

HPLC 测定不同产地单芽狗脊中 山柰酚-3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷的含量

马秉智¹, 鞠海¹, 田雪峰¹, 王巍¹, 朱立平¹, 高增平^{2*}

(1. 中日友好医院药学部, 北京 100029; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定单芽狗脊中山柰酚 3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷含量的方法。方法: HPLC 条件为 Diamonsil™ C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μ m) 色谱柱, 流动相乙腈-水 (30:70), 检测波长 265 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 $^{\circ}$ C。结果: 9 个产地单芽狗脊中山柰酚 3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷的质量分数范围为 0.05% ~ 0.43%。结论: 该法简便、准确、专属性强, 可用于单芽狗脊中山柰酚-3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷的含量测定。

[关键词] 单芽狗脊; 山柰酚-3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0130-02

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120411.0913.007 **[网络出版时间]** 2012-04-11 9:15

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120411.0915.007.html>

Determination of Kaempferol 3, 7-*O*- α -*L*-dirhamnopyranoside in *Woodwardia unigemmata* from Different Habitats by HPLC

MA Bing-zhi¹, JU Hai¹, TIAN Xue-feng¹, WANG Wei¹, ZHU Li-ping¹, GAO Zeng-ping^{2*}

(1. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for the content determination of kaempferol 3, 7-*O*- α -*L*-dirhamnopyranoside in *Woodwardia unigemmata*. **Method:** HPLC was applied with a Diamonsil™ C₁₈ column by acetonitrile-water (30:70) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was at 25 $^{\circ}$ C and the UV detection wavelength was at 265 nm. **Result:** The content range of kaempferol 3, 7-*O*- α -*L*-dirhamnopyranoside from 9 different habitats was from 0.05% - 0.43%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and specific. It can be used for determination of kaempferol 3, 7-*O*- α -*L*-dirhamnopyranoside in *W. unigemmata*.

[Key words] *Woodwardia unigemmata*; kaempferol 3, 7-*O*- α -*L*-dirhamnopyranoside; HPLC

狗脊贯众来源于乌毛蕨科植物单芽狗脊 *Woodwardia unigemmata* (Makono) Nakai 和狗脊 *W. japonica* Sm. 带叶柄残基的干燥根茎^[1]。李玉洁等^[2]研究发现, 紫萁贯众和荚果蕨贯众醇提物对内毒素致小鼠全身炎症反应综合征模型有一定保护作用。

在化学成分方面, 狗脊贯众含有儿茶酚衍生物、山柰酚-3,7-二鼠李糖苷 (K390) 等多种黄酮类成分及鞣质、甾体、三萜等成分^[3-4]。在质量控制方面, 厉博文等^[5]建立了紫萁贯众中总多糖的含量测定方法, 结果发现, 紫萁贯众多糖含量因产地和采收期变化而不同。本文建立并测定了 9 个产地的样品中 K390 的含量, 为评价单芽狗脊药材质量提供。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (G1311A 四元泵、G1322A 在线脱气机、G1316A 柱温箱 G1314AVWD 检测器、Agilent Chem 工作站), 电子天平 (ER-182A, Tokyo Japan)。对照品 K390 (自制, HPLC 归

[收稿日期] 20111115(007)

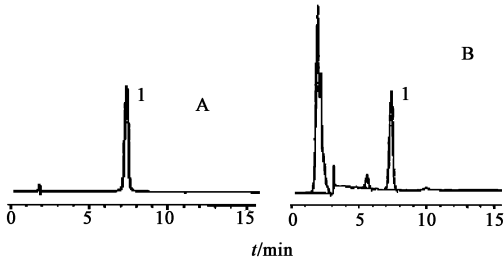
[第一作者] 马秉智, 硕士, 主管药师, 从事医院中药制剂研究与开发, Tel: 010-84205688, E-mail: mbz20052002@ yahoo. com. cn

[通讯作者] * 高增平, 博士, 教授, 从事中药新药研究与开发, Tel: 13661035777, E-mail: gaozengping2008 @ yahoo. com. cn

一化法测定纯度为 99.9%)符合含量测定要求。乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(30:70),流速 1.00 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 265 nm。对照品、供试品(四川)色谱图见图 1。



1. K390; A. 对照品; B. 供试品

图 1 K390 对照品供试品(四川)HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品 K390 适量,加甲醇制成 1 mL 含 16.88 μg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取单芽狗脊药材粉末(过 60 目筛)约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 锥形瓶中,加甲醇 25.00 mL,称定质量,回流提取 1 h,冷却至室温,用甲醇补足质量,摇匀,0.20 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系的考察 取 K390 对照品溶液,分别进样 5,10,15,20,25 μL,按上述色谱条件测定峰面积,并以峰面积(Y)对进样量(μg)进行回归,得标准曲线 $Y = 2983.8X + 27.45$ ($r = 0.9999$),表明 K390 在 0.0844 ~ 0.4220 μg 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液(16.88 mg·L⁻¹)10 μL,连续进样 5 次,K390 峰面积 RSD 1.13%,表明本法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液(购自四川成都市)分别于 0,3,6,9,12 h 进样 10 μL,测得样品中 K390 面积值的 RSD 2.22%,表明供试液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批样品(购自四川成都市),分别制备供试液 5 份,按含量测定方法测得峰面积并计算含量,结果 K390 含量的 RSD 1.85%,表明本法重复性良好。

2.8 回收率试验 取已知含量的样品(购自四川成都市),分别精密加入一定量的 K390 对照品溶液,挥干溶剂,按供试品制备方法制备并注入高效液相色谱仪,结果 K390 的平均回收率为 99.62%,

RSD 0.72%,结果见表 1。

表 1 加样回收率测定

No.	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
1	0.3449	0.3376	0.6850	100.74		
2	0.3490	0.3376	0.6823	98.73		
3	0.3473	0.3376	0.6839	99.70	99.62	0.72
4	0.3443	0.3376	0.6799	99.41		
5	0.3467	0.3376	0.6827	99.53		

2.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μL,按 2.1 项色谱条件测定,记录峰面积,计算 K390 的含量,结果见表 2。

表 2 不同产地单芽狗脊药材中 K390 的含量测定(n=3)

No.	样品来源	K390/%	No.	样品来源	K390/%
1	四川	0.06	6	河南	0.17
2	新疆	0.22	7	吉林	0.05
3	山西	0.07	8	山东	0.05
4	宁夏	0.08	9	北京	0.43
5	内蒙古	0.21			

3 讨论

作者前期化学成分分离时发现,单芽狗脊主要含有山柰酚类成分,山柰酚-3,7-O- α -L-二鼠李糖苷为其中之一,而且分离得到的量较多,因此选择它作为对照品,并测定它在药材中的含量。

购自北京平谷的单芽狗脊中 K390 含量最高,为 0.43%,吉林、山东的含量最低,为 0.05%。临床上虽然它们都做贯众用,但是 K390 含量差异明显,因此购买药材时不仅要注意品种,还应关注产地,这就验证了道地药材的科学性。

[参考文献]

- [1] 吴兆洪. 中国植物志. 第 4 卷. 第 2 分册[M]. 北京: 科学出版社,1999:203.
- [2] 李玉洁,杨庆,杨岚. 内毒素致小鼠 SIRS 模型建立及两种贯众醇提物对其保护作用的初步观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):187.
- [3] 谭文界,魏俊德,肖玉平. 单芽狗脊化学成分[J]. 中草药,1984,25(6):6.
- [4] 杨明惠,杨雪琼,张凤梅,等. 单芽狗脊蕨的化学成分[J]. 中草药,2009,40(10):1546.
- [5] 厉博文,张东,杨岚. 紫萁贯众中多糖的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):41.

[责任编辑 邹晓翠]