

## 高效液相色谱法测定蜜桶花颗粒及其原植物来江藤中的麦角甾苷

倪 伟<sup>1</sup>, 周凌云<sup>1</sup>, 袁敏惠<sup>1</sup>, 何韵平<sup>2</sup>, 陈昌祥<sup>1</sup>

(1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204;

2. 云南黄家医圈制药厂, 云南 昆明 650000)

**摘要:**建立了用高效液相色谱法测定蜜桶花颗粒及其原植物来江藤中麦角甾苷含量的方法。实验采用 C<sub>18</sub> 柱, 以甲醇-0.5% 醋酸水 (体积比为 42:58) 为流动相, 在 334 nm 检测波长处检测。结果表明:麦角甾苷的进样量为 0.029 ~ 2.038 μg 时, 进样量与色谱峰面积有良好的线性关系 ( $r=0.9998$ ); 回收率为 90.2% ~ 93.8%; 方法的精密性好, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.34% ( $n=5$ )。方法快速、简便、准确, 所测结果稳定、重现性好, 可作为蜜桶花颗粒质量控制的一个检测方法。

**关键词:**高效液相色谱法; 麦角甾苷; 蜜桶花颗粒; 来江藤

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2004)03-0260-03

## Determination of Acteoside in Mitonghua Particles and *Brandisia hancei* by High Performance Liquid Chromatography

NI Wei<sup>1</sup>, ZHOU Lingyun<sup>1</sup>, YUAN Minhui<sup>1</sup>, HE Yunping<sup>2</sup>, CHEN Changxiang<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

2. Yunnan Pharmaceutical Co. Ltd. of Huang's Medical System, Kunming 650000, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatographic method was established for the determination of acteoside in Mitonghua particles and *Brandisia hancei*. The results showed that acteoside can be extracted more efficiently with butanol than with water. Therefore, both Mitonghua particles and *Brandisia hancei* were extracted with butanol. The extracts were analysed on an RP-18 column using a mixture of CH<sub>3</sub>OH-0.5% aqueous HAc (42:58, v/v) as the mobile phase with UV detection at 334 nm. A good linear response was observed within the range of 0.029 - 2.038 μg of analytes ( $r=0.9998$ ). The recoveries were 90.2% - 93.8% and the relative standard deviation was 0.34% ( $n=5$ ). This rapid, simple, accurate, and reproducible method is proposed for the quality control of Mitonghua particles.

**Key words:** high performance liquid chromatography; acteoside; Mitonghua particles; *Brandisia hancei*

来江藤 (*Brandisia hancei* Hook. f.) 为玄参科来江藤属植物, 分布于长江以南地区, 又称蜜扎扎、蜜桶花等。云南白族、彝族、哈尼族民间常将其用于治疗骨髓炎、风湿和肝炎等<sup>[1]</sup>。来江藤的化学成分已有报道<sup>[2]</sup>, 其中麦角甾苷 (acteoside) 为该植物的活性成分之一, 为此我们选其作为该植物药的一项质量指标。云南黄家医圈制药厂采用云南民间药用植物来江藤全株精制成蜜桶花颗粒用于治疗肝炎。本文采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定蜜桶花颗粒及其原材料来江藤中麦角甾苷的含量<sup>[3]</sup>, 具有分离效能高、灵敏、准确等优点, 且重现性较好。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器和试剂

**仪器:** HP Series 1100 高效液相色谱仪, 包括 HP 色谱工作站、HP 自动进样器、紫外二极管阵列检测器。

**试剂:** 样品预处理所需溶剂均为分析纯试剂, 高效液相色谱分析所需甲醇为色谱纯试剂, 水为重蒸纯净水。

**对照品:** 麦角甾苷为中国药品生物制品检定所提供 (1530-200101), 在确定的色谱条件下分离后采

用面积百分比法计算对照品纯度为 98.64%, 以下均按该含量计算。

蜜桶花颗粒及其原材料来江藤由云南黄家医圈制药厂提供。

## 1.2 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C<sub>18</sub>, 4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm; 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸水(体积比为 42:58), 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 334 nm; 外标法定量。

## 1.3 样品处理

对照品溶液的制备: 将麦角甾苷对照品用五氧化二磷真空干燥 24 h, 精密称取 2.952 mg, 用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 得麦角甾苷对照品溶液的质量浓度为 0.291 1 g/L。

供试品溶液的制备: ①将蜜桶花颗粒用五氧化二磷真空干燥 24 h, 精密称取样品约 1 g, 取 10 mL 蒸馏水溶解, 用水饱和的正丁醇萃取 4 次, 每次 10 mL。合并正丁醇萃取液, 回收至干, 再精密吸取甲醇 5 mL 溶解之, 过滤, 即得蜜桶花颗粒供试品溶液。②将植物原料粉碎, 过 40 目筛, 经五氧化二磷真空干燥 24 h。精密称取样品约 1 g, 用氯仿超声提取除去植物原料中低极性杂质, 提取 2 次, 每次用 50 mL 溶剂, 提取 10 min。弃去氯仿提取液, 用水饱和正丁醇超声提取 3 次, 每次用 50 mL 溶剂, 提取 20 min。合并正丁醇液, 回收至干, 精密吸取 5 mL 甲醇溶解, 过滤, 即得蜜桶花颗粒原料供试品溶液。

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品提取方法的选择

选择甲醇超声提取和水溶解后再用正丁醇萃取两种提取方法。结果表明: 用水作为溶剂溶解, 再用正丁醇萃取 3 次, 麦角甾苷提取更完全, 且样品在水溶液中溶解度也较好, 故选择此方法较为理想。

### 2.2 色谱流动相的选择

选择乙腈-甲醇-1% 醋酸水(体积比分别为 15:10:75, 5:20:75, 10:10:80)、甲醇-水(体积比分别为 40:60, 50:50)、甲醇-0.5% 醋酸水(体积比分别为 36:64, 40:60, 42:58)三个系统的不同比例溶剂作为流动相进行实验。结果发现, 用乙腈-甲醇-1% 醋酸水系统作为流动相, 样品峰前伸, 即使改变流动相中各成分的比例, 样品峰亦得不到改善; 用甲醇-水系统, 样品峰形较好, 但样品分离不理想; 用甲醇-0.5% 醋酸水(体积比为 42:58)系统作流动相时, 麦角甾苷对照品的色谱峰形较好, 出峰时间在 5 min 左右(图略), 样品色谱图(图 1)表明麦角甾苷峰与杂质峰分离较好, 能满足分析要求。

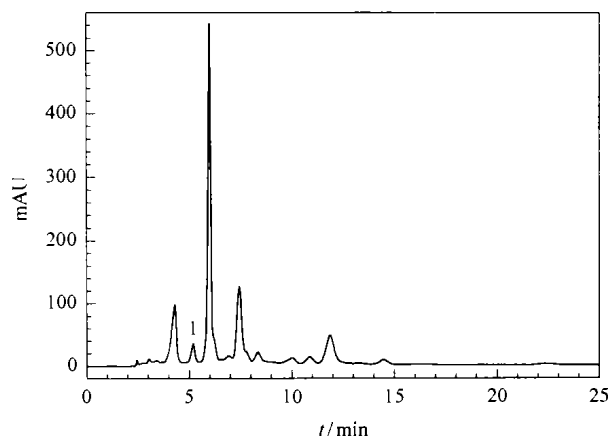


图 1 蜜桶花颗粒样品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of Mitonghua particle sample  
1. acteoside.

### 2.3 色谱条件的专属性

我们用二极管阵列检测器对蜜桶花颗粒及其原料药中 HPLC 分离后的麦角甾苷的峰纯度进行检测, 结果与对照品的检测结果完全一致, 说明该色谱条件的专属性较强。

### 2.4 线性范围的考察

用自动进样器分别精密量取对照品液 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 7 μL 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 测定其峰面积值, 并以峰面积值  $A$  对进样量  $C$  (μg) 进行回归, 得标准曲线方程为  $A = 18\,284.79C - 2.24$ ,  $r = 0.9998$ 。试验结果表明: 在进样量为 0.029 ~ 2.038 μg 时, 麦角甾苷的峰面积与进样量有良好的线性关系。

### 2.5 回收率试验

准确称量 6 个已知含量的样品, 分别定量加入对照品溶液, 按“1.3”节样品处理法制备样品液, 用 HPLC 分析, 测得 6 次平均加标回收率为 92.6%, 相对标准偏差(RSD)为 2.61%, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果  
Table 1 Results of recovery

Sample No.	Background/ μg	Added/ μg	Found/ μg	Recovery/ %
1	0.174	0.116	0.281	92.2
2	0.162	0.116	0.268	91.2
3	0.165	0.144	0.298	92.4
4	0.167	0.144	0.302	93.8
5	0.166	0.173	0.326	92.4
6	0.156	0.173	0.314	90.2

### 2.6 精密度测定

用所建立的检测方法测定同一样品, 根据测定结果计算, 麦角甾苷色谱峰面积的平均值为 569.74 mAU · s, RSD 为 0.79% ( $n = 5$ ); 其保留时间的平均值为 5.110 min, RSD 为 0.34% ( $n = 5$ )。结果表

明该检测方法重现性较好,仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取一供试品溶液于 0, 4, 8 h 分别进样, 麦角甾苷色谱峰面积的平均值为 577.39 mAU · s, RSD 为 0.99%, 表明样品供试溶液在 8 h 内稳定性良好。但随着时间的推移麦角甾苷容易转变。试验结果与文献[3]的报道结果一致。

### 2.8 蜜桶花颗粒的测定

分别对 6 个批号的蜜桶花颗粒按“1.3”节样品处理方法处理, 在选定的色谱条件下测定麦角甾苷峰面积, 按外标法计算其含量, 结果见表 2。

表 2 样品中麦角甾苷含量的测定结果 (n=3)

Table 2 Acteoside contents in Mitonghua particle samples (n=3)

Sample No.	Found/(mg/g)	RSD/%
020617	0.288	1.18
020320	0.256	1.57
001105	0.257	1.65
001102	0.290	0.86
000803	0.291	1.58
000802	0.252	0.82

### 2.9 药材的测定

分别对 3 个批号的来江藤按“1.3”节样品处理方法处理, 在选定的色谱条件下测定麦角甾苷峰面积, 按外标法计算麦角甾苷的含量, 结果见表 3。

表 3 药材中麦角甾苷含量的测定结果 (n=3)

Table 3 Acteoside contents in *Brandisia hancei* samples (n=3)

Sample No.	Found/(mg/g)	RSD/%
20010601	4.310	1.17
20010701	4.103	2.09
20010702	4.275	1.45

### 参考文献:

- [1] Ministry of Health, Ministry of Logistry, Kunming Military Area. Edition of Selected Yunnan Traditional Chinese Medicines. Beijing: Science Press (昆明军区后勤部卫生部编. 云南中草药选. 北京: 科学出版社), 1970. 659
- [2] He Zhendan, Wang Dezu, Yang Chongren. Acta Botanica Yunnanica (贺震旦, 王德祖, 杨崇仁. 云南植物研究), 1990, 12(4): 439
- [3] Zhang Siju, Chen Miaohua, Liu Li. Chinese Pharmaceutical Journal (张思巨, 陈妙华, 刘丽. 中国药学杂志), 1996, 31(6): 335

## 河北省津杨滤材厂

河北省津杨滤材厂已有二十多年的历史, 是我国最早生产固相萃取柱的专业厂家, 主要产品 PT-系列固相萃取柱已在多项研究工作中应用(在上千篇论文中被报道)。我厂目前可生产十多种不同规格和类型的萃取柱及微孔滤膜、固相萃取仪等产品。上述产品已广泛应用于公安、防疫、农业和科研等领域。为满足广大客户的要求, 最近我厂又开发了“瘦肉精”、“毒鼠强”、“农药残留”、“磺胺类药物”等检测专用柱。

为满足广大用户的需要, 我厂还开展来料加工等业务, 并能应客户要求定制各种规格、类型的固相柱及滤膜、萃取仪等, 同时提供各种萃取填料(键合相、高聚物、硅胶、氧化铝、树脂、活性炭等)。

我厂一贯奉行“视客户为上帝”的宗旨, 坚持优质低价的经营方针, 产品价格仅为进口产品的 1/3 ~ 1/5, 产品具有很高的性能价格比。

欢迎来函索取有关资料

垂询电话: (0317)7296716

手机: 13582704855

联系人: 张洪军

