

## 地耳草质量标准研究

夏玉吉<sup>1</sup>, 鲍家科<sup>2\*</sup>, 郑丽会<sup>1</sup>, 许乾丽<sup>1</sup>, 王珍珍<sup>3</sup>, 欧恒熙<sup>3</sup>

(1. 贵州省药品检验所, 贵阳 550004; 2. 贵州省药品审评认证中心, 贵阳 550004;  
3. 贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 以异槲皮苷、槲皮苷为指标, 研究并完善地耳草药材的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)为定性鉴别方法; HPLC 测定其中异槲皮苷、槲皮苷含量。结果: 不同产地 10 批地耳草药材异槲皮苷、槲皮苷薄层鉴别斑点清晰, 分离度好, 结果一致; 含量测定异槲皮苷平均含量为 0.4%, 槲皮苷平均含量为 0.5%, 异槲皮苷、槲皮苷的平均回收率分别为 99.39%, 98.98%, RSD 分别为 1.85%, 2.76%。结论: 定性定量方法快速、准确、专属性强、重复性好, 可用于地耳草药材的质量控制。

**[关键词]** 地耳草; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0105-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013110105

## Study on Quality Standard of *Hypericum japonicum*

XIA Yu-ji<sup>1</sup>, BAO Jia-ke<sup>2\*</sup>, ZHENG Li-hui<sup>1</sup>, XU Qian-li<sup>1</sup>, WANG Zhen-zhen<sup>3</sup>, OU Heng-xi<sup>3</sup>

(1. Guizhou Institute For Drug Control, Guiyang 550004, China;

2. Guizhou Center for Drug Evaluation, Guiyang 550004, China;

3. School of Pharmacy of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study and improve the quality standard of *Hypericum japonicum* with isoquercitrin and quercitrin as index. **Method:** TLC was used for qualitative identification method. Quercitrin and isoquercitrin were determined by HPLC. **Result:** The TLC spots of isoquercitrin and quercitrin were clear, well separated; the results of 10 batch of *H. japonicum* from different area were consistent. Average content of isoquercitrin was 0.4%, the average content of quercitrin was 0.5%; the recovery of isoquercitrin was 99.39% with RSD of 1.85%, and the recovery of quercitrin was 98.98% with RSD of 2.76%. **Conclusion:** Qualitative and quantitative methods are rapid, accurate, with strong specificity and good reproducibility, which can be used for the quality control of *Hypericum japonicum*.

**[Key words]** *Hypericum japonicum*; quality standard; TLC; HPLC

本品为藤黄科植物地耳草的新鲜或干燥全草, 春、夏二季开花时采收, 除去杂质, 鲜用或干燥; 具有清热解毒、利湿消肿、散瘀止痛等功效; 用于湿热黄疸、目赤肿痛、跌扑损伤等症。地耳草始载于《生草

药性备要》、《植物名实图考》又名田基黄、雀舌草等<sup>[1]</sup>, 药材标准收载于 1977 年版一部《中国药典》<sup>[2]</sup>及《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版)<sup>[3]</sup>等, 原标准比较简单仅有性状和显微等检测项目。据报道, 地耳草主要含黄酮类<sup>[4,5]</sup>、色原酮类化合物<sup>[5]</sup>等。王永刚等<sup>[6]</sup>对地耳草药材指纹图谱进行研究, 通过对指纹图谱色谱峰的指认发现地耳草中黄酮类成分异槲皮苷、槲皮苷含量较高。本文收集了不同产地、不同采收时间的地耳草药材 10 批, 采用薄层色谱法及高效液相色谱法对其成分异槲皮苷、槲皮苷进行定性定量检测, 专属性强, 灵敏

**[收稿日期]** 20120813(012)

**[基金项目]** 贵州省中药现代化科技产业项目([2008]5002)

**[第一作者]** 夏玉吉, 硕士研究生, 从事中药成分分析, Tel: 15114022187, E-mail: 1392192077@qq.com

**[通讯作者]** \* 鲍家科, 主任药师, 从事中药质量标准研究, Tel: 13985430537, E-mail: bjk2005@163.com

度、准确度高,该方法旨在为地耳草药材质量标准的提升研究,为合理开发利用地耳草药材资源提供理论依据<sup>[7]</sup>。

## 1 材料

日本岛津 LC-20AD 型高效液相色谱仪 (SPD-M20A 二极管阵列检测器、CBM-20A 系统控制器、CTO-20AC 柱温箱、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、LC2000 色谱数据工作站),XS205 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),CH-300 型超声波清洗机(北京创新德超声电子研究所),DK-98-11A 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司),中药材粉碎机(浙江温岭市林大机械有限公司)。

异槲皮苷对照品(批号 111809-201102)、槲皮苷对照品(批号 111538-200403)由中国药品生物制品检定所提供。硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂),乙腈为色谱纯,甲醇为色谱纯、分析纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。10 批地耳草样品,均由贵阳中医学院陈德媛研究员鉴定为为藤黄科植物地耳草 *Hypericum japonicum* Thunb. 的全草。药材来源见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

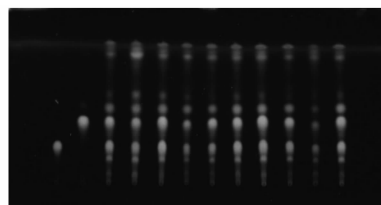
**2.1.1 对照品溶液的制备** 取异槲皮苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液,作为异槲皮苷对照品溶液。另取槲皮苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液,作为槲皮苷对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取地耳草药材粉末 0.1 g,置具塞锥形瓶中,加入乙醇 10 mL,超声处理 10 min,取出,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

**2.1.3 薄层色谱条件及其结果** 照薄层色谱法(2010 年版《中国药典》一部附录 VI B)试验<sup>[8]</sup>,吸取上述两种溶液各 5~7  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(16:0.5:3)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液,105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点清晰。置紫外灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。结果表明,10 批不同产地地耳草药材与对照品比较均能出现相同 Rf 值斑点。见图 1。

### 2.2 异槲皮苷、槲皮苷含量测定

**2.2.1 色谱条件** Diamosil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  200 mm,5  $\mu\text{m}$ ),以甲醇-0.1% 磷酸溶液(42:58)为



1. 异槲皮苷对照品;2. 槲皮苷对照品;3~12. 10 批地耳草样品

图 1 地耳草药材薄层鉴别

流动相,检测波长 350 nm,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 精密称定异槲皮苷对照品 10.45 mg 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,制得 0.209 0 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 异槲皮苷对照品储备液。精密称定槲皮苷对照品 15.31 mg 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,制得 0.306 2 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 槲皮苷对照品储备液。分别取异槲皮苷对照品储备液(0.209 0 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)6 mL、槲皮苷对照品储备液(0.306 2 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)3 mL 至 25 mL 量瓶,加甲醇溶解并定容至刻度,得异槲皮苷质量浓度为 0.050 16 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>、槲皮苷质量浓度为 0.036 74 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

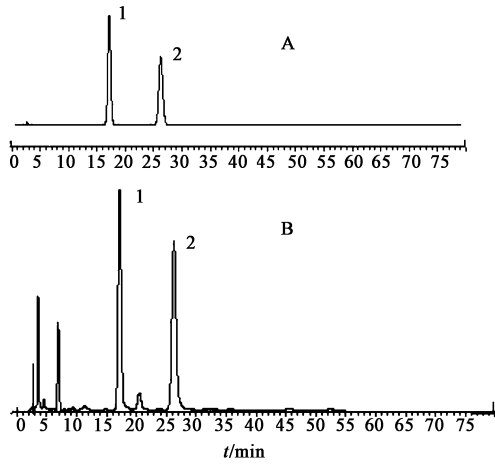
**2.2.3 供试品溶液的制备** 取地耳草粉末(过四号筛)约 0.3 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入甲醇适量,超声处理 30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 标准曲线的绘制** 分别精密吸取异槲皮苷、槲皮苷混合对照品溶液(异槲皮苷 0.050 16 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>、槲皮苷 0.036 74 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)1,2,4,6,8,10,12,14  $\mu\text{L}$  进样,按上述色谱条件测定色谱峰面积,以峰面积 A 对进样量( $\mu\text{g}$ )进行线性回归计算,得线性回归方程为  $A_{\text{异槲皮苷}} = 2.9 \times 10^6 X - 58\ 142$  ( $R^2 = 0.999\ 3$ ),  $A_{\text{槲皮苷}} = 3.1 \times 10^6 X - 75\ 102$  ( $R^2 = 0.999\ 4$ )。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取异槲皮苷、槲皮苷混合对照品溶液(异槲皮苷 0.050 16 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>、槲皮苷 0.036 74 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)10  $\mu\text{L}$ ,连续进样 6 次测定,异槲皮苷、槲皮苷峰面值的 RSD 分别为 0.14%,0.17%,表明仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 取供试品溶液(1 号样品),分别于 0,4,8,24 h 进样测定,异槲皮苷、槲皮苷峰面积值 RSD 分别为 0.82%,1.0%,表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

**2.2.7 重复性试验** 对同一批地耳草药材(1 号样品)平行制备 6 份供试品溶液,分别进样测定,按干燥品计算其异槲皮苷、槲皮苷含量,其 RSD 分别为 1.3%,1.1%,表明该方法的重复性良好。



A. 混合对照品; B. 样品; 1. 异槲皮苷; 2. 槲皮苷

图2 混合对照品及样品液相色谱

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取地耳草粉末(1号样品)约0.15 g,共6份,每份等量加入异槲皮苷、槲皮苷对照品,按2.5.3项下进行样品制备并测定,计算回收率。异槲皮苷的平均回收率为99.39%,RSD 1.85%,测定结果见表2;槲皮苷的平均回收率98.98%,RSD 2.76%。测定结果见表3。

**2.2.9 样品测定** 按2.2.3项,对10批地耳草药材进行测定,每批平行测定2份,测定结果见表1。

表1 药材来源及样品含量测定  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 

No.	产地	收集日期	异槲皮苷	槲皮苷
1	贵阳市花溪久安	2010-10	5.437 5	6.095 6
2	贵州省水城市郊	2010-08	4.685 5	4.169 7
3	贵阳市乌当区新场乡	2011-07	5.494 4	8.092 9
4	安徽省亳州	2011-08	1.664 2	2.207 6
5	贵州黔东南州雷山县	2011-07	3.141 2	5.274 0
6	贵州黔东南州凯里	2011-09	5.062 3	4.379 6
7	贵州黔东南州榕江县	2011-08	5.136 1	7.903 1
8	贵州省都匀市郊	2011-09	4.718 6	6.293 9
9	贵州省都匀邦水	2011-10	1.120 1	0.729 9
10	贵州省清镇市郊	2011-10	5.362 0	7.729 7

根据10批样品测定结果分析,异槲皮苷含量最高值 $5.494 4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,平均值为 $4.182 2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;槲皮苷含量最高值 $8.092 9 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,平均值为 $5.287 6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,各批次样品中异槲皮苷、槲皮苷含量相差较大。考虑到异槲皮苷含量测定结果绝大多数在 $1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,故暂定地耳草含异槲皮苷不得少于0.1%,槲皮苷含量测定结果绝大多数在 $2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,故暂定地耳草含槲皮苷不得少于0.2%。

表2 异槲皮苷加样回收率试验测定

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.153 3	0.833 6	0.836 0	1.677 5	100.95		
0.155 6	0.846 1	0.836 0	1.651 9	96.40		
0.156 6	0.851 5	0.836 0	1.678 8	98.96		
0.155 3	0.844 4	0.836 0	1.666 8	98.36	99.39	1.85
0.156 1	0.848 8	0.836 0	1.690 0	100.62		
0.153 4	0.834 1	0.836 0	1.678 8	101.04		

表3 槲皮苷加样回收率试验测定

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.153 3	0.934 5	0.918 6	1.882 1	103.16		
0.155 6	0.948 5	0.918 6	1.873 3	100.68		
0.156 6	0.954 6	0.918 6	1.858 0	98.35		
0.155 3	0.946 6	0.918 6	1.822 6	95.36	98.98	2.76
0.156 1	0.951 5	0.918 6	1.862 9	99.21		
0.153 4	0.935 1	0.918 6	1.827 4	97.14		

### 3 讨论

分别以乙酸乙酯-甲酸<sup>[9]</sup>、乙酸乙酯-甲酸-水<sup>[8]</sup>等展开系统的不同配比进行了展开剂的选择,最终选定以乙酸乙酯-甲酸-水(16:0.5:3)上层溶液为展开剂进行测定。对薄层色谱鉴别进行了耐用性考察,即不同温度(高温40℃、室温、低温4℃),不同湿度(高湿、中湿、低湿),不同品牌薄层板(预制板、手铺板),结果表明在上述各条件下色谱行为基本一致,各斑点能较好的分离,说明本方法具有很好的环境耐用性。参照《中国药典》2010年版贯叶金丝桃中金丝桃苷含量测定方法<sup>[8]</sup>,对流动相进行选择,考虑到乙腈的毒性和价格<sup>[10]</sup>,故用甲醇-磷酸系统作为流动相,考察了不同比例的甲醇-0.1%磷酸,最终确定甲醇-0.1%磷酸(42:58)作为流动相。

### [参考文献]

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:598.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,1977:197.
- [3] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 2003年版. 贵阳:贵州科技出版社,2003.
- [4] 王海涛,彭金龙,张斌,等. 田基黄色素的提取及其稳定性[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):69.

# 黔产苗药石吊兰的 HPLC 指纹图谱研究

谭家华<sup>1</sup>, 张丽艳<sup>2\*</sup>, 徐昌艳<sup>2</sup>, 黄健<sup>2</sup>, 汪毅<sup>2</sup>, 杨玉琴<sup>2</sup>

(1. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

**[摘要]** 目的: 建立黔产苗药石吊兰的 HPLC 指纹图谱, 比较了贵州不同产地石吊兰的差异, 为科学评价石吊兰的质量提供参考依据。方法: 采用 HPLC 法, Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-0.05% 磷酸水为流动相梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 检测波长 334 nm。结果: 建立了黔产石吊兰药材的 HPLC 指纹图谱, 并对 12 批样品的相似度进行了比较, 标定了 15 个共有峰; 贵州不同产地石吊兰的主成分组成基本相同, 但各组分的含量有较大的差异。结论: 所建立的方法简便, 重复性良好, 特征性强, 可用于黔产石吊兰的 HPLC 指纹图谱测定, 并可为其今后规范药材资源及质量评价提供科学依据。

**[关键词]** 苗药; 石吊兰; 高效液相色谱; 指纹图谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0108-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013110108

## Study on HPLC Fingerprint of the Miao Medicine *Lysionotus pauciflorus* from Guizhou

TAN Jia-hua<sup>1</sup>, ZHANG Li-yan<sup>2\*</sup>, XU Chang-yan<sup>2</sup>, HUANG Jian<sup>2</sup>, WANG Yi<sup>2</sup>, YANG Yu-qin<sup>2</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;  
2. Guiyang College of Chinese Traditional Medicine, Guiyang 550002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the HPLC fingerprint of *Lysionotus pauciflorus* from Guizhou, and to compare the difference of *L. pauciflorus*, so as to provide scientific basis for quality evaluation of *L. pauciflorus*. **Method:** HPLC analysis was performed on a Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with the eluting system of gradient consisted of acetonitrile-0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was maintained at 30 ℃ and the detection wavelength was set at 334 nm. **Result:** The HPLC fingerprint was established and compared by 12 batch of samples similarity with 15 common peaks. The main

**[收稿日期]** 20120421(004)

**[基金项目]** 贵阳市科技局现代药业计划项目(筑科合同[2011204]13号); 贵州省优秀科技教育人才省长专项资金项目[黔省专合字(2011)80号]

**[通讯作者]** \*张丽艳, 教授, 从事中药、民族药质量控制及新药研究, Tel: 13984870641, E-mail: zly1964@163.com

[5] 王晓炜, 张大威, 魏小龙, 等. 田基黄的研究进展[J]. 中国现代药物应用, 2009, 22(3): 183.

[6] 王永刚, 杨立伟, 苏薇薇. 田基黄药材指纹图谱研究[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(7): 1001.

[7] 蒋佳雯, 徐文芬, 杨亮, 等. 秋海棠属药材的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 40.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北

京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 34, 215.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 159.

[10] 郑丽会, 茅向军, 许乾丽, 等. HPLC 法测定润燥止痒胶囊中游离蒽醌的含量[J]. 中国药物警戒, 2011, 6: 327.

[责任编辑 顾雪竹]