

## HPLC 法测定山蜡梅中东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱

白会强<sup>1,2</sup>, 蔡少华<sup>2</sup>, 徐亮<sup>2</sup>, 何明珍<sup>1</sup>, 张小娟<sup>1</sup>, 冯育林<sup>1,2\*</sup>, 王跃生<sup>1</sup>, 杨世林<sup>1,2</sup>

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

**摘要:**目的 建立高效液相色谱法同时测定山蜡梅中东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱量的方法。方法 Hypersil ODS 柱(250 mm × 4.6 mm, 25 μm); 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱; 检测波长为 348、376、222 nm; 体积流量为 1 mL/min。结果 山蜡梅叶中东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱达到基线分离且线性关系良好, 线性范围为 10.02 ~ 50.10、10.04 ~ 50.20、10.04 ~ 50.20 μg/mL, 平均加样回收率分别为 97.13%、96.68%、97.22%。结论 本方法用于山蜡梅中东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱的定量测定, 具有快捷、简便、准确的特点, 能够多成分综合评价该药材。

**关键词:**山蜡梅; 东茛菪素; 槲皮素; 夏蜡梅碱; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)03-0486-02

山蜡梅 *Chimonanthus nitens* Oliv. 为我国特有的蜡梅科蜡梅属植物, 主要分布于亚热带湿润的常绿落叶阔叶混交林地, 遍及我国西南部浙江、湖北、湖南、四川、广东、广西、江西等省区。药用部位为其干燥叶, 其中含有丰富的挥发油, 可以泡茶饮用, 民间用于治疗感冒咳嗽<sup>[1,2]</sup>。《中国药典》1977 年版记载“山蜡梅叶”及其制剂“山蜡梅茶”用于治疗感冒和流行性感。近年对山蜡梅化学成分研究有少量报道<sup>[3,4]</sup>, 为了合理评价和开发利用该药用资源, 探讨了用高效液相色谱法同时测定东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱 3 个化学成分的量, 取得了较满意的结果。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); DAD 检测器; Tp 1200 电子天平(湘仪天平仪器有限公司); MILLIQ 型超纯水仪(MILLIPORE); KQ-250 超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱对照品由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供, 质量分数均大于 98%。甲醇为色谱纯, 水为超纯水。

山蜡梅叶采自江西婺源, 经江西中医学院杨世林教授鉴定为蜡梅科(Calycanthaceae)山蜡梅 *Chimonanthus nitens* Oliv.。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件<sup>[5]</sup>: 色谱柱为 Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 25 μm); 流动相为甲醇(A)-水(B)梯

度洗脱, B 相 0 ~ 10 min 70%, 10.01 ~ 20 min 55%, 20.01 ~ 30 min 35%; 检测波长为 348、376、222 nm; 体积流量为 1 mL/min, 柱温 30℃, 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱对照品 5.01、5.02、5.02 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀后即得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取山蜡梅叶 5 g, 置于 500 mL 圆底烧瓶中, 50% 乙醇回流提取两次, 每次 2 h, 每次加入 50% 乙醇 200 mL, 合并提取液, 浓缩至干, 甲醇溶解, 置于 100 mL 量瓶中, 并稀释至刻度即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察: 分别精密吸取东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 10 μL, 测定峰面积。以峰面积平均值和质量浓度进行回归处理, 结果东茛菪素在 10.02 ~ 50.10 μg/mL 线性良好, 回归方程为  $Y = 29736X - 24.46$ ,  $r = 0.9997$ ; 槲皮素在 10.04 ~ 50.20 μg/mL 线性良好, 回归方程为  $Y = 16283X - 214.5$ ,  $r = 0.9998$ ; 夏蜡梅碱在 10.04 ~ 50.20 μg/mL 线性良好, 回归方程为  $Y = 2013X + 89.29$ ,  $r = 0.9994$ 。

2.5 精密度试验: 山蜡梅叶制备供试品溶液, 进样 10 μL, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算得东茛菪素、槲皮素、夏蜡梅碱峰面积积分值的 RSD 分别为 0.98%、1.21%、1.36%。

2.6 稳定性试验: 山蜡梅叶制备供试品溶液, 分别

收稿日期: 2009-06-22

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BAI06A01-01); 国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BAI06A18-09); 江西省卫生厅中医药科研计划课题(2008A060)

作者简介: 白会强(1984—), 男, 陕西省神木人, 硕士研究生, 研究方向为中药新药及质量标准研究。E-mail: angel@signemail@126.com

\*通讯作者: 冯育林 Tel: (0791)7119632 E-mail: fengyulin2003@hotmail.com

于 0、2、4、8、12、24 h 进样 10 μL 进行分析,测定色谱峰面积,计算得东莨菪素、槲皮素、夏蜡梅碱峰面积积分值的 RSD 分别为 1.16%、1.28%、0.94%。

2.7 重现性试验:山蜡梅叶 5 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得东莨菪素、槲皮素、夏蜡梅碱峰面积积分值的 RSD 分别为 1.21%、1.45%、1.33%。

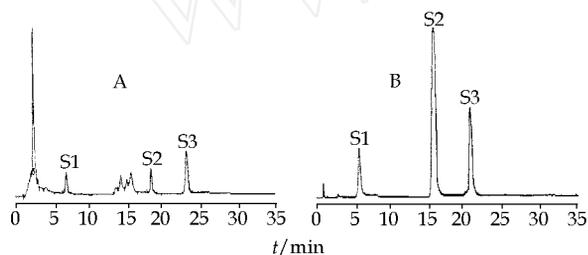
2.8 加样回收率试验:精密称取山蜡梅叶 5 g,精密加入适量混合对照品,制备供试品溶液,依法测定,计算,结果平均加样回收率分别为 97.13%、96.68%、97.22%,RSD 为 1.57%、1.52%、1.27%。(n=3)

2.9 样品的测定:取 5 批山蜡梅叶,制备供试品溶液,进样测定峰面积,每批重复测定 3 次,按回归方程计算东莨菪素、槲皮素、夏蜡梅碱的质量分数,结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 样品中东莨菪素、夏蜡梅碱、槲皮素的测定结果(n=5)

Table 1 Determination of scopoletin, calycanthine, and quercetin in *C. nitens* (n=5)

样品	东莨菪素/ %	夏蜡梅碱/ %	槲皮素/ %
20080912	0.016	0.110	1.189
20080913	0.020	0.133	1.522
20080915	0.017	0.116	1.266
20080917	0.019	0.120	1.349
20080920	0.014	0.119	1.244



S1-东莨菪素 S2-槲皮素 S3-夏蜡梅碱  
S1-scopoletin S2-quercetin S3-calycanthine

图 1 样品溶液(A)和混合对照品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of sample solution (A) and mixture reference substance (B)

### 3 讨论

本研究采用甲醇-水梯度洗脱,多波长检测,得到较好的分离度,且保留时间适当。方法学考察发现本方法可以很好地测定山蜡梅叶中东莨菪素、槲皮素和夏蜡梅碱,可以为山蜡梅的质量控制提供参考和依据。

实验比较了流动相甲醇-水(20.01~30 min, 70 30)、甲醇-水(20.01~30 min, 65 35)、甲醇-水(20.01~30 min, 60 40),结果显示第 1 种流动相所得待检色谱峰有严重的拖尾现象,影响色谱峰的分离;第 2 种流动相所得色谱峰峰形对称性较好,分离度良好可使夏蜡梅碱与槲皮素、东莨菪素及其他成分获得基线分离;第 3 种流动相所得色谱峰峰形对称性差,综合考虑选择甲醇-水(20.01~30 min, 65 35)为本实验流动相。

东莨菪素、槲皮素和夏蜡梅碱峰分别体现了山蜡梅的药材质量,分别在 348、376、222 nm 为最大吸收。所以在进行定量测定时,采用了 3 个波长的 HPLC 数据,即东莨菪素峰采用波长 348 nm 的峰面积,槲皮素峰采用波长 376 nm 的峰面积,夏蜡梅碱峰采用波长 222 nm 的峰面积。

比较了 190~400 nm 波长下的色谱图,结果 348 nm 波长下,色谱峰型较好,分离情况良好;东莨菪素峰、槲皮素峰、夏蜡梅碱峰相对保留时间 RSD 均小于 1%,表明色谱峰在 HPLC 图谱中相对位置稳定。

#### 参考文献:

- [1] 肖炳坤,刘耀明. 蜡梅属植物分类、化学成分和药理作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(2): 59-61.
- [2] 肖炳坤,黄荣清,骆传环. 山蜡梅叶中蜡梅碱和山蜡梅碱的分析与鉴定[J]. 质谱学报, 2004, 25(10): 59-60.
- [3] 肖炳坤,刘耀明,冯淑香,等. 山蜡梅叶的化学成分研究( ) [J]. 中草药, 2005, 36(2): 187-189.
- [4] 孙丽红,何明珍,冯育林,等. 山蜡梅中的化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(8): 1214-1216.
- [5] 纪兰菊,陈怡,陈桂琛,等. 15 种獐牙菜属植物中主要药用成分的高效液相色谱法含量测定[J]. 西北植物学报, 2004, 24(7): 1298-1302.

## 《中草药》杂志售过刊信息

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975 年、1976 年、1979 年、1988 - 1993 年(80 元/年),1996、1997 年(110 元/年)、1998 年(120 元/年)、1999 年(135 元/年)、2000 年(180 元/年)、2001 - 2003 年(200 元/年)、2004 年(220 元/年)、2005 年(260 元/年)、2006 年(280 元/年) 2009 年(350 元/年)、2007 年(280 元/年)、2008 年(280 元/年)、2009 年(400 元/年)。1996 年增刊(50 元)、1997 年增刊(45 元)、1998 年增刊(55 元)、1999 年增刊(70 元)、2000 年增刊(70 元)、2001 年增刊(70 元)、2002 年增刊(65 元)、2003 年增刊(65 元)、2004 年增刊(65 元)、2005 年增刊(65 元)、2006 年增刊(65 元)、2007 年增刊(65 元)、2008 年增刊(55 元)、2009 年增刊(55 元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821

传真:(022) 23006821

E-mail :zcy @tiprpress.com