

HPLC 法测定柿蒂中 金丝桃苷与齐墩果酸的含量

郑一敏, 胥秀英, 杨艳红, 傅善权 (重庆工学院生物工程学院, 重庆 400050)

摘要 目的: 用高效液相色谱法测定柿蒂中 金丝桃苷与齐墩果酸的含量。方法: 金丝桃苷的含量采用 Shimadzu C₁₈ 柱 (150 × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 甲醇 - 0.2% H₃PO₄ 溶液 (45 : 55), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 350 nm, 用外标法定量; 采用 Shimadzu C₁₈ 柱 (150 × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 甲醇 - 0.2% H₃PO₄ 溶液 (90 : 10), 流速 0.8 mL/min, 检测波长 220 nm, 用外标法定量, 测定柿蒂中齐墩果酸的含量。结果: 金丝桃苷的线性范围 0.50 - 2.50 μg, $r = 0.9998$, 回收率 99.65%, RSD 1.24%; 齐墩果酸的线性范围 1.56 - 5.20 μg, $r = 0.9990$, 回收率 97.02%, RSD 2.84%。结论: 该方法简便, 快速, 线性关系良好, 可作为柿蒂的含量测定。

关键词 柿蒂; 金丝桃苷; 齐墩果酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0111 (2005) 03 - 0163 - 03

Determination of hyperoside and oleanolic acid in *Diospyros kaki* by HPLC

ZHENG Yi-min, XU Xiu-ying, YANG Yan-hong, FU Shan-quan (College of Bioengineer, Chongqing Institute of Technology, Chongqing 400050, China)

ABSTRACT **Objective:** To determine the content of hyperoside and oleanolic acid in *Diospyros kaki*. **Methods:** The HPLC method was used to determine the content of hyperoside and oleanolic acid in *Diospyros kaki*. The analysis of hyperoside was carried out on Shimadzu C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was MeOH-0.2% H₃PO₄ (45 : 55). The flow-rate was 1.0 mL/min. The detection wave-length was 350 nm. The analysis of oleanolic acid was carried out on Shimadzu C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was MeOH-0.2% H₃PO₄ (90 : 10). The flow-rate was 0.8 mL/min. The detection wave-length was 220 nm. **Results:** The liner range of hyperoside was 0.50 ~ 2.50 μg and gave a correlation (r) of 0.9999. The recovery was 99.65% and RSD was 1.24%. The liner range of oleanolic acid was 1.56 ~ 5.20 μg and gave a correlation (r) of 0.9990. The recovery was 97.02% and RSD was 2.84%. **Conclusion:** The method is simple, fast and had a good linear relationship. It is to determine the content of hyperoside and oleanolic acid in *Diospyros kaki*.

KEY WORDS *Diospyros kaki*; hyperoside; oleanolic acid; HPLC

柿蒂 *Diospyros kaki* L. F., 别名为柿丁, 为柿树科植物柿的花萼。其味苦、性温, 有降气止呃功能, 常用于胃寒气滞的呃逆。临床治疗顽固性或术后呃逆, 反流性胃炎等症^[1]。文献^[2]报道了柿蒂中没食子酸的含量测定, 有关柿蒂中 金丝桃苷和齐墩果酸等有效成分的含量测定的文献至今未见报道。本文采用高效液相色谱法对柿蒂中的 金丝桃苷与齐墩果酸的含量进行了测定, 现报道如下。

1 实验材料与方法

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪 (LC-10ATVP 二元泵, SCL-10AVP 控制器, SPD-10AVP 紫外检测器, CTO-10AVP 柱温箱, DGU-12A 在线脱气

机)。

柿蒂购于重庆市中药材市场, 由重庆市中药研究院生药栽培研究室李泉森副主任技师鉴定为柿蒂 *Diospyros kaki* L. F.。

齐墩果酸与 金丝桃苷对照品购于中国药品生物制品检定所, 批号为 0709-9803 和 1512-200202。

2 方法和结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 参照文献^[3]经筛选, 选用如下色谱条件:

金丝桃苷的色谱条件为: Shimadzu C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 甲醇 - 0.2% H₃PO₄ 溶液 (45 : 55), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 350 nm; 齐墩果酸色谱条件为 Shimadzu C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为 甲醇 - 0.2%

H₃PO₄ 溶液(90:10),流速 0.8 mL/min,检测波长 220nm。用外标法定量。

2.2 对照品及供试品溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取金丝桃苷与齐墩果酸对照品各一定量,用甲醇溶解,分别制成浓度为 0.25 mg/mL 和 0.26 mg/mL 的溶液,经 0.45 μm 滤膜滤过,滤液作为对照品溶液备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取柿蒂置 60℃ 烘箱干燥 8h,粉碎,称取 2.5g 加入 15 mL 甲醇,超声提取 30 min,滤过,残渣再按前述方法重复提取 2 次,合并提取液,在干燥箱烘干,然后称取该提取物一定量,用甲醇溶解制成 10.0 mg/mL 的溶液,0.45 μm 滤膜滤过,滤液作为供试品溶液备用。

2.3 金丝桃苷方法学考察试验

2.3.1 线性关系考察试验 分别精密量取上述金丝桃苷对照品溶液 2、4、6、8、10 μL 进样,以色谱峰面积(Y)对质量(X)进行回归,金丝桃苷的线性回归方程为 $Y = 1.711 \times 10^6 X + 131863$, $r = 0.9998$,线性范围为 0.50 ~ 2.50 mg/mL。

2.3.2 精密度试验 取上述对照品溶液 8 μL,连续进样 5 次,测得金丝桃苷的峰面积 RSD 为 0.45%,表明仪器进样精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取 2.2.2 供试样品溶液,分别在 0、2、4、8、16h 进样 10 μL,测定金丝桃苷的峰面积 RSD 为 2.01%,表明样品溶液在 16h 内稳定。

2.3.4 重现性试验 取同一批柿蒂药材,按供试品制备方法配制 6 份,分别进样 10 μL,测定含量 RSD 为 2.93%,表明该方法的重现性较好。

2.3.5 加样回收率试验 取已知含量的药材样品 5 份,分别加入与样品量之比约为 1:1 的金丝桃苷对照品,按样品制备方法和测试条件进行测定,计算

得回收率为 95.35%,RSD 1.92%。

2.4 齐墩果酸方法学考察试验

2.4.1 线性关系考察试验 分别精密量取上述齐墩果酸对照品溶液 6、10、12、15、20 μL 进样,以色谱峰面积(Y)对质量(X)进行回归,齐墩果酸的线性回归方程为 $Y = 114120X + 172$, $r = 0.9990$,线性范围为 1.56 ~ 5.20 mg/mL。

2.4.2 精密度试验 取上述对照品溶液 8 μL,连续进样 5 次,测得齐墩果酸的峰面积 RSD 为 0.77%,表明仪器进样精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取 2.2.2 供试样品溶液,分别在 0、2、4、8、16h 进样 10 μL,测定齐墩果酸的峰面积 RSD 为 2.88%,表明样品溶液在 16h 内稳定。

2.4.4 重现性试验 取同一批柿蒂药材,按供试品制备方法配制 6 份样品溶液,分别进样 10 μL,测定含量 RSD 为 2.20%,表明该方法的重现性较好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的药材样品 5 份,分别加入与样品量之比约为 1:1 的齐墩果酸对照品,按样品制备方法和测试条件进行测定,计算得回收率为 97.02%,RSD 2.84%。

2.5 样品含量测定 分别取供试品溶液,进样 10 μL 测定金丝桃苷与齐墩果酸的峰面积,由线性方程计算其含量(见表 1,对照品及样品图谱见图 1、图 2)。

表 1 柿蒂中 金丝桃苷与齐墩果酸的含量(g/100g)

样品编号	金丝桃苷	齐墩果酸
031218	0.0008	0.17
040609	0.0005	0.21
040723	0.0009	0.22

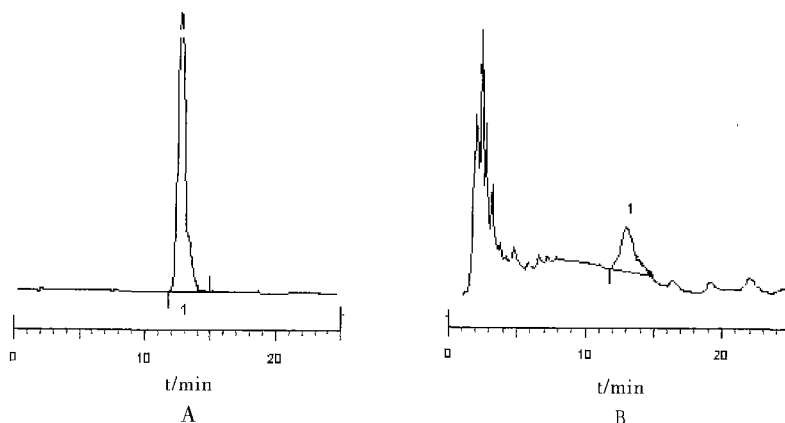


图 1 金丝桃苷对照品(A)及样品(B)图谱

1 - 金丝桃苷

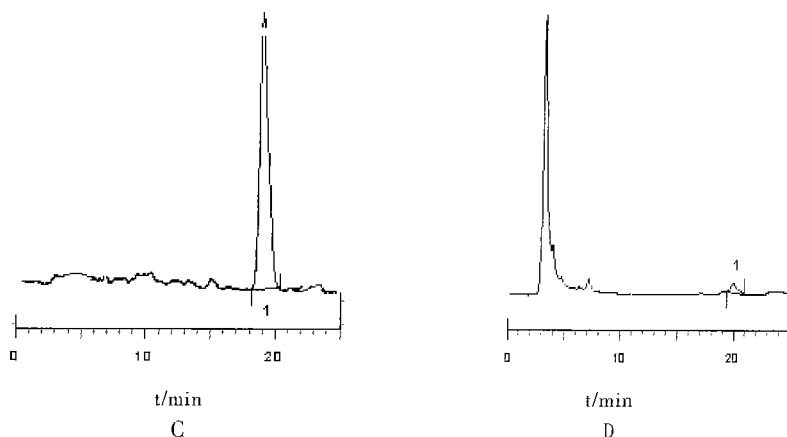


图2 齐墩果酸对照品(C)及样品(D)图谱
1 - 齐墩果酸

3 讨论

金丝桃苷与齐墩果酸是柿蒂中的活性成分,有关其含量测定方法迄今未见报道。本文采用 HPLC 法测定了柿蒂中金丝桃苷与齐墩果酸的含量,结果表明该方法稳定性和重现性均较好,杂质干扰小,是一种较理想的含量测定方法。由本实验结果可知,柿蒂中金丝桃苷的含量很低。

参考文献:

- [1] 肖培根主编. 新编中药志[M]. 第二卷,北京:化学工业出版社,2002:487.
- [2] 胡晓炜,宋绪峰. RP-HPLC 法测定柿蒂中没食子酸的含量[J]. 中国药事,2003,17(6):371.
- [3] 赵晶,高玮,徐帆. 几种含金丝桃素植物提取物的 HPLC 分析[J]. 中国药学杂志,2003,38(10):750.

收稿日期:2004-09-01

HPLC 法测定复方首乌补液中二苯乙烯苷的含量

徐立,唐凡,陈刚(中国人民解放军第113医院,浙江宁波315040)

摘要 目的:建立测定复方首乌补液中二苯乙烯苷(2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷)含量的高效液相色谱法。方法:hypersil ODS 柱,流动相为乙腈:水(30:70);流速 1.0mL/min,检测波长 320nm。结果:2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷线性范围为 25~400mg/mL, $r = 0.9995$;平均回收率为 99.4%。结论:本方法分离效果好,方法简便、快速,适用于该制剂的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;复方首乌补液;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2005)03-0165-03

Determination of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Fufang Shouwu Buye by HPLC

XU Li, TANG Fan, CHEN Gang (No. 113 Hospital of PLA, Ningbo 315040, China)

ABSTRACT Objective: To establish a HPLC method for determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Fufang Shouwu Buye. **Method:** A hypersil ODS column with a mobile phase composed of acetonitrile-water(30:70) was used. The detection wavelength was 320nm. **Results:** The linear response range of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside was 25~400mg/mL ($r = 0.9995$). The mean recovery was 99.4%. **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate.

KEY WORDS HPLC; 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; Fufang Shouwu Buye

复方首乌补液是部颁标准中药成方制剂第五册

作者简介:徐立(1968-),男,副主任药师. Tel:(0556)54053