

象,但同时必须考虑到酸性增强对分析柱损坏也增加。通过对文献资料中记载的多个流动相^[2,3]的比较,本实验采用 0.1% 乙酸即可使甘草酸峰得到较好分离。

3.3 甘草酸具有酸性,在煎煮过程中可以和处方中的生物碱反应成盐,实验结果显示合煎液甘草酸含量高于分煎液,是由于合煎液中多种药材成分产生

的助溶作用引起的,还是由于单味中药浓缩颗粒在制备过程中提取不完全等因素引起的,还有待研究。

参考文献:

- [1] 北京中医医院,北京市中医学校编.实用中医学[M].上册.北京:人民出版社,1975.
- [2] 吕归宝,刘军.高效液相色谱法测定甘草及其制剂中甘草酸的含量[J].药物分析杂志,1998,8(3): 137-139.
- [3] 荣志芬,张慰青,胡文洁,等.复方止咳冲剂中甘草酸和绿原酸的高效液相色谱法测定[J].中草药,1995,26(4): 181-182.

RP-HPLC法测定显齿蛇葡萄中杨梅素的含量

张友胜,杨伟丽,龚雨顺

(湖南农业大学食品科技学院,湖南长沙 410128)

摘要:目的 测定显齿蛇葡萄中杨梅素的含量。方法 采用 RP-HPLC法测定,色谱柱为 Nova-Pak C₁₈不锈钢柱,检测波长为 254 nm,用甲醇-水=40:60为流动相。结果 方法的变异系数为 2.763%,平均回收率为 97.4%,最低检测量为 15 ng。湖南显齿蛇葡萄植物中不同部位的杨梅素含量为 1.57%~2.17%。结论 方法简单、快速、精确,可作为显齿蛇葡萄植物质量检测方法之一。

关键词: RP-HPLC法;显齿蛇葡萄;杨梅素

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)11-0983-02

Determination of dihydromyricetin in *Ampelopsis grossedentata* by RP-HPLC

ZHANG You-sheng, YANG Wei-li, GONG Yu-shun

(College of Food and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan 410128, China)

Abstract **Object** To establish a method for the assay of myricetin in *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W. T. Wang. **Methods** The determination was carried out with RP-HPLC on Nova-pak C₁₈ stainless steel column (150 mm×3.9 mm) with methanol: water (40:60) as the mobile phase, and detected at a UV wave length of 254 nm. **Results** The coefficient of variation was 2.763% with average recoveries=97.4%. The minimal detectable limit was 15 ng. Contents of myricetin in different parts of *A. grossedentata* from Hunan Province varied from 1.57% to 2.17%. **Conclusion** The method is rapid, simple, accurate and good for the determination of myricetin in *A. grossedentata*.

Key words RP-HPLC; *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W. T. Wang; myricetin

显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Hand. Mazz.) W. T. Wang 是葡萄科蛇葡萄属的一种野生藤本植物,亦称“茅岩莓茶”、“藤茶”、“甘露茶”等^[1,2];全株药用,味甘、淡、性凉,具有清热解毒、祛风湿、强筋骨等功效,民间将其嫩茎叶制成保健茶,用于治疗感冒发热、咽喉肿痛、黄疸型肝炎、疱疹等症^[3,4]。目前对显齿蛇葡萄作为药材的质量控制标准尚未标准化,仍依赖于比较传统的识别方法^[5],因此,作者用 RP-HPLC法对显齿蛇葡萄植物不同部位杨梅素的含量进行了测定,提供了对显齿蛇葡萄

进行质量控制的依据和方法

1 实验部分

1.1 仪器与试剂材料: System Gold系列高效液相色谱(Beckman公司,美国);水:三重蒸馏水;甲醇、乙腈:色谱纯;杨梅素对照品自制,经核磁共振测定其纯度>99.5%;显齿蛇葡萄由湖南江华县林科所、张家界市永定区科委提供,经作者按文献^[1,2]鉴定。

1.2 操作条件:检测波长:UV-254 nm;色谱柱: Nova-Pak C₁₈不锈钢柱(3.9 mm×150 mm);流动相:甲醇-水(40:60,用磷酸调 pH);流速:

1. 0 mL/min;进样量: 10 μ L;柱温: 30 $^{\circ}$ C。
 1. 3 标准溶液的配制: 准确称取杨梅素对照品 10 mg(准确至 0. 01 mg)于 10 mL容量瓶中,用流动相定容至 50 mL,充分摇匀备用。

1. 4 样品溶液的配制

1. 4. 1 样品前处理: 取一定量的显齿蛇葡萄植物样品放在 105 $^{\circ}$ C的烘箱中,烘 20 min后,转入 70 $^{\circ}$ C下烘 24 h(同时测定水分),取出置于干燥器内冷却,用高速粉碎机粉碎,过 60目筛装于棕色广口瓶中,置干燥器中贮藏。

1. 4. 2 样品溶液制备: 精确称取一定量的样品,置索氏提取器中,用石油醚适量加热回流 2 h,脱脂后的样品,加适量醇加热回流,提取 4 h趁热过滤,定容至 50 mL。

1. 5 测定: 标准曲线的制作: 精密配制杨梅素标准甲醇溶液,用 HPLC流动相稀释成一定的浓度梯度(μ g/mL),经色谱测定,以峰面积(Y)与杨梅素浓度(X)做标准曲线,求得回归方程为 $Y = -1.7866 + 0.1432X$, $r = 0.99875$ 。按上述色谱条件,待仪器稳定后分别对标准溶液和样品溶液进行测定。若样品溶液有微量不溶物,可静置,离心后,取上清液进样。

2 结果

2. 1 条件的选择: 杨梅素的甲醇液紫外图谱表明,在 254 nm处有最大吸收且干扰较少,因此选择测定波长为 254 nm。色谱柱的选用,在相同流动相下对比了 C_{18} 和 C_8 柱,发现前者的对称性及拖尾情况比后者好。在色谱柱均为 C_{18} 柱情况下,对比了甲醇-水系统与乙腈-水系统,两者均能较好的检测杨梅素,选择甲醇-水系统作为流动相。流动相中加入适量的磷酸缓冲液,可使色谱峰对称,不拖尾。经过对流动相极性、流速作反复摸索,确定上述色谱操作条件为杨梅素检测的最佳条件。

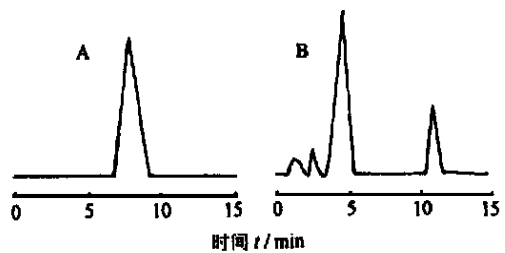
2. 2 精密测定: 精密吸取标准溶液 10 μ L,连续进样 5次,结果 RSD 为 2.763%。

2. 3 添加回收试验: 精密称取 1 g显齿蛇葡萄不同部位的样品,分别加入适量杨梅素对照品,按样品溶液制备方法脱脂、回流、过滤、定容,然后测定其含量,计算回收率,结果平均回收率为 97.4%, $RSD = 3.53\%$ ($n = 5$)。

2. 4 最低检出量测定: 降低待测物浓度,使样品峰高为机器噪声高度的 2倍,进样为 10 μ L,计算出最

低检测限为: 15 ng

2. 5 分析图谱: 由图 1可看出,杨梅素得到了良好的分离,干扰物质少。



A-杨梅素对照品 B-显齿蛇葡萄样品

图 1 样品 HPLC图

2. 6 生药样品测定: 精密称取各样品 1 g,按样品溶液制备办法,测定杨梅素峰面积,按回归方程计算其含量,结果如表 1。

表 1 样品测定结果

样品	植物部位	采样地点和时间	含量 (mg/g)
1	叶	张家界, 1999-04	18.7
2	叶	张家界, 1999-07	21.7
3	茎、叶	张家界, 1999-04	15.3
4	茎	江华, 1998-05	15.7
5	叶	江华, 1998-05	18.7
	茎、叶	江华, 1998-05	15.7

3 讨论

3. 1 检测样品时,色谱柱温高低对分离速度影响较大,以 30 $^{\circ}$ C为宜。

3. 2 不同时间不同产地采集的同类样品成分类似,但含量有异。文献报道和本项目组的研究证实,湖南显齿蛇葡萄(江华、张家界)植物药用成分中总黄酮含量大于 40%,其中主要由二氢杨梅素和杨梅素组成,二氢杨梅素含量接近或超过 30%(二氢杨梅素的检测方法另文报道),杨梅素含量在 2%左右^[6,7]。因此,重视和加强显齿蛇葡萄植物的研究和开发工作,具有很大的社会和经济意义。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(二册)补编[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] 王文采. 葡萄科的新发现[J]. 植物分类学报, 1979, 17(3): 110-112.
- [3] 广西植物研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁: 广西民族出版社, 1974.
- [4] 刘建新, 周天达. 藤茶的生物学研究[J]. 中草药, 1999, 30(6): 459-463.
- [5] 周天达, 周雪仙. 藤茶中双氢黄酮醇的分离、结构鉴定及其药理活性[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(8): 458-461.
- [6] 何桂霞. 显齿蛇葡萄中总黄酮和二氢杨梅素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 423-425.
- [7] 何桂霞, 裴刚, 冯映冰, 等. 薄层扫描法测定藤茶中杨梅素的含量[J]. 湖南中医学院学报, 1999, 19(3): 18-19.