

研究表明木豆叶中异美五针松双氢黄酮、木豆萜的量较高。同时木豆叶中活性成分主要为黄酮类和萜类化合物,所以,选择该3种成分作为指标成分具有较好的代表性,本方法选择3种主要成分作为木豆叶质量控制指标成分是可行的。

参考文献:

- [1] 骆庆峰,孙兰,斯建勇,等.木豆叶萜类提取物对高脂模型小鼠血脂和肝脏胆固醇的降低作用[J].药学学报,2008,43(2):145-149
- [2] 郑元元,杨京,陈迪华,等.木豆叶萜类提取物对雌激素缺乏性大鼠骨质丢失的影响[J].药学学报,2007,42(5):562-565

RP-HPLC法测定鹿衔草中水晶兰苷

赵明波,屠鹏飞*

(北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室,北京 100191)

摘要:目的 建立鹿衔草中水晶兰苷的测定方法。方法 采用RP-HPLC法,色谱柱为Agilent Zorbax SB-Aq (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇0.1%磷酸溶液(5:95),体积流量1.0 mL/min,检测波长235 nm,柱温25 ℃。结果 水晶兰苷在0.254 4~5.088 μg线性良好, $R^2=0.9999$;平均回收率97.2%,检测限为13 ng。结论 该方法稳定可靠,回收率高,可用于鹿衔草的质量控制。

关键词:鹿衔草;水晶兰苷;RP-HPLC

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)10-1725-02

鹿衔草为《中国药典》一部记载的中药品种,是鹿蹄草科植物鹿蹄草 *Pyrola calliantha* H. Andres 或普通鹿蹄草 *P. decorata* H. Andres 的干燥全草,具有祛风湿、强筋骨、止血等功效^[1]。现代药理学研究表明,鹿衔草对心血管系统有一定的作用,并具有抗菌、抗炎、镇痛等活性^[2]。鹿衔草中主要含有黄酮类、酚类、醌类和环烯醚萜苷类化合物^[2]。水晶兰苷属于环烯醚萜苷类化合物,与其抗炎镇痛作用相关^[3]。目前,对鹿衔草的研究主要集中于黄酮类^[4]、酚苷类^[5]和三萜类^[6]化合物,而环烯醚萜苷类成分的研究未见报道。本实验采用RP-HPLC法,建立了鹿衔草中水晶兰苷的测定方法,为鹿衔草的质量控制提供了参考。

1 仪器和试剂

高效液相色谱仪为Agilent 1100高效液相色谱仪;四元泵,在线脱气机,自动进样器,柱温箱,二极管阵列检测器,Agilent 1100化学工作站。乙睛(J.T. Baker,色谱纯,美国);水为乐百事纯净水;磷酸(分析纯)为北京化工厂;水晶兰苷对照品为实验室自制,HPLC检查质量分数大于98%(面积归一化法);鹿衔草药材为各地收集,由北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为鹿蹄草 *Pyrola calliantha* H. Andres 或普通鹿蹄草 *Pyrola decorata* H. Andres 的干燥全草。

2 方法和结果

2.1 色谱条件:Agilent Zorbax SB-Aq色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇0.1%磷酸溶液(5:95);检测波长:235 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:25 ℃。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒质量的水晶兰苷对照品适量,加甲醇溶解制成0.25 mg/mL的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品粗粉约2 g,精密称定,加水50 mL,称定质量,在80 ℃水浴中提取1 h,放冷,称定重量,用水补足减失的质量,滤过,精密量取续滤液20 mL减压浓缩至干,残渣加水适量使溶解,转入5 mL量瓶中,用水分次洗涤容器,洗涤液并入量瓶中,再加水至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:取水晶兰苷对照品适量,配制1.272 mg/mL对照品溶液,精密吸取0.4、0.8、1.6、2、4、8 mL置于10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,配制成不同质量浓度的对照品溶液。精密吸取上述溶液5 μL进样,测定峰面积。以质量为横坐标,峰面积为纵坐标作标准曲线。结果表明,水晶兰苷在0.254 4~5.088 μg线性良好,回归方程为 $Y=1106.4X-24.381$, $R^2=0.9999$ 。水晶兰苷的检测限为13 ng(S/N=3)。

2.5 精密度试验:取编号25样品,制备供试品溶

①收稿日期:2009-12-27

作者简介:赵明波 北京大学医学部植化教研室 Tel/Fax:(010)82802859 E-mail:zmb_77@163.com

液,连续进样 6 次,测定水晶兰苷的峰面积,结果峰面积的 RSD 为 0.097%。

2.6 稳定性试验:取编号 25 样品,制备供试品溶液,在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 内测定峰面积,结果表明样品溶液在 24 h 内稳定,峰面积的 RSD 为 1.25%。

2.7 重现性试验:取编号 25 样品 5 份,制备供试品溶液,计算水晶兰苷质量分数,结果 RSD 为 1.51%。

2.8 加样回收率试验:分别精密称取编号 2 鹿衔草样品(含水晶兰苷 1.31 mg/g)共 6 份,分别加入水晶兰苷对照品溶液,按供试品溶液的制备方法制备,测定,计算平均回收率为 97.15%,RSD 为 1.10%。

2.9 样品测定:精密称取不同产地和来源的鹿衔草药材 2.0 g,按供试品溶液制备方法制备样品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。结果见表 1、图 1。

表 1 鹿衔草中水晶兰苷的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of monotropein from *Pyrolae Herba* (n=2)

编号	购买地	水晶兰苷/ (mg · g ⁻¹)	编号	购买地	水晶兰苷/ (mg · g ⁻¹)
1	北京	1.41	14	吉林通化	2.97
2	广东广州	1.31	15	天津	1.17
3	河北安国	1.80	16	河北	2.22
4	湖北荆州	1.70	17	江西临州	1.41
5	山东青岛	2.16	18	河北行唐	0.67
6	福建温州	3.16	19	河北邯郸	1.00
7	河南郑州	2.71	20	河南郑州	2.99
8	甘肃	4.46	21	黑龙江牡丹江	2.78
9	四川成都	2.97	22	浙江温岭	2.74
10	黑龙江大庆	0.58	23	贵州	0.81
11	内蒙古乌兰浩特	1.66	24	陕西西安	3.02
12	浙江东阳	4.19	25	浙江	1.91
13	江西南昌	2.91			

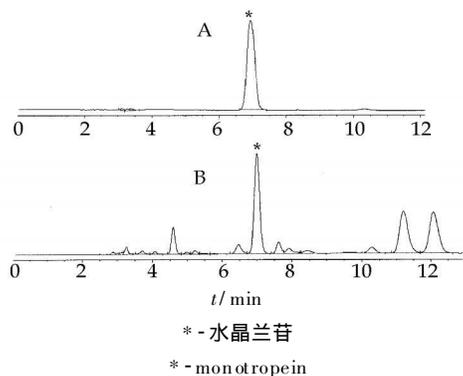


图 1 水晶兰苷对照品(A)与鹿衔草(B)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of monotropein (A) and *Pyrolae Herba* (B)

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择:为了选择最佳的提取溶剂,对不同溶剂的提取效果进行了比较。取药材粗粉 2 g,精密称定,分别用甲醇、80% 甲醇、50% 甲醇、95% 乙醇、80% 乙醇、50% 乙醇和水为溶剂,采用回流法提取 2 h,滤过,取续滤液 20 mL,减压浓缩,残渣加入 50% 甲醇定容至 5 mL。经 HPLC 分析测定,结果水的提取效果最佳,故选择水为提取溶剂。以水为溶剂,对不同提取温度和时间进行了比较,结果表明,80 °C 温浸提取 1 h 效果最佳。

3.2 流动相的选择:由于水晶兰苷的酸性较强,在酸性缓冲溶液中才能得到较好的分离,故选择了不同浓度的磷酸和三氟乙酸溶液进行比较,结果发现使用磷酸的分离效果优于三氟乙酸;又对磷酸的浓度进行考察,结果发现使用 0.1% 磷酸溶液时,可以达到较好分离,磷酸浓度增大,分离效果未见明显改善。故选择 0.1% 磷酸溶液分离。由于水晶兰苷的极性较大,保留时间短,故采用甲醇-0.1% 磷酸溶液(5:95),使高极性的水晶兰苷得到较好分离。

3.3 各地商品药材中水晶兰苷的比较:不同商品药材中的水晶兰苷的量在 0.58~4.46 mg/g,相差近 8 倍,说明市场流通的商品药材的质量差异较大,对其进行适当的质量控制十分必要。《中国药典》2005 年版中,鹿衔草的质量标准还未建立“测定”项,本实验建立的测定方法操作简便,结果可靠,为完善鹿衔草的质量标准提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 刘 馨. 鹿衔草和斯里兰卡天料木化学成分及其生物活性研究[D]. 北京: 北京大学, 2007.
- [3] Choi J, Lee K T, Choi M Y, et al. Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *Morinda officinalis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 1915-1918
- [4] 张圆圆, 陈晓辉, 孙艳艳, 等. 反相高效液相色谱法测定普通鹿蹄草中黄酮苷类成分 [J]. *色谱*, 2007, 25(3): 367-370
- [5] 石 娟, 刘 瑞, 陈慧娟, 等. 薄层扫描法测定高熊果酚苷的含量 [J]. *中国现代应用药学杂志*, 2003, 20(5): 411-413
- [6] 邹盛勤, 陈 武. 反相高效液相色谱法测定鹿衔草中熊果酸和齐墩果酸的含量 [J]. *天然产物研究与开发*, 2008, 20: 110-112