

RP-HPLC 法测定山楂叶中牡荆素鼠李糖苷 及牡荆素葡萄糖苷的含量

龚青¹, 张叶萍², 祝明

(1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 浙江大学附属妇女保健院, 浙江 杭州 310014)

山楂叶为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bunge var. *major* N. E. Br. 或山楂 *C. pinnatifida* Bunge 的干燥叶, 具有调血脂、降血压的功效。山楂叶主要含有黄酮类化合物(槲皮素、金丝桃苷、牡荆素、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷)、有机酸类化合物及一些微量元素。其中黄酮类化合物具有调血脂、防止动脉硬化、增加冠脉流量、抗心肌缺氧及心律失常等活性。本实验采用 RP-HPLC 法测定山楂叶中牡荆素葡萄糖苷及牡荆素鼠李糖苷的含量, 操作简便, 测定灵敏度、准确度均较好, 可作为山楂叶的质量控制指标。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(自动进样分析), UV-260 岛津紫外分光光度仪。牡荆素鼠李糖苷(SZ-1)、牡荆素葡萄糖苷(SZ-2)由浙江天一堂药业有限公司提供(纯度 99.9%)。四氢呋喃、甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余为分析纯。山楂叶来源见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Agilent extend C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.5%冰醋酸溶液(10.3:1:0.7:88); 检测波长: 340 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30℃。在此条件下供试品中 SZ-1、SZ-2 成分能与其他成分达到较好分离(图 1)。

2.2 供试品溶液的制备: 取本品, 粉碎成细粉, 取粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 离心, 即得供试品溶液。

2.3 标准曲线的制备: 精密称取五氧化二磷减压干燥 24 h 的 SZ-1、SZ-2 对照品适量, 分别加 50% 甲醇制成 38.888、10.424 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。精密吸取不同量对照品溶液进样, 按上述色谱条件测

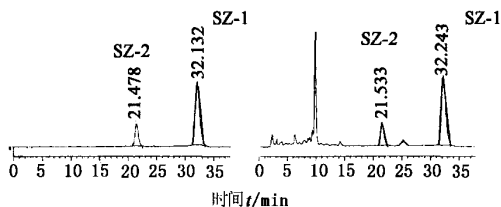


图 1 SZ-1、SZ-2 对照品(A)和山楂叶样品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of SZ-1, SZ-2 reference substances (A) and sample of *Folium Crataegi* (B)

定峰面积, 以进样量对峰面积进行线性回归, 分别求得 SZ-1 回归方程: $Y = 1\,854.9X - 51.364$, $r = 0.9999$; SZ-2 回归方程: $Y = 1\,819.5074X - 15.627555$, $r = 0.9999$ 。线性范围分别为 SZ-1: 0.038 888~3.888 8 μg; SZ-2: 0.010 424~1.042 4 μg。

2.4 精密度试验: 取同一供试品溶液(产于山东平邑), 重复进样 5 次, 测定峰面积。结果 SZ-1 峰面积 RSD 为 1.62% ($n=6$); SZ-2 峰面积 RSD 为 1.97% ($n=6$)。

2.5 稳定性试验: 取同一供试品溶液(产于山东平邑), 间隔一定时间进样, 依法测定峰面积。结果 SZ-1 峰面积 RSD 为 1.62% ($n=6$); SZ-2 峰面积 RSD 为 1.97% ($n=6$)。结果供试品溶液在 39 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 取同一批号样品 6 份(产于山东平邑), 分别按供试品溶液制备方法操作, 进样, 分别测定 SZ-1、SZ-2 峰面积。结果 SZ-1 峰面积 RSD 为 0.88% ($n=6$); SZ-2 峰面积 RSD 为 0.24% ($n=6$)。

2.7 加样回收率试验: 精密称取已知含量的样品 0.25 g 各 9 份, 精密加入一定量的 SZ-1、SZ-2 对照品, 按供试品溶液制备方法进行测定并计算回收率, 结果 SZ-1 平均回收率为 99.6%, RSD=2.05% ($n=9$); SZ-2 平均回收率为 99.4%, RSD=2.16% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 精密称取山楂叶样品 10 批, 制备供试品溶液, 进样, 测定, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n=2$)Table 1 Determination of samples ($n=2$)

样品来源	SZ-1/%	RSD/%	SZ-2/%	RSD/%
山东平邑	0.511 3	0.19	0.140 6	0.53
山西晋城	0.912 2	0.33	0.458 7	0.48
安徽亳州	0.427 2	2.22	0.127 8	2.20
本所科室留存	0.551 0	0.74	0.154 9	0.68
山东淄博(落叶)	0.041 8	0.67	0.025 8	1.55
山东淄博	0.565 8	2.33	0.145 3	2.12
山西晋城	0.871 4	0.68	0.454 5	0.66
山西晋城	0.895 3	0.10	0.480 9	0.60
太极集团	0.339 7	0.94	0.214 9	1.01
太极集团	0.457 9	1.30	0.274 4	1.41
太极集团	1.322 7	0.79	0.453 6	1.07

3 讨论

3.1 检测波长的选择:取 SZ-1、SZ-2 对照品溶液,在 190~500 nm 扫描,结果在 (340 ± 2) nm 处有最大吸收,故检测波长确定为 340 nm。

3.2 流动相的选择:在上述色谱条件下,本实验分别选择了不同流动相比比例的四氢呋喃-甲醇-乙腈-水、四氢呋喃-甲醇-乙腈-酸水进行试验。结果证明流动相选择四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.5%冰醋酸溶液(10.3:1:0.7:88),SZ-1、SZ-2 与杂质分离效果最好。

3.3 该方法灵敏、准确可靠,故可有效控制药材质量。从测定结果可见,山东淄博(落叶)的含量远远低于其他来源的药材的含量。

HPLC 法测定不同产地蜘蛛香中橙皮苷的含量

石晋丽,刘 勇,肖培根

(北京中医药大学中药学院,北京 100101)

蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 为败酱科繹草属植物,其根和根茎入药,具有理气和中、散寒除湿、活血消肿的功效,用于治疗脘腹胀痛、呕吐泄泻、小儿疳积、风寒湿痹、脚气水肿、月经不调、跌打损伤、疮疖等症。近年来的药理学研究表明,蜘蛛香不仅有很好的镇静催眠作用,其水煎剂对革兰氏阳性菌及轮状、非轮状病毒肠炎都具有较好疗效。橙皮苷(hesperidin)是蜘蛛香的主要成分之一,含量高,稳定性好。据报道,橙皮苷也具有镇静和催眠作用,是新发现的作用于中枢神经系统的黄酮类化合物^[1]。为控制蜘蛛香药材品质,对不同产地蜘蛛香中橙皮苷进行了 HPLC 法含量测定。

1 仪器与试剂

HP1050 型高效液相色谱仪,含四元泵,二极管阵列检测器。橙皮苷自制,经 UV,IR,¹H-NMR,¹³C-NMR 等鉴定结构,纯度大于 99.5% (归一化法计算)。乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);水为娃哈哈纯净水,并经 0.45 μ m 水系滤膜滤过;自制 0.1 mol/L 磷酸水溶液。7 个蜘蛛香药材样品的购入及采集地点和时间见表 1,经笔者鉴定为蜘蛛香 *V. jatamansi* Jones 的根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Merck 公司 50943

LiChroCart 125-4 with Lichrospher 100 RP-18 (12.5 cm $\times$ 8 mm, 5 μ m) 分析柱及 LiChroCART 4-4 with Lichrospher 100RP-18 (1 cm $\times$ 8 mm, 5 μ m) 预备柱。流动相为乙腈-水 (15:85),乙腈和水每 100 mL 分别加 0.1 mol/L 的磷酸 1 mL;体积流量:0.95 mL/min;检测波长 280 nm。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的橙皮苷对照品 5 mg,加甲醇溶解并定容至 25 mL,作为对照品溶液。

2.3 标准曲线的制作:精密称取干燥至恒重的橙皮苷对照品 5 mg,加甲醇溶解并定容至 25 mL,作为对照品溶液。分别以 1、5、10、15、20、25 μ L 进样测定,以橙皮苷的峰面积积分值为纵坐标,橙皮苷对照品的量为横坐标,绘制标准曲线,得一不通过原点的直线,其回归方程为: $Y=3\ 245.3\ X-445.79$, $r=0.999\ 8$ 。橙皮苷在 0.2~5 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 稳定性试验:在室温条件下,精密吸取安国购蜘蛛香样品溶液在 1、2、3、4、12、24 h 进样测定,RSD 为 1.68%,说明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 精密度试验:取 0.2 mg/mL 的橙皮苷对照品溶液连续 5 次进样,峰面积 RSD 为 2.14%。

2.6 重现性试验:取河北安国购蜘蛛香样品进行 5