

HPLC-UV 测定不同产地及不同采收期酸枣叶中芦丁的含量

裴香萍,杜晨晖,闫艳*,沈佳兴,裴妙荣,白瑶
(山西中医学院,太原 030024)

[摘要] 目的:考察不同产地及不同采收期酸枣叶中芦丁的含量,以确定其最佳采收期,为酸枣叶的资源开发提供科学依据。方法:采用 HPLC, Diamonsil(钻石)C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 冰醋酸(34:66), 检测波长 257 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃。结果:芦丁在 0.221 6 ~ 2.216 μg 有良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 99.40% (RSD 2.42%, $n=6$); 酸枣叶中芦丁含量一般以 5~6 月含量最高, 7~8 月芦丁含量有所下降, 9~10 月又有所升高。结论:酸枣叶中芦丁的含量整体上随时间变化基本呈 U 字形趋势, 该方法准确、简便、稳定, 为酸枣叶的质量标准提供参考。

[关键词] 酸枣叶; 芦丁; 高效液相色谱法-紫外检测器

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0094-03

Determination of Rutin from Leaves of *Ziziphus jujuba* Gathered in Different Areas and Different Periods by HPLC-UV

PEI Xiang-ping, DU Chen-hui, YAN Yan*, SHEN Jia-xing, PEI Miao-rong, BAI Yao
(Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To study the content of rutin from the leaves of *Ziziphus jujuba* gathered in different areas and different periods for ascertaining the best harvest time and providing rational basis for the resource development. **Method:** The assay was performed on a Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μm) column by an isocratic elution with methanol-0.1% acetic acid (34:66) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection

[收稿日期] 20110329(010)

[基金项目] 山西省卫生厅科技攻关青年项目(20100124)

[第一作者] 裴香萍, 硕士, 副教授, 从事中药鉴定及中药质量标准的研究, Tel:0351-2272284, E-mail: peixp69@163.com

[通讯作者] * 闫艳, 硕士, 讲师, 从事中药复方药效物质基础研究及质量标准的研究, Tel:0351-2272284, E-mail: yanyan520_2000@163.com

[参考文献]

- [1] 宋·太平惠民和剂局. 太平惠民和剂局方[M]. 刘景源点校. 北京:人民卫生出版社, 1985:236.
- [2] 邓轶渊, 高文远, 陈海霞, 等. 中药复方合煎与分煎的差异性研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(12):1909.
- [3] 戎玲勤, 徐鲢. 中药配方颗粒临床使用评价[J]. 中医临床杂志, 2007, 19(1):57.
- [4] 王智民, 叶祖光, 肖诗鹰, 等. 对中药配方颗粒发展的几点建议和应用前景分析[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1):1.
- [5] 周嘉琳. 试论发展中药配方颗粒的重要意义[J]. 中

医杂志, 2007, 48(2):177.

- [6] 刘丽娜, 邱家学. 对中药配方颗粒发展的思考[J]. 上海医药, 2006, 27(10):444.
- [7] 王瑞, 鲁岚, 李颖伟, 等. 赤芍与白芍的药理作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7):112.
- [8] 李肖玲, 崔岚, 祝德秋. 没食子酸生物学作用的研究进展[J]. 中国药师, 2004, 7(10):767.
- [9] 王小逸, 史亦丽, 曾衍钧. 小檗碱的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(7):523.
- [10] 张璐, 冯育林, 王跃生, 等. 吴茱萸现代研究概况[J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(2):78.

[责任编辑 蔡仲德]

wavelength was at 257 nm. The column temperature was kept at 30 °C. **Result:** Rutin was linear in the range of 0.221 6-2.216 μg ($r=0.999 9$). The average recovery ($n = 6$) was 99.40% (RSD 2.42%). The content of rutin reached its maximum yields in May and June, however, the content drop down in July and August and rise again in September and October. **Conclusion:** This method was accurate, simple and stable. The content of rutin changing with time showed a U trend. It provided reference for quality evaluation criteria of the leaves of *Z. jujuba*

[**Key words**] leaves of *Ziziphus jujuba*; rutin; HPLC-UV

酸枣叶为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的叶。民间广泛将其加工成茶叶,具有利尿、促进胆酸合成、消炎等多种保健功能^[1-2]。据报道,酸枣叶提取物有明显的镇静、安神作用^[3]。1976年前苏联学者^[3]用2种方法从酸枣叶中分离出芦丁,测得其含量为1.5%~1.6%。李兰芳等^[5]利用薄层扫描法测定不同生长期叶中总黄酮及芦丁含量,芦丁含量最高可达2.257%。为了确定酸枣叶最佳采收期,控制酸枣叶的质量。本试验以酸枣叶中主要有效成分芦丁为指标,采用HPLC测定了山西省不同地区及不同采收期酸枣叶中芦丁的含量。

1 材料

1.1 仪器 美国 Waters2695 Alliance 系统,四元泵,真空在线脱气机,自动进样器,Waters2998 二级管阵列检测器,Empower 软件;FA2014 型电子分析天平;1/10 万天平(梅特勒公司)。

1.2 试剂 甲醇为色谱纯(天津科密欧试剂有限公司),水为乐百氏纯净水,其他试剂均为分析纯。

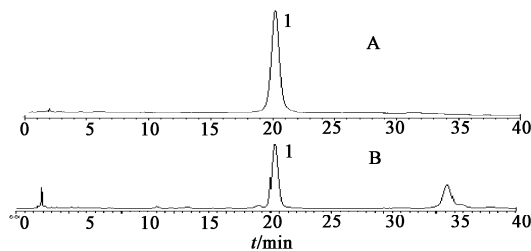
1.3 试药对照品 芦丁(批号 100080200306)购自中国药品生物制品检定所;实验样品均采自山西省各地区,经中药鉴定教研室杜晨晖讲师鉴定为酸枣 *Z. jujuba* leaves 叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil(钻石) C₁₈ ODS 色谱柱(4.6 mm×200 mm,5 μm)。流动相甲醇-0.1%的冰醋酸(34:66),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 257 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL。理论塔板数以芦丁计不低于 3 000。在上述色谱条件下各色谱峰分离良好,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的对照品芦丁适量,置 25 mL 的量瓶中,加甲醇使溶解,摇匀,制成 0.221 6 g·L⁻¹ 的芦丁对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备 取酸枣叶粉末约 0.5 g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称



A. 对照品;B. 供试品;1. 芦丁

图 1 对照品(A)与供试品(B)溶液的 HPLC

重,加热回流提取 1 h,放冷,用甲醇补足失重,滤过,精密吸取续滤液 25 mL,置蒸发皿中蒸干,残渣以水溶解,上聚酰胺(60~90 目)柱,以水洗脱,至流出液无混浊现象出现,再以 70% 甲醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密量取 0.5,1,2,3,4 mL 芦丁对照品储备液,加甲醇稀释至 5 mL 量瓶中,得 0.022 16,0.044 32,0.088 64,0.132 3,0.177 3 g·L⁻¹ 的对照品系列溶液,按 2.1 项下的色谱条件进行测定,以进样量(X)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $Y = 1\ 864\ 563.201\ 6X + 2\ 412.438\ 4$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明芦丁在 0.221 6~2.216 μg 呈良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验 取同一浓度对照品溶液(0.110 8 g·L⁻¹),按上述色谱条件,连续进样 6 次,以芦丁峰面积计算 RSD($n=6$)1.03%。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液(灵石)在上述相同色谱条件下,于 0,2,4,8,12 h 进样测定芦丁面积,计算 RSD($n=6$)0.94%。表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.4.4 重复性试验 取同一样品(灵石)6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件

进行测定,芦丁含量平均值为 $13.07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD ($n=6$) 2.45%。

2.4.5 加样回收率试验 取已知芦丁含量的同批样品(灵石) 6 份,每份 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入对照品 3.232 mg,按 2.3 项下方法制备所需溶液,并按上述色谱条件进行测定,结果见表 1。

表 1 酸枣叶中芦丁加样回收率测定

取样量 /g	含有量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.255 8	3.344 3	6.649 7	102.27	99.40	2.42
0.236 0	3.085 5	6.321 3	100.12		
0.241 6	3.158 7	6.358 9	99.02		
0.258 6	3.380 9	6.643 2	100.94		
0.259 4	3.391 4	6.618 1	99.84		
0.248 7	3.251 5	6.329 0	95.22		

注:加入量为 3.232 mg。

2.5 样品测定 取不同产地不同采收期的样品,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,外标两点法计算样品中芦丁的含量。结果见图 2。

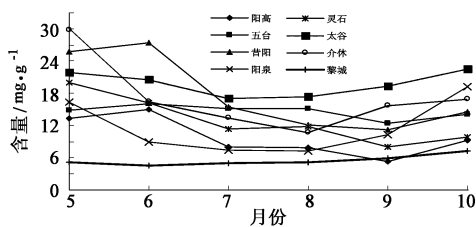


图 2 不同地区不同采收期酸枣叶中芦丁含量走势

3 讨论

3.1 色谱条件的选择 曾使用甲醇-0.04% 磷酸、甲醇-1% 冰醋酸、乙腈-水^[6-8] 等不同比例的流动相,分离效果较差;采用甲醇-0.1% 冰醋酸(34:66) 等度洗脱,柱温 30 ℃,能达到基线分离。且经多次试验发现柱温对样品中芦丁色谱峰的分离、色谱峰的峰

形及出峰时间有很大的影响。

3.2 测定结果及分析 山西省不同产区酸枣叶中芦丁的含量存在一定差异,差别最高可达 5 倍左右,以介休为代表的山西晋中地区酸枣叶中芦丁的含量以 5 月份含量最高,6~9 月份含量逐渐下降,在 10 月份又有所回升;以阳高为代表的山西雁北地区 6 月份含量最高,7~9 月份含量逐渐下降,在 10 月份又有所回升,基本呈 U 字形趋势。5~6 月份为酸枣开花时期,而 9~10 月份为酸枣果实成熟期。这 2 个时间段芦丁含量较高,可能与酸枣在这 2 个生理时期中体内化学成分不同的变化规律有关。2 个地区酸枣叶中芦丁含量相同时期存在差异的原因可能是山西北部纬度和海拔均较山西中部地区高,气候相对寒冷,植物生长较缓慢等多方面的因素影响所致。

[参考文献]

- [1] 吴树勋,张建新,徐涛,等. 酸枣(仁、叶、肉)与酸枣皂苷 A 对中枢神经系统作用的实验研究[J]. 中国中药杂志,1993,18(11):685.
- [2] 王身艳,刘清飞,秦明珠. 酸枣仁、叶、肉、根的研究进展[J]. 中草药,2000,22(11):794.
- [3] 赵新华,伊丽楠. 酸枣叶提取物对中枢神经系统作用的实验研究[J]. 时珍国医国药,2009,2(20):463.
- [4] 刘寿山. 重要研究文献摘要:第 2 卷[M]. 北京:科学出版社,1986:817.
- [5] 李兰芳,赵淑云. 不同生长期酸枣叶中总黄酮和芦丁的含量测定[J]. 中国中药杂志,1992,17(2):81.
- [6] 郑虹. HPLC 测定罗布白麻叶中的芦丁和槲皮素[J]. 华西药理学杂志,2008,23(6):727.
- [7] 王本富,彭燕,李冬,等. HPLC 测定白花蛇舌草注射液中芦丁的含量[J]. 华西药理学杂志,2009,24(5):532.
- [8] 杨瑞瑞,郭耀武. HPLC 法测定小蓟中芦丁的含量[J]. 现代中医药,2006,26(4):52.

[责任编辑 蔡仲德]