

HPLC 法测定黄杞叶中落新妇苷和黄杞苷

曲佳¹, 周军¹, 侯文彬², 寿国香^{1*}

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘要:目的 建立黄杞叶中落新妇苷及黄杞苷定量测定方法。方法 采用 HPLC 法, Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱, 乙腈-水-冰醋酸(22 78 0.1)为流动相, 检测波长 290 nm, 体积流量 0.8 mL/min。结果 平均回收率: 落新妇苷为 101.6 % (RSD = 0.8 %); 黄杞苷为 98.1 % (RSD = 1.4 %)。线性范围: 落新妇苷为 0.041 48 ~ 8.296 μg (r = 0.999 8); 黄杞苷为 0.022 04 ~ 8.816 μg (r = 0.999 9)。结论 该方法简便、快速、重现性好。

关键词: 黄杞叶; 落新妇苷; 黄杞苷; HPLC

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0306-02

黄杞叶是胡桃科植物黄杞 *Engelhardtia roxburghiana* Wall. 的干燥叶, 我国广东、广西、海南、湖南、贵州等南方各省均有分布。广西等地已将黄杞叶代茶饮, 名为罗汉茶。《广西中药材标准》1996 年版收载, 罗汉茶具有清热解毒, 生津止渴, 解暑利湿的作用, 可用于脾胃湿滞, 胸腹胀闷, 感冒发烧等症状。原标准无定量测定项, 本实验建立了 HPLC 法测定黄杞叶中落新妇苷和黄杞苷, 能够有效地控制该制剂的质量。此外, 同时测定了黄杞细枝中落新妇苷和黄杞苷, 对发现该药材新的药用部位, 扩大药源提供了一定的实验参考。

1 材料

本实验用黄杞叶产地为广西, 经天津市药品检验所中药室吴贵华主任药师鉴定。

日本 Shimadzu LC-2010CHT 高效液相色谱仪, LC-solution 工作站。Mettler AE 260 万分之一电子天平及 Mettler Toledo AG 135 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); Sibata 超声波清洗器; 乙腈为色谱纯, 冰醋酸为分析纯, 水为去离子蒸馏水; 落新妇苷、黄杞苷对照品由天津市药品检验所中药室自制(经 UV、IR、MS、NMR 波谱鉴定), 经 HPLC 色谱归一化法计算, 落新妇苷、黄杞苷质量分数均达 98.5 % 以上。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 流动相为乙腈-水-冰醋酸(22 78 0.1); 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 体积流量: 0.8 mL/min; 检测波长: 290 nm; 柱温: 30 °C, 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

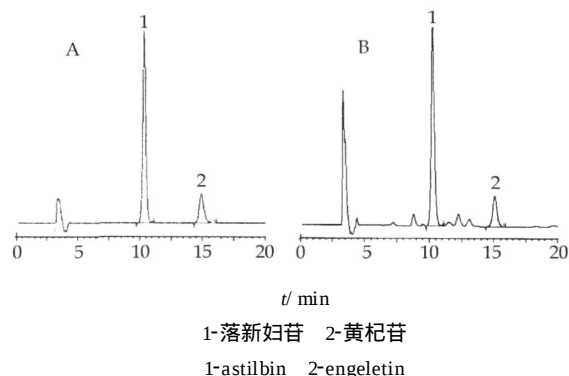


图 1 对照品(A)和黄杞叶(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A) and *E. roxburghiana* leaves (B)

2.2 对照品溶液: 取经减压干燥 12 h 的落新妇苷和黄杞苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含落新妇苷 0.08 mg/mL、黄杞苷 0.02 mg/mL 的混合溶液, 即得。

2.3 供试品溶液: 取第一批样品粗粉约 0.25 g, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声(功率为 500 W, 频率为 40 kHz)处理 45 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密称取经减压干燥 12 h 的落新妇苷对照品适量, 用甲醇分别制成质量浓度为 4.148、82.96、41.48、82.96、414.8、829.6 μg/mL 的溶液, 分别精密吸取上述溶液各 10 μL, 进样, 按上述色谱条件测定峰面积。以进样质量对峰面积值进行线性回归, 得回归方程 $Y = 2\,816\,476.08 X +$

* 收稿日期: 2008-06-12

作者简介: 曲佳(1981—), 女, 药师, 天津大学药物分析学硕士在读, 研究方向为药物分析与质量控制。E-mail: qj4599@sina.com.cn

* 通讯作者 寿国香 Tel: (022) 23374076

55 583.75, $r = 0.9998$ 。结果表明落新妇苷在0.041 48~8.296 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

精密称取经减压干燥12 h的落新妇苷对照品适量,用甲醇分别制成质量浓度为2.204、4.408、220.4、440.8、881.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,分别精密吸取上述溶液各10 μL ,进样,按上述色谱条件测定峰面积。以进样质量对峰面积进行线性回归,得回归方程 $Y = 2430178.91X + 23623.34$, $r = 0.9999$ 。结果表明黄杞苷在0.022 04~8.816 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 重现性试验:采用第一批样品,按供试品制备方法制备样品共6份,在上述色谱条件下分别进样测定,计算,结果样品中落新妇苷平均质量分数为85.7 mg/g ,RSD为1.9%;黄杞苷平均质量分数为20.8 mg/g ,RSD为1.6%。

2.6 精密度试验:取同一份供试品溶液,连续进样6次,以落新妇苷及黄杞苷峰面积为考察对象,计算6次分析所得落新妇苷与黄杞苷峰面积的RSD值均小于0.3%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液分别在0、4、8、12、16、20、24 h进样测定,结果落新妇苷峰面积的RSD值为1.4%,黄杞苷RSD值为1.6%。表明供试品溶液中落新妇苷与黄杞苷在24 h内均稳定。

2.8 加样回收率试验:采用第一批样品,取其粗粉约0.125 g,共6份,精密称定,分别精密加入含落新妇苷215.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和黄杞苷44.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液50 mL,按供试品制备方法制备样品共6份,

在上述色谱条件下测定,计算回收率。结果落新妇苷平均回收率为101.6%(RSD=0.8%);黄杞苷为98.1%(RSD=1.4%)。

2.9 样品测定:取4个不同批次的样品及第一批中黄杞细枝,制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,记录峰面积,按外标法计算质量分数。结果见表1。黄杞细枝中落新妇苷和黄杞苷的量明显低于黄杞叶中二者的量;且不同批次黄杞叶中落新妇苷与黄杞苷的量比值也不尽相同。

表1 不同批次黄杞叶样品测定结果($n=2$)

Table 1 Determination of *E. rcwburghiana* leaves in various batches ($n=2$)

批 次	落新妇苷/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	黄杞苷/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
第1批	85.7	20.8
第2批	39.2	4.9
第3批	52.9	5.1
第4批	86.7	7.1
黄杞细枝	20.0	1.0

3 讨论

本实验比较了不同提取方式对样品提取效率的影响,结果显示超声提取与回流提取差别不大,故采用操作相对简单的超声提取方法;此外,还比较了不同超声提取时间(30、45、60、90 min)对提取效率的影响,4种提取时间所测得的量与时间成正比,但45 min与90 min相差不大,故选择45 min提取,节省时间。比较了不同提取溶液(甲醇,75%甲醇,50%甲醇;乙醇,75%乙醇,50%乙醇)对提取效率的影响,在相同条件下提取,甲醇提取所测得的量最高,故选择甲醇作为提取溶剂。

RP-HPLC法测定黄荆子中牡荆脂素A

唐莹翠^{1,2},曾光尧^{1*},谭健兵¹,李妍岚¹,谭桂山¹,周应军^{1*}

(1. 中南大学药学院,湖南 长沙 410013; 2. 湖南省医药学校,湖南 长沙 410014)

摘 要:目的 建立黄荆子中抗肿瘤活性成分6-羟基-4-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-羟甲基-7-甲氧基-3,4-二氢(3R,4S)-2-醛基萘(牡荆脂素A, VBE-1)的定量测定方法。方法 采用反相高效液相色谱法。Kromasil ODS(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)色谱柱,乙腈-0.1%冰醋酸梯度洗脱(0 min, 15 85; 10 min, 15 85; 40 min, 28 72),检测波长为255 nm,柱温为25 $^{\circ}\text{C}$,体积流量为1 mL/min。结果 黄荆子中牡荆脂素A在该条件下有较好的线性关系。结论 测定方法简便、准确,建立了黄荆子药材的牡荆脂素A的定量测定方法,为黄荆子质量控制及综合利用提供了可靠的依据。

关键词:黄荆子; 6-羟基-4-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-羟甲基-7-甲氧基-3,4-二氢(3R,4S)-2-醛基萘; 高效液相色谱

* 收稿日期:2008-05-05

作者简介:唐莹翠,女,高级讲师,中南大学药学院在职研究生,从事天然药物研究与开发。

*通讯作者 曾光尧 Tel: (0731) 2650372 E-mail: zenggy2005@126.com