

# HPLC测定新疆不同产地唇香草中齐墩果酸和熊果酸的含量

施洋<sup>1,2</sup>, 徐墩海<sup>3</sup>, 田树革<sup>1,2\*</sup>

(1. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆名医名方与特色方剂学重点实验室, 乌鲁木齐 830011; 3. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立维药唇香草中齐墩果酸、熊果酸的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱 ODS C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 10 μm), 流动相甲醇-0.03 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液 (90:10, pH 3), 检测波长 214 nm, 流速 0.5 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。结果: 齐墩果酸在 0.4 ~ 1.2 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好,  $r=0.9996$ , 平均回收率 99.5%, RSD 1.19%; 熊果酸在 0.6 ~ 1.8 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好,  $r=0.9996$ , 平均回收率 102.3%, RSD 1.25%。结论: 本方法简单快捷, 适用于测定唇香草中齐墩果酸和熊果酸的含量。

[关键词] 唇香草; 高效液相色谱法; 齐墩果酸; 熊果酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0033-03

## Determination of Oleanolic Acid and Ursolic Acid in *Ziziphora Clinopodioides* by HPLC from Different Districts in Xinjiang

SHI Yang<sup>1,2</sup>, XU Tun-hai<sup>3</sup>, TIAN Shu-ge<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;  
2. Xinjiang Key Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi 830011, China;  
3. College of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract] Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid in Uygur medicine *Ziziphora clinopodioides*. **Method:** A ODS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 10 μm) column was adopted. The mobile phase consisted of methanol and 0.03 mol·L<sup>-1</sup> phosphate buffer (pH 3, 90:10). Detection wavelength was at 214 nm. The flowrate was 0.5 mL·min<sup>-1</sup>. The injection volume was 10 μL. **Result:** oleanolic acid was linear in the range was 0.4-1.2 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9996$ ). ursolic acid was linear in the range was 0.6-1.8 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9996$ ), and the linear relationship is accurate. The average recovery ( $n=6$ ) of oleanolic acid was 99.5% (RSD 1.19%) and ursolic acid was 102.3% (RSD 1.25%). **Conclusion:** The method was simple, feasible and reproducible, and can be used for the simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid in *Z. clinopodioides*.

**[Key words]** *Ziziphora clinopodioides* Lam.; HPLC; oleanolic acid; ursolic acid; determination

[收稿日期] 2010-04-19

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金(200821130)

[第一作者] 施洋, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分筛选

[通讯作者] \* 田树革, 教授, 硕士生导师, 多年从事新疆中药、民族药活性成分研究, Tel: 15999441880, E-mail: tianshuge@hotmail.com

维药唇香草 *Ziziphora clinopodioides* Lam 为唇形科植物, 维吾尔名称为苏则<sup>[1-2]</sup>。本品为多年生半灌木状草本, 喜生于低山坡、草地及干旱坡地上, 分布于新疆、前苏联、蒙古及中亚地区亦有分布。性味辛凉、微苦, 具有强心利湿、理气化痰、消炎散结的功效, 维吾尔医将唇香草长期用于临床治疗冠心病、心绞痛、气管炎、肺脓肿的复方中<sup>[3]</sup>, 具有明显改善冠心病患

者的心肌缺血缺氧症状,动物实验结果证实该药可明显延长缺氧小鼠模型的生存时间,具有很好的抗心肌缺血缺氧作用<sup>[4]</sup>。天香丹颗粒为新疆医科大学附属中医医院院内制剂,具有益气补虚,和血通络,化痰散结的功效,临床上长期用于治疗冠心病、胸闷胸痛、气短、心悸、眩晕等症,具有良好的临床疗效,对天香丹颗粒的研究主要集中在临床药理学方面。唇香草为天香丹颗粒组方的主药,经前期查阅相关文献及预实验已知唇香草中含有齐墩果酸和熊果酸,现通过对新疆 8 个不同产地唇香草中齐墩果酸和熊果酸的含量测定,以为天香丹颗粒建立科学的质量标准提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 仪器** LC-6AD 高效液相色谱仪,SPD-20A 型紫外检测器,CBM-20A 色谱工作站(岛津公司)。XS105 型 1/10 万电子天平(梅特勒-托利多),AL204 型 1/万电子天平(梅特勒-托利多),KQ-200KDE 型高功率数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

**1.2 试剂** 齐墩果酸、熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110709-200304,110742-200516 含量测定用)。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

**1.3 样品** 唇香草采摘于新疆 8 个不同产地(阿勒泰、吉木萨、木垒、阜康、乌拉泊、雅玛里克山、水西沟、后峡鹰沟),经新疆医科大学中医学院李永和主任药师鉴定为唇形科植物唇香草 *Ziziphora clinopodioides* Lam. 的样品标本存于新疆医科大学中维药展览馆。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 ODS C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 10 μm),流动相甲醇-0.03 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液(90:10, pH 3),检测波长 214 nm,流速 0.5 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。在上述色谱条件下,齐墩果酸和熊果酸在混标和样品中分离效果良好,空白无干扰,见图 1~2。

**2.2 混合对照品溶液的配制** 分别精密称取齐墩果酸、熊果酸对照品适量,以甲醇配制成 2.0 g·L<sup>-1</sup> 的齐墩果酸和 3.0 g·L<sup>-1</sup> 的熊果酸混合对照品溶液,摇匀。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称定不同产地的唇香草粗粉 10.0 g,以甲醇 100 mL 为溶剂,超声提取

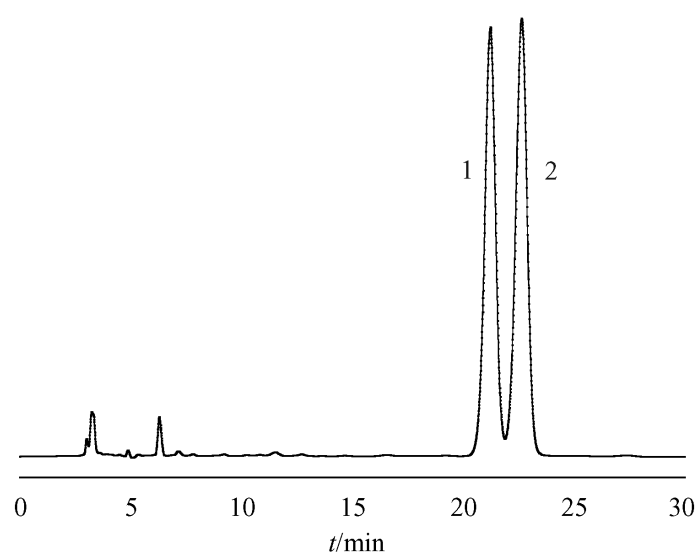


图 1 齐墩果酸、熊果酸混标分离  
1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸

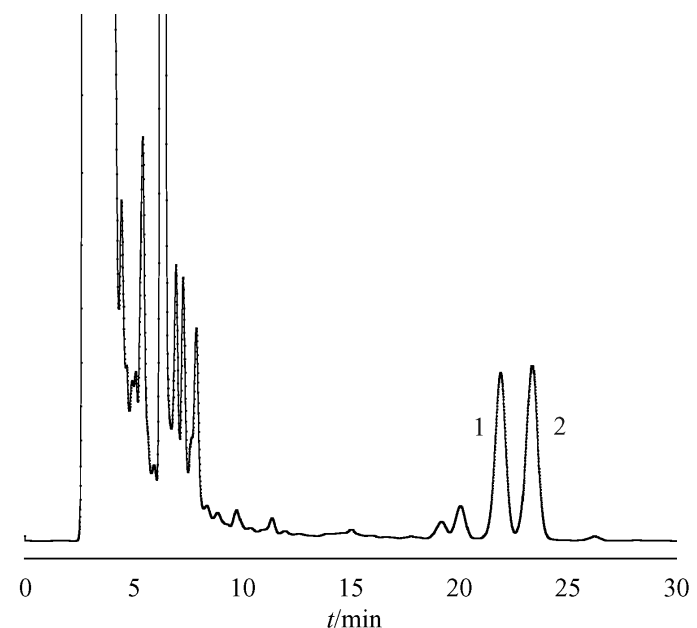


图 2 唇香草样品分离  
1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸

30 min, 过滤并转移至 100 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。分别吸取上述各溶液 10 μL,进样,以浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,进行线性回归,齐墩果酸线性回归方程为  $Y = 5.14 \times 10^6 X - 1.10 \times 10^5$ ,  $r = 0.9996$ ;熊果酸线性回归方程为  $Y = 3.69 \times 10^6 X - 1.13 \times 10^5$ ,  $r = 0.9996$ 。

**2.5 精密度试验** 精密吸取含混合对照品溶液 10 μL,按上述色谱条件测定,连续进样 6 次。测定齐墩果酸和熊果酸峰面积积分值,RSD 分别为 1.53% 和 1.13%。实验结果表明,该方法精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 精密吸取混合对照品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 24 h 进样,测定齐墩果酸和熊果酸的峰面积积分值,RSD 分别为 1.40% 和 1.58%。实验结果表明,供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 精密称定乌拉泊唇香草药材粗粉

6 份,按 2.3 项下方法操作,按上述色谱条件测定含量。齐墩果酸、熊果酸峰面积的 RSD 分别为 1.86% 和 1.62%。实验结果表明,该方法测定齐墩果酸和熊果酸含量准确可靠。

**2.8 回收率试验** 分别取已知含量的乌拉泊唇香草 6 份,每份约 5.0 g,各加 3.80 mg 齐墩果酸对照品和 5.92 mg 熊果酸对照品,样品按 2.3 项下方法处理后测定,标准曲线法计算含量,计算加样回收率。齐墩果酸和熊果酸平均回收率结果见表 1,2。实验结果表明,该方法测定齐墩果酸和熊果酸含量准确可靠。

表 1 齐墩果酸回收率实验

No.	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	5.00	3.80	3.80	7.64	101.1	99.5	1.19
2	5.00	3.80	3.80	7.59	99.7		
3	5.00	3.80	3.80	7.51	97.6		
4	5.00	3.80	3.80	7.58	99.5		
5	5.00	3.80	3.80	7.56	98.9		
6	5.00	3.80	3.80	7.61	100.2		

表 2 熊果酸回收率实验

No.	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	5.00	5.88	5.92	12.01	103.5	102.3	1.25
2	5.00	5.88	5.92	11.93	102.1		
3	5.00	5.88	5.92	11.83	100.5		
4	5.00	5.88	5.92	11.95	102.5		
5	5.00	5.88	5.92	12.03	103.8		
6	5.00	5.88	5.92	11.87	101.2		

**2.9 不同产地唇香草中齐墩果酸和熊果酸含量测定的结果** 不同产地的唇香草按 2.3 项下方法处理后测定 5 次,求均值,按标准曲线法计算含量。齐墩果酸和熊果酸含量测定结果见表 3,4。

表 3 不同产地唇香草中齐墩果酸的含量

产地	齐墩果酸平均峰面积	齐墩果酸含量 /mg·g <sup>-1</sup>
雅玛里克山	939 875	2.044
木垒	1 269 928	2.686
后峡鹰沟	671 643	1.522
阜康	1 527 370	3.187
阿勒泰	1 805 110	3.728
水西沟	826 427	1.823
吉木萨	817 236	1.805
乌拉泊	584 660	1.352

表 4 不同产地唇香草中熊果酸的含量

产地	熊果酸平均峰面积	熊果酸含量 /mg·g <sup>-1</sup>
雅玛里克山	442 386	1.505
木垒	567 703	1.845
后峡鹰沟	797 717	2.468
阜康	1 038 346	3.119
阿勒泰	874 975	2.677
水西沟	982 832	2.969
吉木萨	876 970	2.682
乌拉泊	699 089	2.201

### 3 讨论

本实验以 HPLC 同时测定唇香草中齐墩果酸和熊果酸的含量,分离效果理想,重复性好,简便快捷。对新疆 8 个不同产地的唇香草中齐墩果酸和熊果酸进行含量测定后发现,不同产地的唇香草中齐墩果酸和熊果酸的含量存在着明显差异。这可能是由于唇香草在新疆不同的生长地区,受到温度、湿度、土质、光照、海拔、纬度、昼夜温差等生长环境因素的影响所造成的。同时说明欲通过测定唇香草中某些特质组分的含量,为唇香草建立科学的质量标准仍存在一定的困难,因此对唇香草质量标准的建立依然需要深入系统的研究,探寻更为科学、客观的参考标准。

### [参考文献]

- [1] 刘勇民,沙吾提·伊克木.维吾尔药志[M].上册.乌鲁木齐:科技卫生出版社,1999:446.
- [2] 米吉提·胡达拜尔地,潘晓玲.新疆植物志[M].第四卷.乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2004,7(4):326.
- [3] 陈希元,于晖.唇香草抗心肌缺血药理作用得研究[J].新疆药讯,1982,(2):66.
- [4] 安冬青,胡金霞,赵明芬,等.天香丹对冠心病病人血管内皮生长因子及相关因子的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(8):662.

[责任编辑 顾雪竹]