HPLC 法测定不同产地藤合欢中山柰苷的量

刘天竹，王维宁，郝延军
辽宁省药品检验检测院，辽宁 沈阳 110000

摘 要：目的 采用 HPLC 法测定并比较分析藤合欢中山柰苷的量。**方法** 采用甲醇超声处理方法提取藤合欢，HPLC 法测定山柰苷的量，色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)，甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液-冰醋酸水溶液（40∶60∶1.5）等度洗脱，体积流量 1.0 mL/min，检测波长 254 nm，柱温 30 ℃。**结果** 线性范围在 0.092 7～0.926 7 μg（r=0.999 8），平均加样回收率为 100.8%，RSD 为 1.1%（n=6）。**结论** 该方法简便、准确，重复性好，可用于藤合欢质量控制；不同产地的藤合欢样本质量存在差异，贮藏时间越久，其所含的黄酮类成分越少。

关键词：藤合欢；南蛇藤；山柰苷；HPLC；贮藏时间
中图分类号：R286.6 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2015)10 - 1533 - 03
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.10.023

Determination of kaempferitrin in *Celastri Orbiculati Fructus* by HPLC

LIU Tian-zhu, WANG Wei-ning, HAO Yan-jun
Liaoning Institute for Drug Control, Shenyang 110000, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of kaempferitrin in *Celastri Orbiculati Fructus* and to compare the quality of samples from different habitats in northeast China. **Methods** The extracts were obtained by methanol ultrasonic method and kaempferitrin was determinated by HPLC. Chromatographic separation was achieved on an Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 30 ℃ and the mobile phase was a mixture of methanol- 0.01 mol/L solution of potassium dihydrogenphosphate -glacial acetic acid (40:60:15). The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was 254 nm. **Results** The linearity range was 0.092 7—0.926 7 μg (r = 0.999 8), average recovery was 100.8%, and RSD = 1.1% (n = 6). **Conclusion** This method is validated in terms of selectivity, linearity, precision, and accuracy. It can be used as the effective method for quality control. The determination results show that the longer the fruit sits followed by picking, the less contents it has.
Key words: *Celastri Orbiculati Fructus*; *Celastrus orbiculatus* Thunb.; kaempferitrin; HPLC; storage time

藤合欢 *Celastri Orbiculati Fructus* 为卫矛科（Celastraceae）植物南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 的干燥果实[1]。秋季果实成熟时采摘，除去杂质，晒干。本品原收载于《辽宁省药品标准》1987 年版[2]和《辽宁省中药材标准》第一册[3]，在东北有悠久的药用历史，曾作为合欢花的地方习用品使用，有补脾、安神、活血之功效，用于治疗神经衰弱、失眠。现代医学研究表明，藤合欢中主要含有黄酮类和倍半萜类成分，有镇静催眠、抗炎、抑制癌细胞增殖等作用[4-6]。藤合欢的主产区在东北地区，尤其是在吉林和辽宁两省。该品种拟收载入《中国药典》2015 年版一部，目前尚无较好的质量控制方法。因此，本实验选定山柰苷为指标建立测定方法，并对不同产地及不同贮藏年限的藤合欢进行质量评价。

1 仪器与材料

岛津 LC-2010C 高效液相色谱仪，安捷伦 1200（G1322A Degasser，G1329A ALS，G1316A TCC，G1314B VWD，G1315D DAD）。

山柰苷对照品购自中国食品药品检定研究院，批号 111775-200701，质量分数为 92.3%。试剂均为色谱纯。

样品均由辽宁省药品检验检测院王维宁教授鉴定为卫矛科植物南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 的干燥果实。样品信息见表 1。

收稿日期：2015-02-16
基金项目：国家药典会《中国药典》2015 年版项目
作者简介：刘天竹（1982—），女，主管中药师，硕士，研究方向为中药活性成分及质量评价。
Tel: (024)31266308 Fax: (024)31266305 E-mail: liutianzhu123@hotmail.com

表 1　样品信息

Table 1　Sample information

编号	来源	收集地	日期
1	采集	辽宁本溪	2012-09
2	采集	辽宁海城	2011-09
3	采集	辽宁抚顺	2013-09
4	商品	辽宁沈阳	2012-12
5	商品	河北安国	2012-12
6	商品	辽宁大连	2013-04
7	采集	吉林集安	2012-09
8	采集	吉林柳河	2011-09
9	采集	吉林抚松	2013-09
10	商品	辽宁抚顺	2012-09
11	采集	辽宁牛心台	2013-09

2　方法与结果

2.1　对照品溶液的制备

取山柰苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成含 46.334 650 μg/mL 山柰苷对照品溶液。

2.2　供试品溶液的制备

取藤合欢样品粉末 0.8 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，称定质量，超声处理（功率 200 W，频率 40 kHz）30 min，放冷，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，即得。

2.3　色谱条件及系统适应性试验

色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液-冰醋酸（40∶60∶1.5），体积流量 1.0 mL/min，检测波长 254 nm，柱温 30 ℃。精密吸取对照品及供试品溶液各 10 μL，按上述色谱条件分析，结果分离度均大于 1.5，且不受其他组分干扰，理论板数大于 5 000，表明该方法专属性良好。色谱图见图 1。

2.4　线性关系考察

对照品溶液分别自动进样 2、5、10、15、20 μL，相当于山柰苷 0.092 7、0.231 7、0.463 3、0.695 0、0.926 7 μg，以进样量为横坐标（X，μg）对峰面积（Y）进行回归处理，计算得线性回归方程为 $Y=3\times10^6X+7\,788.8$（$r=0.999\,8$），线性范围为 0.092 7～0.926 7 μg。

2.5　精密度试验

按照“2.3”项下条件，对照品溶液连续进样 6 次，每次 10 μL，结果 RSD 值为 0.1%，仪器精密度良好。

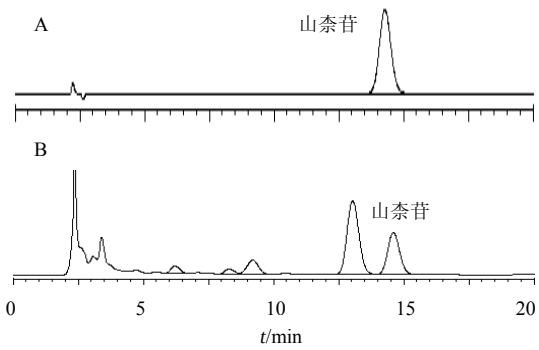

图 1　对照品 (A) 和藤合欢 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1　HPLC of kaempferitrin (A) and *Celastri Orbiculati Fructus* (B)

2.6　重复性试验

精密称取样品（样品 1）6 份，制备供试品溶液，于“2.3”项下条件测定，山柰苷质量分数的 RSD 值为 0.3%，表明重复性良好。

2.7　稳定性试验

取供试品溶液 1 份（样品 1），分别于 0、2、4、8、12、18 h 共进样 6 次，记录色谱图。计算 18 h 内峰面积的 RSD 值为 1.3%，表明供试品溶液在 18 h 内稳定。

2.8　加样回收率试验

精密称取 6 份已测定的藤合欢药材粉末（样品 1）0.4 g，分别加入对照品溶液适量，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下条件测定并计算质量分数的回收率，山柰苷加样回收率为 100.8%，RSD 为 1.1%。

2.9　样品测定

按照“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下条件测定，分析和计算样品中山柰苷的量。各批样品中山柰苷的量存在差异，差异大的批次量相差约 5 倍，说明产地和年限等都能影响到质量分数的高低，结果见表 2。

3　讨论

上述研究表明所建立的方法简单、准确，可有效控制藤合欢的质量。结果表明采自辽宁和吉林两地的样品在山柰苷质量分数上有一定的差别，但不显著，相同年份样品横向比较，辽宁地区样品山柰苷量略高于吉林地区。分析其原因可能与成果过程中的光照时长及水分养分的充足情况有关。对不同年份样品量的纵向比较显示，贮藏时间越长，所含

表 2 藤合欢中山柰苷的质量分数

Table 2 Contents of kaempferitrin in *Celastri Orbiculati Fructus*

编号	贮藏年限/年	质量分数/%
1	2	0.101
2	3	0.043
3	1	0.246
4	4	0.070
5	4	0.094
6	2	0.113
7	3	0.056
8	2	0.068
9	1	0.103
10	1	0.161
11	1	0.159

山柰苷的质量分数就越少，平均质量分数在 0.04%～0.25%。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.

[2] 辽宁省药品标准 [S]. 1987.

[3] 辽宁省中药材标准 (第一册) [S]. 2009.

[4] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[5] Kupchan S M. Ubersichtuber die celastraceen-inhal-tsstoffe: chemie, chemotaxonomie, biosynthese, pharmakologie [J]. *Phytochemistry* 1978, 17: 1821-1858.

[6] 郭远强. 南蛇藤化学成分及药理活性的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2004.