

HPLC 法同时测定野马追中 金丝桃苷、槲皮素和山柰素

靳晓秋¹, 陈黎^{2*}

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212001; 2. 江苏省镇江药品检验所, 江苏 镇江 212003)

摘要:目的 建立江苏道地药材野马追中 金丝桃苷、槲皮素和山柰素的定量测定方法。方法 采用 Aligent Eclipse XDB—C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-甲醇 (10:1)-0.5% 磷酸溶液为流动相, 进行梯度洗脱分离, 检测波长为 370 nm。结果 金丝桃苷、槲皮素和山柰素在选定质量浓度范围内, 线性关系良好, 平均回收率分别为 97.01%, 96.56%, 96.84%, RSD 分别为 1.2%, 1.1%, 1.2%。结论 该方法快速简便, 重现性好, 可以作为野马追中黄酮成分的测定方法, 更全面地控制野马追药材的质量。

关键词:野马追; 黄酮类成分; 高效液相色谱法; 质量评价

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1254-02

野马追为菊科泽兰属植物轮叶泽兰 *Eupatorium lindleyanum* DC. 的干燥地上部分, 味苦, 性平, 有清肺止咳, 化痰平喘, 降血压之功效。野马追含有黄酮、生物碱、挥发油和香豆素等活性成分, 为综合评价野马追药材的质量, 本实验建立了高效液相色谱法同时检测野马追中 3 种主要黄酮类成分 金丝桃苷、槲皮素和山柰素的定量分析方法, 从而达到更全面地对药材质量控制^[1,2]。

1 仪器、试剂和材料

1.1 仪器: Sartorius BP211D 型电子天平, Agilent 1100 高效液相色谱仪, KQ—250DB 超声波清洗器。

1.2 试剂: 槲皮素、山柰素、金丝桃苷对照品 (中国药品生物制品检定所 100081-200406, 0861-200304, 1521-200303), 甲醇和乙腈 (色谱纯), 纯化水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 材料: 野马追药材产地分别为盱眙、镇江、安徽, 经江苏省镇江药品检验所陈黎主任药师鉴定为菊科植物轮叶泽兰 *Eupatorium lindleyanum* DC. 的干燥地上部分。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Aligent Eclipse XDB—C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 0.5% 磷酸溶液为流动相 A, 乙腈-甲醇 (10:1) 为流动相 B, 洗脱程序为 0~20 min, A 由 75%→72%; 20~25 min, A 72%→65%; 25~30 min, A 65%→50%; 30~35 min, A 50%→75%; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 370 nm; 理论塔板数按槲皮素计算应不低于 3 000, 色谱图见图 1。

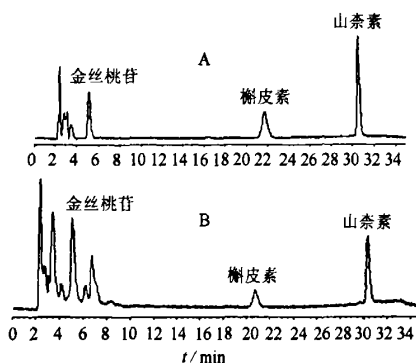


图1 对照品 (A) 和野马追药材 (B) 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatogram of reference substances (A) and *Herba Eupatorii Lindleyani* (B)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取 金丝桃苷、槲皮素和山柰素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.109 0、0.108 9、0.109 2 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取野马追药材粉末 (过 3 号筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入 80% 甲醇 50 mL, 水浴回流 1 h, 取出放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇溶液并转移至 50 mL 量瓶中定容, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 0.5、1、2、2.5、3 mL 于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释到刻度, 摇匀, 各进样 30 μL, 测定。以质量浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 进行线性回归处理, 得回归方程: 金丝桃苷 $A = 5.16 \times 10^4 C + 2.06 \times 10^4$, $r = 0.999 3$; 槲皮素 $A = 1.12 \times 10^5 C - 3.61 \times$

收稿日期: 2007-12-24

作者简介: 靳晓秋 (1982—), 女, 江苏大学药学院 2005 级药学研究生, 研究方向为中药质量控制。

Tel: 13952925910 E-mail: zj_jxq@yahoo.com.cn

* 通讯作者 陈黎 Tel: 13511699128

10^5 , $r=0.998\ 9$; 山柰素 $A=1.19\times 10^5 C-3.52\times 10^4$, $r=0.999\ 1$; 金丝桃苷、槲皮素和山柰素的线性范围分别为 $0.065\ 4\sim 0.392\ 4\ \mu\text{g}$, $0.065\ 34\sim 0.392\ 04\ \mu\text{g}$, $0.065\ 52\sim 0.393\ 12\ \mu\text{g}$ 。

2.5 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 $30\ \mu\text{L}$,连续进样5次,测定峰面积,计算得金丝桃苷、槲皮素和山柰素峰面积的 RSD 分别为 1.4% 、 0.8% 、 1.3% ,表明精密度良好。

2.6 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 $30\ \mu\text{L}$,分别于 0 、 1 、 2 、 4 、 8 、 $12\ \text{h}$ 进样,测定峰面积,计算得3种成分的 RSD 分别为 1.3% 、 0.9% 、 1.5% ,表明样品在 $12\ \text{h}$ 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一产地药材粉末(盱眙)样品5份,按2.3项下方法制成供试品溶液,测定,金丝桃苷、槲皮素和山柰素平均质量分数分别为 0.662 、 0.191 、 $0.259\ \text{mg/g}$, RSD 分别为 1.2% 、 1.4% 、 1.1% 。

2.8 加样回收试验:取药材粉末约 $0.5\ \text{g}$,精密称定6份,分别精密加入金丝桃苷、槲皮素和山柰素对照品高、中、低3个质量浓度,按2.3项下方法制成供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果金丝桃苷平均回收率 97.01% , RSD 为 1.2% ($n=6$); 槲皮素平均回收率 96.61% , RSD 为 1.1% ($n=6$); 山柰素平均回收率 96.77% , RSD 为 0.8% ($n=6$)。

2.9 样品测定:取不同产地的野马追药材,按2.3项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算药材中金丝桃苷、槲皮素和山柰素的平均质量分数,结果见表1。

3 讨论

3.1 流动相的选择:本实验曾经选用甲醇- 0.5% 磷酸水溶液、甲醇- 1% 冰醋酸溶液、乙腈-甲醇- 0.5% 磷酸水溶液等体系进行等度和梯度洗脱,结

表1 样品测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of flavonoids in *Herba*

Eupatorii Lindleyani ($n=3$)

产地	金丝桃苷/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	槲皮素/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	山柰素/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
安徽	1.066 0	0.302 9	0.429 4
盱眙	0.686 4	0.192 3	0.258 4
镇江	0.512 8	0.164 2	0.211 8

果表明采用等度洗脱,色谱峰分离度达不到要求,选择乙腈-甲醇- 0.5% 磷酸水溶液梯度洗脱,得到的色谱峰形较好,且较稳定。为确保下次分析时色谱峰的峰形及分离度,每次运行梯度后,柱平衡至少需要 $5\ \text{min}$ ^[3]。

3.2 检测波长的选择:经二极管阵列检测器检测,在上述色谱条件下于波长 $200\sim 400\ \text{nm}$ 绘出三维图谱。从三维图谱中可以看出在 $370\ \text{nm}$ 波长检测时,其 HPLC 色谱响应较大,同时各色谱峰分离度较好,且基线平稳,故确定波长 $370\ \text{nm}$ 为检测波长。

3.3 研究过程中曾采用盐酸水解法测定了野马追中的槲皮素和山柰素的量,方法较繁琐;本实验所建立的 HPLC-DAD 法,简便快速、分离度好、测定结果可靠,能同时测定黄酮类化合物中金丝桃苷、槲皮素和山柰素的量,为野马追药材的品质鉴别以及黄酮类化合物产品的质量控制等提供依据。野马追为江苏省道地药材,为提高野马追及其制剂质量,在本研究工作之上将通过对野马追药材的指纹图谱研究进一步达到全面控制药材质量的目的,实施地道野马追药材的规范化管理种植。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 二部. 2005.
- [2] 钱士辉,杨念云,段金康. 野马追中黄酮类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 50-52.
- [3] 许乾丽,熊慧林,茅向军. 野产3种金丝桃属植物药中金丝桃苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(6): 414-416.

RP-HPLC 法测定东北地区不同产地满山红中齐墩果酸与熊果酸

梁泰刚,梁 婷,赵承孝,李青山*

(山西医科大学药学院,山西 太原 030001)

摘 要:目的 建立同时测定满山红中齐墩果酸和熊果酸的高效液相色谱方法。方法 采用 Hypersil C₁₈ 色谱柱 ($250\ \text{mm}\times 4.6\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$),以 $0.03\ \text{mol/L}$ 磷酸盐缓冲液 ($\text{pH}=3.0$, 含 $6\ \text{mmol/L}$ 的 β -环糊精)-甲醇 ($13:87$) 为流动相,体积流量 $1.0\ \text{mL/min}$;检测波长 $210\ \text{nm}$ 。结果 齐墩果酸和熊果酸分别在 $0.026\ 0\sim 0.130\ \text{mg/mL}$ 和

收稿日期:2007-12-10

基金项目:山西省科技攻关项目 (No. 2006031201-01)、山西医科大学青年基金资助项目 (No. 2006011)

作者简介:梁泰刚,男,在读博士。E-mail: liangtg78@sohu.com

*通讯作者 李青山 Tel: (0351) 4690322 E-mail: qingshanl@yahoo.com

HPLC法同时测定野马追中金丝桃苷、槲皮素和山柰素

作者：[靳晓秋](#)，[陈黎](#)
作者单位：[靳晓秋\(江苏大学药学院, 江苏镇江, 212001\)](#)，[陈黎\(江苏省镇江药品检验所, 江苏镇江, 212003\)](#)
刊名：[中草药](#)  
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(8)
被引用次数：1次

参考文献(3条)

1. [中华人民共和国药典（二部）](#) 2005
2. [钱士辉](#); [杨念云](#); [段金廛](#) [野马追中黄酮类成分的研究](#) [期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2004(01)
3. [许乾丽](#); [熊慧林](#); [茅向军](#) [黔产3种金丝桃属植物药中金丝桃苷的含量测定](#) [期刊论文]-[药物分析杂志](#) 2003(06)

本文读者也读过(10条)

1. [沈红](#). [钱大玮](#). [朱玲英](#). [张晓玲](#). [段金廛](#) [复方野马追胶囊中活性物质的测定](#) [期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2008, 14(5)
2. [彭蕴茹](#). [窦洁](#). [黄芳](#). [钱大玮](#). [PENG Yun-ru](#). [DOU Jie](#). [HUANG Fang](#). [QIAN Da-wei](#) [复方野马追胶囊的体内抑菌抗病毒实验研究](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2008, 19(3)
3. [张晓玲](#). [段金廛](#). [钱大玮](#). [ZHANG Xiao-ling](#). [DUAN Jin-ao](#). [QIAN Da-wei](#) [LC-MS/MS联用技术分析野马追及复方野马追胶囊中的黄酮类成分](#) [期刊论文]-[中国药科大学学报](#) 2008, 39(2)
4. [王欣](#). [汪红](#). [王强](#). [WANG Xin](#). [WANG Hong](#). [WANG Qiang](#) [9种杨属植物雄花序中黄酮类含量的HPLC法测定](#) [期刊论文]-[植物资源与环境学报](#) 2000, 9(1)
5. [陈健](#). [姚成](#) [野马追中总黄酮的测定](#) [期刊论文]-[南京师范大学学报\(工程技术版\)](#) 2004, 4(2)
6. [鲁小杰](#). [黄正明](#). [杨新波](#). [汪晖](#). [耿淼](#). [李壮](#). [Lu Xiaojie](#). [Huang Zhengming](#). [Yang Xinbo](#). [Wang Hui](#). [Geng Miao](#). [Li Zhuang](#) [金丝桃苷对鸭乙肝病毒感染的保肝作用](#) [期刊论文]-[中药药理与临床](#) 2007, 23(2)
7. [李庆林](#). [孟刚](#). [陈志武](#). [马传庚](#) [金丝桃苷对心肌缺血损伤的保护作用](#) [期刊论文]-[安徽医科大学学报](#) 2001, 36(1)
8. [田刚](#). [彭国平](#) [高效液相色谱法测定野马追中槲皮素的含量](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2004, 15(5)
9. [唐春萍](#). [江涛](#). [陈志燕](#) [野马追对豚鼠离体气管平滑肌收缩功能的影响](#) [期刊论文]-[中药药理与临床](#) 2002, 18(6)
10. [王新风](#). [纪元](#). [蒋海龙](#). [WANG Xinfeng](#). [JI Yuan](#). [JIANG Hailong](#) [野马追不同生长阶段和不同部位矿物质元素的比较研究](#) [期刊论文]-[江苏中医药](#) 2007, 39(11)

引证文献(1条)

1. [张涛](#). [朴艳](#). [赵萍](#). [李熙峰](#) [长白山区常见药用植物中常规成分的检测及其活性扫描](#) [期刊论文]-[延边大学学报：自然科学版](#) 2011(2)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808045.aspx