

HPLC 测定裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量

李才堂¹, 文萍¹, 郭琦丽², 虞金宝^{1*}

(1. 江西省中医药研究院, 南昌 330046; 2. 江西护理职业技术学院, 南昌 330029)

[摘要] 目的: 测定裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量。方法: 采用 HPLC, 色谱条件为 Dikma Diamonsil C₁₈ (钻石) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-0.1% 醋酸 (16:84) 为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 332 nm, 柱温室温。结果: 毛蕊花糖苷在 8.24~206 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r = 0.9995$), 加样回收率为 98.74%, RSD 为 2.31% ($n = 6$), 重复性 RSD 为 2.12% ($n = 6$)。结论: 该方法简便可行, 重复性好, 可用于裸花紫珠药材的质量控制。

[关键词] 裸花紫珠; 毛蕊花糖苷; 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)01-0084-03

HPLC Determination of Verbascoside in *Callicarpa nudiflora*

LI Cai-tang¹, WEN Ping¹, GUO Qi-li², YU Jin-bao^{1*}

(1. Jiangxi Institution of Trational Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanchang 330046, China;
2. Jiangxi Care Vocational and Technical College, Nanchang 330046, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of verbascoside in *Callicarpa nudiflora*. **Method:** HPLC was performed with chromatographic conditions as follows: Dikma Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase of acetonitrile-0.1% acetic acid (16:84), flow rate at 1 mL·min⁻¹, and the detection wavelength at 332 nm. **Result:** The linearity of verbascoside was good in the range of 8.24-206 mg·L⁻¹ ($r = 0.9995$). The average recovery was 98.74%, RSD was 2.31%, with good repeatability RSD was 2.12%, ($n = 6$) **Conclusion:** The method is simple, feasible and reproducible, and can be used to control the quality of C.

[收稿日期] 20110511(010)

[第一作者] 李才堂, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药研发及质量标准, Tel:0791-88501125, E-mail: lic963@sina.com

[通讯作者] * 虞金宝, 研究员, 从事中药制剂及质量控制, Tel:0791-88501404, E-mail: yjb2217@163.com

[参考文献]

- [1] 张淑贤, 管庆霞. 荛苳的化学成分及药理学研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2008, 21(5): 97.
- [2] 朱晓新, 李连达, 刘建勋, 等. 牡荆素鼠李糖苷对缺氧再给氧损伤心肌细胞的保护作用研究 [J]. 中国天然药物, 2003, 1(1): 44.
- [3] 李钦, 郑晓亮, 陈爱君, 等. 槲皮苷防治溃疡性结肠炎的药效学研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(3): 180.
- [4] 陶玲, 沈祥春, 王永林, 等. 复方荛苳冻干粉针剂对麻醉犬血流动力学的影响 [J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(2): 142.
- [5] 荣华, 李大锋. 复方荛苳冻干粉针剂治疗冠心病心绞

痛(心血瘀阻证)临床研究 [J]. 湖北中医杂志, 2008, 30(3): 14.

- [6] 俞建平, 张文婷, 祝明. 高效液相色谱法测定鱼腥草中槲皮苷的含量 [J]. 医药导报, 2008, 27(3): 331.
- [7] 潘莹. 大鼠口服川芎和通脉方后阿魏酸的药动学比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 193.
- [8] 童成亮, 刘晓东. HPLC 法测定犬血浆中牡荆素及药代动力学研究 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22(9): 1149.
- [9] 胡楠, 梁日欣, 王岚, 等. 延胡索提取物在大鼠血浆中的药代动力学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 186.

[责任编辑 蔡仲德]

nudiflora.

[Key words] *Callicarpa nudiflora*; verbascoside; HPLC

裸花紫珠为马鞭草科植物裸花紫珠的干燥叶,分布于海南、广东及广西等地^[1]。裸花紫珠味苦、微辛、性平;有消炎、解毒、收敛、止血之功效;主治化脓性炎症、急性传染性肝炎,外治烧、烫伤,外伤出血^[2]。裸花紫珠药材成分较复杂,含鞣质、挥发油、黄酮类化合物、酚类物质、糖类物质等多种化合物^[1];已从裸花紫珠中分离到紫珠萜酮、毛蕊花糖苷、芹菜素、大波斯菊苷和木犀草苷等化合物,木犀草素及其配糖体是裸花紫珠中一类含量较多的成分^[3]。实验前期采用高效液相色谱法测定裸花紫珠药材中游离型和结合型木犀草素的含量^[4]。实验中发现裸花紫珠中含有毛蕊花糖苷,且含量较高。毛蕊花糖苷具有抗炎和抗血小板聚集作用^[5],为裸花紫珠中抗炎、止血的活性成分之一。为了更好地控制该药材质量,并且为测定其制剂的含量作准备,实验中选择毛蕊花糖苷作为指标成分,采用高效液相法测定裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量。

1 仪器与试剂

HP-1100 高效液相色谱仪(美国:包括 1322A 在线脱气机,G1311A 四元梯度泵,DAD 检测器,HP 化学工作站),AG-135 电子天平(梅特勒-托利多),AL-204 电子天平(梅特勒-托利多)。

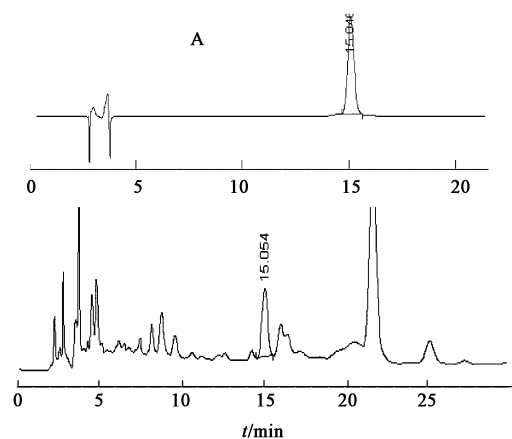
毛蕊花糖苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 1530-200101,供含量测定用);甲醇、乙腈(色谱纯);水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

裸花紫珠药材分别来源于海南、云南、广西,经江西中医学院杨武亮教授鉴定为马鞭草科植物裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* hook. et arn.

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱 Dikma Diamonsil C₁₈(钻石)(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 醋酸(16:84),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 332 nm,柱温室温。理论板数按毛蕊花糖苷计不低于 5 000。在上述条件下,供试品溶液中毛蕊花糖苷色谱峰与其他峰分离良好,峰形对称,色谱图见图 1。

2.2 线性关系的考察 精密称定毛蕊花糖苷对照品 5.15 mg,置 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,即得(浓度为 0.206 g·L⁻¹)。取对照品适量,分别稀释成 8.24, 16.48, 24.72, 41.20, 82.40,



A. 毛蕊花糖苷对照品;B. 裸花紫珠药材

图 1 裸花紫珠 HPLC

123.60 mg·L⁻¹。分别吸取 10 μL,注入液相色谱仪中,测定毛蕊花糖苷对照品峰面积,将样品浓度与峰面积进行回归处理,回归方程为 $Y = -5.54 + 13.85X$, $r = 0.9995$,结果表明毛蕊花糖苷对照品在 8.24 ~ 206 mg·L⁻¹ 样品浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定供试品溶液中毛蕊花糖苷峰面积,经统计学处理,RSD 1.74%。

2.4 稳定性试验 取供试品溶液于 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0 h 进样,分别测定毛蕊花糖苷峰面积,经统计学处理,RSD 1.64%。结果表明供试品溶液在室温下放置 12 h 基本稳定。

2.5 重复性试验 取裸花紫珠药材(广西产)粉末(过 40 目筛)各 0.3 g,共 6 份,按 2.2 制备方法处理,按上述方法和色谱条件操作,测定各供试品中毛蕊花糖苷的峰面积值,计算含量,经统计学处理,RSD 2.12%。结果表明此方法重复性良好。

2.6 加样回收率试验 取裸花紫珠药材(广西产)粉末(过 40 目筛)约 0.15 g,共 6 份,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,分别精密加入毛蕊花糖苷对照品溶液(25.50 mg·L⁻¹) 25 mL,按供试品溶液的制备方法操作。按上述色谱条件进样分析,测毛蕊花糖苷含量,计算回收率,得平均回收率 98.74%,RSD 2.31%,结果见表 1。

2.7 样品含量测定 取各来源裸花紫珠药材粉末(过 40 目筛)约 0.3 g(其中云南产的药材取样量约为 0.6 g),精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密

表 1 裸花紫珠中毛蕊花糖苷加样回收率试验

| 样品中毛蕊花糖苷量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率/% | 平均值/% | RSD/% |
|------------------|------------|------------|--------|-------|-------|
| 0.543 3 | 0.637 5 | 1.171 3 | 98.51 | 98.74 | 2.31 |
| 0.556 1 | 0.637 5 | 1.200 0 | 101.00 | | |
| 0.542 4 | 0.637 5 | 1.159 0 | 96.72 | | |
| 0.549 1 | 0.637 5 | 1.168 9 | 97.23 | | |
| 0.548 4 | 0.637 5 | 1.199 2 | 102.09 | | |
| 0.544 9 | 0.637 5 | 1.162 8 | 96.92 | | |

加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称重, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。取适量通过微孔滤膜(0.45 μm), 即得。海南产 I, 海南产 II, 云南产, 广西产含量分别为 0.43% ,0.09% ,0.04% ,0.35% 。

3 讨论

3.1 提取方式的选择 考察了加热回流法、超声提取法 2 种方法对毛蕊花糖苷含量测定的影响, 结果表明, 加热回流提取法略优, 但超声提取法操作简单, 可重复性好, 故选择超声提取法。本实验中, 参照药典及文献中所采用的溶剂^[6-9] 提取溶剂考察了 50% 甲醇、甲醇、70% 乙醇、乙醇, 结果表明 50% 甲醇提取效率较高, 故选择 50% 甲醇为提取溶剂; 提取溶剂用量考察了 10, 25, 50 mL, 结果表明, 25 mL 的 50% 甲醇溶液可提取完全, 故提取溶剂用量定为 25 mL; 提取时间考察了 15, 30, 45 min, 结果表明, 30 min 可提取完全, 故提取时间定为 30 min。

3.2 流动相的选择 在对流动相进行选择时考察了甲醇-水、甲醇-0.5% 磷酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.1% 醋酸水溶液 4 个溶剂系统。结果表明, 以乙腈-0.1% 醋酸水溶液为流动相, 所得色谱峰峰形好, 分离效果佳。

本试验结果显示, 不同产地裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量相差较大, 以海南产最高, 云南产最低, 这可能与不同产地的土质、气候等生态环境密切相关; 实验中同时还发现, 叶的含量明显高于枝(海南产 I 主要为叶, 海南产 II 为带叶的枝, 前者毛蕊花糖苷的含量约为后者的 5 倍), 这也证明《中国药典》规定“裸花紫珠”的药用部位为叶具有一定的科

学性, 同时也证明选用毛蕊花糖苷为定量指标是合理、科学的。

本测定方法可以准确、便捷地测定紫珠叶中毛蕊花糖苷的含量, 毛蕊花糖苷含量较高, 是裸花紫珠叶的主要成分。

[参考文献]

[1] 徐国钧. 中国药材学[M]. 上册. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 917.

[2] 中国药典. 一部[S]. 1977: 621.

[3] 王祝年, 韩壮, 崔海滨, 等. 裸花紫珠的化学成分[J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(4): 359.

[4] 李才堂, 文萍, 虞金宝, 等. 高效液相色谱法测定裸花紫珠药材中游离型和结合型木犀草素的含量[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(21): 2008.

[5] 黄才国, 李医明, 贺祥, 等. 玄参中苯丙素苷 XS-8 对兔血小板 cAMP 和兔血浆中 PGI₂/TXA₂ 的影响[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(8): 920.

[6] 张思巨, 刘丽, 于江泳, 等. HPLC 同时测定肉苁蓉药材中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(10): 740.

[7] 霍燕娟, 邓杏好. HPLC 同时测定壮元益生丸中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(15): 14.

[8] 夏鹏霄, 杨瀚春, 郭东桓, 等. 高效液相色谱法测定康力宝口服液中的麦角甾苷含量[J]. 解放军药学学报, 2006, 22(4): 300.

[9] 邹国栋, 程艳阳, 方铁铮, 等. HPLC 法测定紫珠叶中毛蕊花糖苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(1): 160.

[责任编辑 蔡仲德]