

# HPLC 法测定益母草及其习用药材中芦丁的含量

候风飞<sup>1</sup>, 张海鸣<sup>2</sup>, 杨玉芳<sup>2</sup>, 姚雪花<sup>2</sup>, 杜树山<sup>2\*</sup>

(1. 中国中医药科技开发交流中心, 北京 100028;

2. 北京师范大学资源学院 教育部资源药物工程研究中心, 北京 100875)

[摘要] 目的: 建立益母草及其习用药材中芦丁的 HPLC 含量测定方法。方法: 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.5% 磷酸 (33: 67), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 254 nm, 柱温 30 °C。结果: 芦丁线性范围为 (0.075~0.375) μg,  $r = 0.9996$ , 平均回收率为 96.62%, RSD 为 0.99%。结论: 该方法快速、简便、准确、重复性较好, 结果可靠, 可用于控制益母草及其习用药材的质量。

[关键词] 益母草; 芦丁; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)10-0006-03

## Determination of Rutin in Motherwort Herb and Herbs with Same Action by HPLC

HOU Fengfei<sup>1</sup>, ZHANG Hai-ming<sup>2</sup>, YANG Yufang<sup>2</sup>, YAO Xue-hua<sup>2</sup>, DU Shu-shan<sup>2\*</sup>

(1. Exchange Center for Science & Technology Development, State Administration of Traditional Chinese Medicine,

Beijing 100028, China; 2. Center for Natural Medicine Engineering (Ministry of Education),

College of Resources Science & Technology, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of rutin in Motherwort Herb and herbs with the same action. **Methods:** Analyses were carried out on an Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column at 30 °C eluted with a mobile phase consisting of methanol-0.5% phosphoric acid (33: 67) and detected at 254 nm. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Results:** The linear range of rutin was 0.075~0.375 μg·mL<sup>-1</sup>. The average recovery was 96.62% (RSD= 0.99%). **Conclusion:** The method is simple and accurate, and can be used for the quality control of Motherwort herb and the herbs with the same action.

[Key words] Motherwort Herb; rutin; HPLC; assay

益母草具有活血调经、利尿消肿的功效。白花益母草蒙药名为查干-都尔日布勒吉-乌额布斯。其全草入药, 具有祛云退翳, 活血调经之功效。夏至草活血调经。参照《中国药典》2005 年版一部<sup>[1]</sup>, 我们建立了益母草及其代用品制剂中芦丁的 HPLC 含量测定方法, 该方法快速、简便、准确、重复性较好, 结

果可靠, 可用于益母草及其习用药材的质量控制。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Waters1515 高效液相色谱仪, Waters2487 紫外可见检测器, Mellennium<sup>32</sup> 色谱工作站 (美国 Waters 公司); KQ-250 型超声波清洗器, Mettler Toledo AG135 电子分析天平。

**1.2 试剂** 芦丁对照品 (购自中国药品生物制品检定所, 批号: 110731-200511), 甲醇 (色谱纯), 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

益母草 *Leonurus japonicus* Hoult. 的饮片 (安国市光明饮片加工厂, 批号: 040611)。白花益母草采于内蒙古鄂尔多斯市, 由鄂尔多斯市药品检验所高永

[收稿日期] 2009-03-04

[基金项目] 国家科技支撑计划课题 (2007BAI48B10); 北京市新医药学科群重点支撑项目 (xk100270569)

[通讯作者] \* 杜树山, Tel: (010) 62205282; E-mail: dushushan@ires.cn

厚主任药师鉴定为唇形科植物白花益母草 *Panzeria alaschanica* Kupr. 的干燥全草。夏至草采自北京师范大学校园内, 经北京师范大学资源学院杜树山副教授鉴定为唇形科植物夏至草 *Lagopsis supina* (steph.) IK. Cal 的干燥全草。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件及系统适应性** 色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.5% 磷酸(33:67), 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

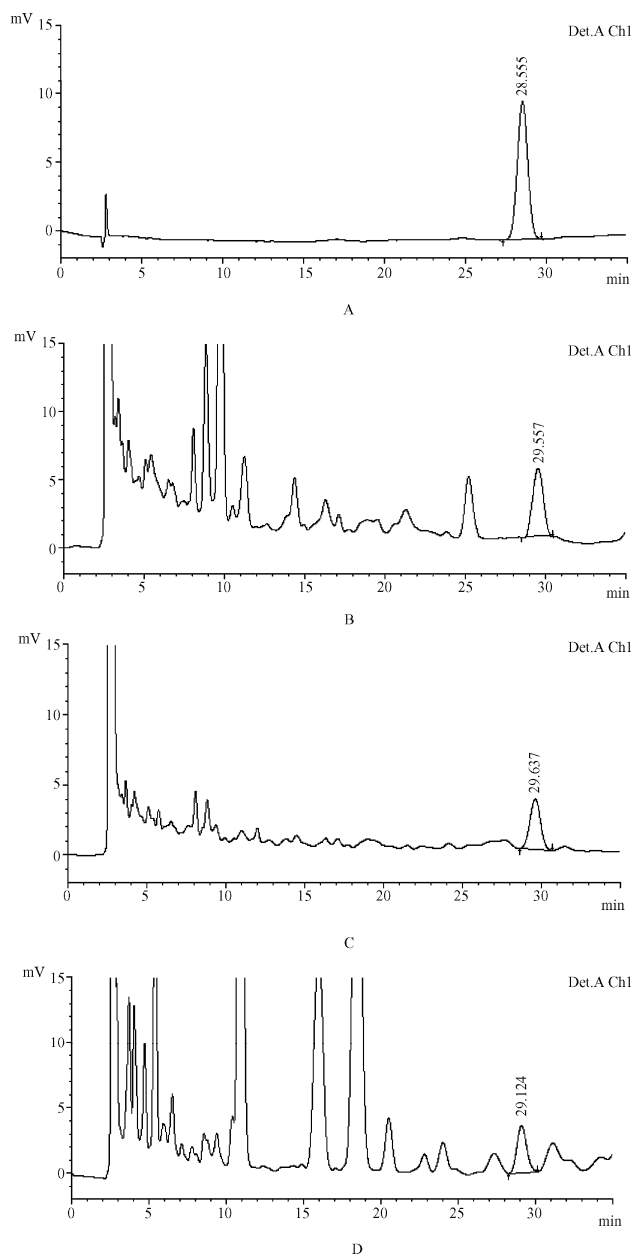


图 1 益母草及其习用药材供试品溶液 HPLC 图

A. 芦丁对照品; B. 益母草; C. 白花益母草; D. 夏至草

## 2.2 溶液的配制

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取芦丁对照品

3.125 mg, 置 25 mL 量瓶中用甲醇稀释至刻度, 摇匀作为储备液, 精密吸取储备液 10 mL, 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 含芦丁 0.025 mg)。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取药材粉末 2 g, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 加入 30 mL 甲醇称重, 超声提取 30 min, 取出放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得 3 种供试品。

**2.3 线性关系考察** 分别精密吸取 25 μg·mL<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液 3, 5, 8, 10, 13, 15 μL。在上述色谱条件下, 分别注入液相色谱仪测定。以芦丁的进样量 X(μg) 分别对相应峰面积积分值 Y 进行线性回归, 得回归方程:  $Y = 788\,206X - 8\,096.4$  ( $r = 0.999\,6$ )。结果表明, 对照品进样量在 0.075~0.375 μg 范围内, 芦丁峰面积与进样量呈现良好的线性关系。

**2.4 精密度试验** 分别精密吸取 25 μg·mL<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液各 10 μL, 重复进样 6 次, 结果芦丁峰面积的 RSD 为 1.86%, 精密度较好。

**2.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液(益母草), 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样测定, 结果芦丁峰面积的 RSD 为 1.76%, 表明益母草及其代用品供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取同一批益母草, 按“2.2.2 供试品溶液的制备”项下方法制备供试液共 6 份, 并在上述色谱条件下进行测定。结果样品中芦丁的平均含量为 2.37 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 1.16%, 重复性较好。

**2.7 加样回收率试验** 分别精密称取 6 份已知含量的同一样品粉末 1 g, 分别置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 每个具塞锥形瓶中分别准确加入相应量的对照品溶液, 按照供试品溶液的制备方案制备 6 份供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 结果见表 1。试验结果表明, 按本文方法测定样品中芦丁的含量, 加样回收率均符合要求。

表 1 益母草加样回收率实验考察结果

实验号	样品称量(g)	样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	实测总量(mg)	回收率(%)	均值(%)	RSD(%)
1	1.000 3	0.096 1	0.100 0	0.193 39	97.29		
2	0.975 0	0.093 6	0.100 0	0.188 65	95.05		
3	0.946 9	0.091 0	0.100 0	0.186 82	95.82		
4	1.042 7	0.100 2	0.100 0	0.197 39	97.19	96.6	0.99
5	1.011 4	0.097 2	0.100 0	0.1945 9	97.39		
6	0.999 9	0.096 0	0.100 0	0.192 96	96.96		

**2.9 样品含量测定** 精密吸取对照品溶液与3种药材的供试品溶液10 mL分别注入液相色谱仪,每样平行测定3份,按“2.2.2 供试品溶液的制备”项下方法制备供试液,并在上述色谱条件下测定,计算样品中芦丁的含量( $n=3$ ),结果益母草、白花益母草、夏至草中芦丁含量依次为0.168, 0.096, 0.152  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

供试品溶液制备考察了不同超声处理时间以及不同体积提取溶剂的提取方法,结果表明提取溶剂量为30 mL,超声提取30 min可提取完全。

取芦丁对照品溶液适量,经紫外光谱扫描,其最大吸收波长为254 nm。因而选择检测波长为254 nm。

唇型科植物白花益母草、益母草、夏至草均为治疗妇科病良药,且疗效较好。因此对3种药材中有效成分芦丁的含量进行测定,对今后指导有效用药提供了依据。含量测定结果表明,益母草所含芦丁

最多。夏至草中芦丁的含量与益母草相差无几。本实验从芦丁的含量角度为充分利用益母草、白花益母草、夏至草等唇形科中药资源提供了依据。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 203.
- [2] 白 丽, 陈晓辉, 徐新盛, 等. HPLC 测定葶藶分清丸中芦丁的含量[J]. 中成药, 2005, 27(8): 981-982.
- [3] 刘 彤, 史 浚, 李 婷, 等. HPLC 法测定木香顺气丸中芦丁的含量[J]. 天津药学, 2003, 15(1): 12-14.
- [4] 郭定海, 林 晓. HPLC 法测定橘红片中芦丁的含量[J]. 中国药品标准, 2004, 5(6): 58-60.
- [5] 高秋涛, 毕开顺. HPLC 法测定甘草附子汤中芦丁和桂皮酸的含量[J]. 中草药, 2003, 34(10): 913-914.
- [6] 裘飞君, 裘学强, 陈仁兴. HPLC 法测定胃炎宁颗粒中芦丁的含量[J]. 中国药业, 2002, 11(9): 39-40.