

高效液相色谱法测定中药凌霄花中麦角甾苷、齐墩果酸和熊果酸含量

张桥^{1,2,3}, 沈娟^{1,2,3}, 柳于介^{1,2,3}, 毕宇安^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3}, 萧伟^{1,2,3*}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001;

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001;

3. 江苏省企业院士工作站, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的: 建立中药凌霄花中麦角甾苷、齐墩果酸、熊果酸含量测定方法。方法: 色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-18 流动相甲醇-0.1% 磷酸梯度洗脱, 检测波长: 0~30 min 为 334 nm, 30~60 min 为 210 nm。结果: 麦角甾苷、齐墩果酸和熊果酸 3 成分浓度分别在 0.025 9~0.258, 0.100~1.00, 0.104~1.04 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好线性关系, 平均加样回收率依次为 98.9%, 99.3%, 99.4%。结论: 可同时测定麦角甾苷、齐墩果酸和熊果酸含量, 可用于药材质量控制。

[关键词] 凌霄花; 麦角甾苷; 齐墩果酸; 熊果酸; 含量测定; 高效液相色谱法

凌霄花为常用中药, 收载于 2010 年版《中国药典》来源于紫葳科植物凌霄 *Campsis grandiflora* 或美洲凌霄 *C. radicans* 的干燥花, 具有凉血、化瘀、祛风的功效, 用于月经不调, 经闭癥瘕, 产后乳肿, 风疹发红, 皮肤瘙痒, 痤疮等。主要化学成分为三萜类、苯乙醇苷类、黄酮类等^[1]。关于凌霄花的含量测定方法, 文献报道的有薄层扫描法测定齐墩果酸含量^[2]。本文以脂溶性成分(齐墩果酸、熊果酸)和水溶性成分(麦角甾苷)为评价指标, 建立了凌霄花中 3 种成分的 HPLC 测定方法, 方法学考察结果表明, 该方法具有简便、准确、精密、重现性好等优点; 更客观地控制和评价凌霄花药材的质量。

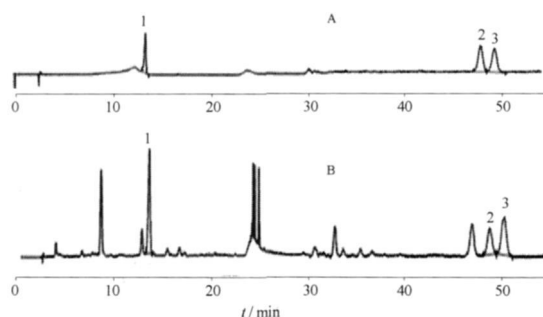
1 仪器和试剂

凌霄花经南京中医药大学吴启南教授鉴定为紫葳科植物凌霄 *Campsis grandiflora* 的干燥花; 齐墩果酸(批号 110709-9803)、熊果酸(110742-200111)、麦角甾苷(批号 111530-200706)均来自中国药品生物制品检定所; 石油醚(AR, 30~60℃)、甲醇(分析

纯)、乙醇(分析纯)、磷酸(分析纯), 南京化学制剂厂; 甲醇(色谱纯, TEDIA, USA); 水(重蒸馏, 自制); Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配自动进样器, 四元泵, MWD 检测器; 电子分析天平(Mettler AE240)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 A (甲醇), 流动相 B (0.1% 磷酸水溶液), 梯度洗脱: 0~20 min, 30%~50%; 20~21 min, 50%~85% A; 21~60 min, 85% A。流速 1 mL · min⁻¹, 柱温 30℃, 检测波长, 0~30 min 为 334 nm, 30~60 min 为 210 nm, 见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 麦角甾苷; 2. 齐墩果酸; 3. 熊果酸。

图 1 凌霄花对照品与样品 HPLC 图

[稿件编号] 20101111004

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09313-032)

[通信作者] * 萧伟, 高级工程师, 博士, 研究方向为中药新剂型的研究与开发, Tel (0518) 85521956, E-mail wzhrn@tm.com

[作者简介] 张桥, 硕士, 工程师, 从事中药新药研究与开发, Tel (0518) 85521949 E-mail dafuyuan_hube@163.com

2.2 对照品储备液的配制 精密称取麦角甾苷、齐墩果酸和熊果酸适量,加甲醇溶解并稀释成每 1 mL 中含各 0.258 8 mg 麦角甾苷、1.000 mg 齐墩果酸、1.040 mg 熊果酸的混合对照品贮备液。

2.3 供试品溶液的配制 取供试品粉末约 5 g 精密称定,加入石油醚 (30~ 60 ℃) 50 mL,室温浸泡 1 h (不定时振摇),过滤,药渣挥干溶剂,精密加入甲醇 50 mL,精密称定,超声 30 min,放至室温,用甲醇补足损失的质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密量取混合对照储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、10.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,进样 10 μL。测定峰面积,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,将所得数据进行线性回归。结果麦角甾苷回归方程为 $Y = 5.167 \times 10^3 X + 17.59$ $r = 0.999 9$ 线性范围 0.025 9~ 0.258 g · L⁻¹; 齐墩果酸回归方程为 $Y = 4.216 \times 10^3 X + 9.456$ $r = 0.999 8$ 线性范围为 0.100~ 1.00 g · L⁻¹。熊果酸回归方程为 $Y = 3.980 \times 10^3 X + 12.31$ $r = 0.999 8$ 线性范围为 0.104~ 1.04 g · L⁻¹。结果表明,在上述浓度范围内,3 成分浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取 10 μL 进样,连续进样 6 次,计算峰面积 RSD,结果麦角甾苷 RSD 1.8%,齐墩果酸 RSD 1.2%,熊果酸 RSD 1.1%。

2.6 回收率测定 采用加样回收法。称取已知含量的凌霄花样品约 2.5 g (批号 091021),6 份,精密称定,分别精密加入麦角甾苷、齐墩果酸、熊果酸对照品适量,按 2.3 项下处理得供试品溶液,吸取 10 μL 进样测定,计算。结果见表 1。

2.7 稳定性实验 精密称取凌霄花样品 (批号 091021) 按 2.8 项下处理得供试品溶液。分别在 0、3、6、9、12 h 进样 10 μL,计算 RSD,结果麦角甾苷 RSD 2.3%,齐墩果酸 RSD 3.4%,熊果酸 RSD 为 3.2%。

2.8 重复性试验 精密称取凌霄花样品 (批号 091021) 6 份,按 2.8 项下处理得供试品溶液。分别测定,计算含量的 RSD,结果麦角甾苷 RSD 1.9%,齐墩果酸 RSD 1.7%,熊果酸 RSD 2.1%。

2.9 含量测定 取 6 份不同编号的供试品粉末 5 g 精密稳定,按 2.3 项方法制备待测液。精密量取对照品溶液 (麦角甾苷 0.10 g · L⁻¹、齐墩果酸

表 1 麦角甾苷、齐墩果酸与熊果酸的加样回收率

名称	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
麦角甾苷	2 555 5	2 573 0	5 102 2	99.0	98.9	0.33
	2 720 4	2 592 8	5 280 5	98.7		
	2 591 0	2 493 0	5 052 2	98.7		
	2 520 2	2 523 0	5 031 1	99.5		
	2 512 3	2 544 5	5 022 4	98.6		
	2 636 4	2 571 2	5 175 5	98.7		
齐墩果酸	3 604 8	3 677 9	7 260 1	99.4	99.3	0.53
	3 837 4	3 756 4	7 561 3	99.1		
	3 654 9	3 845 1	7 455 5	98.8		
	3 555 0	3 432 8	6 982 2	99.8		
	3 718 9	3 533 5	7 254 1	100.0		
	3 763 0	3 654 0	7 371 5	98.7		
熊果酸	5 291 7	5 456 1	10 716 6	99.4	99.4	0.48
	5 633 2	5 576 0	11 165 8	99.2		
	5 365 3	5 378 9	10 745 7	100.0		
	5 218 6	5 432 2	10 598 6	99.0		
	5 459 3	5 479 0	10 931 2	99.9		
	5 524 0	5 644 8	11 102 3	98.8		

0.40 g · L⁻¹、熊果酸 0.42 g · L⁻¹) 与供试品溶液各 10 μL 进样、测定,结果见表 2。

表 2 6 批样品中麦角甾苷、齐墩果酸与熊果酸的含量 %

No.	麦角甾苷	齐墩果酸	熊果酸
091018 ¹⁾	0.113	0.152	0.213
091021 ¹⁾	0.102	0.144	0.211
071104 ¹⁾	0.092	0.128	0.188
081201 ¹⁾	0.122	0.156	0.228
090311 ²⁾	0.086	0.105	0.142
100309 ³⁾	0.073 6	0.117	0.191

注: 1) 产地为江苏; 2) 产地为浙江; 3) 产地为安徽。

3 结果与讨论

对中药凌霄花进行了系统的化学成分研究,从中分离出大量的麦角甾苷、熊果酸和齐墩果酸 (均经 MS、NMR 验证确认)。三者均为活性成分,选取三者作为检测指标更能全面控制药材质量。

本文首次建立的高效液相色谱法同时检测凌霄花中麦角甾苷、齐墩果酸与熊果酸的测定方法,实验结果表明,该方法的精密度、重复性、加样回收率良好,12 h 内稳定性较好,测定结果准确可靠,符合分析测定的要求,可以作为凌霄花质量控制方法,并供含凌霄花制剂质控参考。

实验表明采用石油醚 (30~ 60 ℃) 室温浸泡的方法可以除去大量杂质,麦角甾苷、熊果酸和齐墩果



酸 3种成分未见损失,从而大大提高分析结果准确性,延长色谱柱的使用寿命。

[参考文献]

[1] 赵谦,廖茅川,郭济贤.凌霄花化学成分与抗生育活性[J].天

然产物研究与开发, 2002, 14(3): 1.

[2] 苏连杰,王静,李守义,等.凌霄花中齐墩果酸的含量测定
[J]. 中医医学报, 1996, (5): 38.

Simultaneous determination of acteoside, oleanolic acid and ursolic acid in flower of *Campsis grandiflora* by HPLC

ZHANG Qiao^{1,2,3}, SHEN Juan^{1,2,3}, LU Yujie^{1,2,3}, BI Yuyan^{1,2,3}, WANG Zhenzhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3*}

(1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process Technology for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

3. Enterprises Academic Workstations in Jiangsu Province, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective** To develop an HPLC method for the determination of acteoside, oleanolic acid and ursolic acid in flowers of *Campsis grandiflora*. **Method** The analysis was carried out on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-18 column eluted with methanol and 0.1% phosphoric acid in gradient mode. The detection wavelength was set at 334 nm at 0-30 min and 210 nm at 30-60 min. **Result** The peak areas and concentrations have a good linear relationship at 0.025-0.258 g·L⁻¹ for acteoside, 0.100-1.00 g·L⁻¹ for oleanolic acid and 0.104-1.04 g·L⁻¹ for ursolic acid, respectively. The average recoveries were 98.9%, 99.3% and 99.40%, respectively. **Conclusion** The method can determine the concentration of acteoside, oleanolic acid and ursolic acid simultaneously. It can be used for the quality control of flower of *C. grandiflora*.

[Key words] flower of *Campsis grandiflora*; acteoside; oleanolic acid; ursolic acid; assay; HPLC

doi 10.4268/cjmm.20110822

[责任编辑 丁广治]