,10(1):25~26

3 讨论

我国传统医学中有许多药食兼用的中草药被认为具有润肺功能,其中某些配方已有很长的应用历史,其润肺功能亦被广泛认可,由于在动物实验中很难找到一个能较准确反映润肺功能的指标,因此评价润肺作用时一般只进行免疫调节功能的检测,缺乏特异性。而肺巨噬细胞是参与肺内非特异性免疫的重要细胞,其吞噬功能的高低可在一定程度上反映肺的免疫水平。早在七十年代末,Holt 等人就建立了通过支气管肺泡灌洗术获得肺巨噬细胞的方法,^[1]此法具有操作简便,不需昂贵仪器及试剂等优点,近几十年来在国内外被广泛应用。

秋梨膏是一种有百年历史的传统中药制品,其药用成分是具有清热宣肺、祛痰止咳、利咽润喉等功能的中草药,加上秋梨汁等食品成分蜜炼成膏,在长期的应用中被认为有较好的润肺功能。我们用该试样比较了其对大鼠肺巨噬细胞及小鼠腹腔巨噬细胞的影响,结果显示虽然低、中剂量组小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能略高于对照组,但只有当剂量达到 15 000 mg/kg BW 时,才出现具有统计学意义的升高,且剂量一效应关系不明显;而肺巨噬细胞吞噬功能与对照组相比,低剂量组(500 mg/kg BW)即出现具统计学

意义的升高,且其吞噬功能随秋梨膏剂量的增加而增加,低、中、高三个剂量组肺巨噬细胞吞噬功能与对照组相比分别升高 1.53 2.18 4.13 倍,存在一定的剂量一效应关系。提示对于某种特异性调节肺部免疫功能的保健食品的评价,肺巨噬细胞吞噬功能是一项比较敏感的指标,我们认为可以作为免疫调节功能的补充指标。

值得注意的是,肺巨噬细胞吞噬功能随动物年龄而有很大差异,我们在预实验中发现,8~10 月龄老龄大鼠的肺巨噬细胞吞噬功能明显低于 4~5 月龄的成年大鼠(数据未列出),故选用老龄大鼠作为肺巨噬细胞吞噬功能低下的动物模型进行实验,可以提高本法的灵敏度。另外,动物的自发感染、规范化手术操作及统一的镜下观察判断标准都对实验结果的准确性有很大影响,因此本方法的质量控制至关重要。

4 参考文献

- 1 Holt P G. J Immun Methods, 1979, 27: 189
- 2 费丽华,等.肺巨噬细胞的生物特性及其辐射效应的研究(一)资料汇编:1987,1,27
- 3 卫生部监督司.保健食品功能学评价程序和检验方法.1996,27

高效液相色谱法定量测定刺五加浸膏中异秦皮定

赵秀娟¹ 汪鸾鸣² 张牧³ 张宇秋¹ 崔洪斌¹

刺五加(*Acanthopanax senticosus*)属人参科植物,具有益气健脾、补肾安神等功效。^[1]国外实验研究发现刺五加药理作用是极其广泛的。^[2]近年来,许多食品科学工作者已将其应用于保健食品的研制、开发上,如刺五加袋泡茶、冲剂等等。刺五加中的主要功效成分为异秦皮定(isofraxidin),因此刺五加保健食品中异秦皮定的含量是衡量该食品质量的重要标志。测定刺五加中异秦皮定的方法有薄层层析法、^[3]高效液相色谱法。^[4]前者采用柱层析和薄层层析分离后,刮下色斑进行比色测定,操作复杂;后者实验中所用流动相异氰氢甲烷在国内很难购买,限制了该测定方

法的应用。本方法选用 HPLC 中常用的甲醇—水为流动相,选择适宜的比例,使试样中异秦皮定的吸收峰与其它成分吸收峰得到了很好分离。操作简便,结果准确、可靠,易于推广使用。

1 材料与方法

1.1 材料

异秦皮定 日本和光纯药工业株式会社提供。
甲醇(色谱纯) 上海普侨化工技术研究所提供。
甲醇(分析纯) 北京化工厂产品。
刺五加浸膏 哈尔滨横仓药业海林中药厂提供。

1.2 HPLC 色谱条件及测定方法

仪器 高效液相色谱仪(Water 公司产品) 附带多波长紫外检测器(Shimadzu SPD-2A),色谱柱为 ODS-120T C18 不锈钢柱(200mm×5mm)。

1 哈尔滨医科大学公共卫生学院 (150086)
2 黑龙江省食品卫生监督检验所 (150030)
3 哈尔滨市南岗区卫生防疫站 (150080)