

# HPLC法测定莲子心中芦丁的含量

曾建伟<sup>1</sup>, 朱晓勤<sup>1</sup>, 叶锦霞<sup>1</sup>, 蔡巧燕<sup>1</sup>, 林珊<sup>1</sup>, 林培玲<sup>2</sup>, 吴锦忠<sup>1,2</sup>

(1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建福州 350108 2 福建中医药大学药学院, 福建福州 350108)

**摘要:**目的 建立高效液相色谱(HPLC)法测定莲子心中芦丁的含量。方法 以 Ultimate C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为色谱柱, 流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(40:60), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 256 nm, 柱温为 30 °C。结果 芦丁进样量在 0.122~1.094 μg 范围内线性关系良好( $r=0.9999$ ), 平均回收率为 100.5%, RSD为 1.72% ( $n=6$ )。结论 本法简便、准确、可靠, 可作为莲子心中芦丁的定量分析方法。

**关键词:** 莲子心; 芦丁; HPLC

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-4610(2010)07-0007-02

## Determination of Rutin in Plumula Nelumbinis by HPLC

ZENG Jian-wei<sup>1</sup>, ZHU Xiao-qin<sup>1</sup>, YE Jin-xia<sup>1</sup>, CAI Qiao-yan<sup>1</sup>, LIN Shan<sup>1</sup>, LIN Pei-ling<sup>2</sup>, WU Jin-zhong<sup>1,2</sup>

(1. Academy of Integrative Medicine, Fujian University of TCM, Fuzhou, Fujian 350108, China

2. Department of Pharmacy, Fujian University of TCM, Fuzhou, Fujian 350108, China)

**Abstract:** Objective To establish an HPLC method to determine the content of rutin in Plumula Nelumbinis. Methods Ultimate C<sub>18</sub> column (250mm × 4.6mm, 5 μm) was used, the mobile phase was consisted of methanol-0.1% phosphoric acid solution (40:60) with a flow rate of 1.0 ml/min. The detective wavelength was 256 nm, and the column temperature was 30°C. Results The calibration curve was linear in the range of 0.122~1.094 μg ( $r=0.9999$ ). The average recovery was 100.5%, RSD = 1.72% ( $n=6$ ). Conclusion The method is simple, accurate, reliable, and suitable for the determination of rutin in Plumula Nelumbinis.

**Key words:** plumula nelumbinis; rutin; HPLC

莲子心为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn 成熟种子中的干燥幼叶及胚根, 具有清心安神, 交通心肾, 涩精止血之功效<sup>[1]</sup>。莲子心生物碱成分的研究报道较多, 但黄酮类成分的报道甚少。莲子心黄酮类成分有芦丁、金丝桃苷、木犀草素等, 其中芦丁具有降低毛细血管脆性和异常通透性作用, 常用作毛细血管性出血的止血药和动脉粥样硬化的辅助治疗药<sup>[2]</sup>。因此, 测定莲子心中芦丁的含量对于控制药材品质和确保临床疗效具有重要的意义。虽有测定莲子心中总黄

酮<sup>[3]</sup>和芦丁<sup>[4]</sup>含量的报道, 但未见采用 HPLC 法测定莲子心中芦丁含量的报道。本文建立的 HPLC 法, 简单、准确、可靠, 可以作为莲子心中芦丁的定量分析方法。

### 1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪 (包括自动进样器、柱温箱、2996 二极管阵列检测器、Empower 2 色谱工作站)。Sartorius CP225 D 电子天平。芦丁对照品 (批

基金项目: 福建省卫生厅重点项目 (编号: wzzd0901);

福建省中西医结合老年性疾病重点实验室开放课题资助项目 (编号: 2008J1004-45);

陈可冀中西医结合发展基金 (编号: CKJ2008082)

作者简介: 曾建伟, 助理研究员, Tel: 0591-22861586, E-mail: zjw\_tcm@qq.com

通讯作者: 吴锦忠, 教授

号: 10080-200806) 购自中国药品生物制品检定所。莲子心采自不同产地, 并经福建中医药大学杨成梓副教授鉴定为 *Nelumbo nucifera* Gaertn 成熟种子中的干燥幼叶及胚根。甲醇为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为实验室自制超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱 Ultimate C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (40:60); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 256 nm; 柱温: 30°C; 进样量: 10 μl

### 2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取芦丁对照品 10.13 mg 置 50 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 制成 0.2026 mg/ml 的对照品贮备溶液。精密吸取贮备溶液 3 ml 置 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成浓度为 60.78 μg/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取莲子心药材粉末约 2 g 精密称定, 加入甲醇 45 ml 回流提取 1 h, 滤过, 滤液转至 50 ml 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.3 系统适应性试验

分别吸取芦丁对照品溶液及供试品溶液各 10 μl 注入液相色谱仪。在此条件下, 芦丁峰达到基线分离, 理论板数以芦丁峰计不低于 3000 (见图 1、2)。

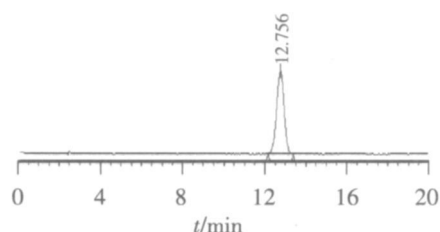


图 1 芦丁对照品溶液 HPLC 色谱图

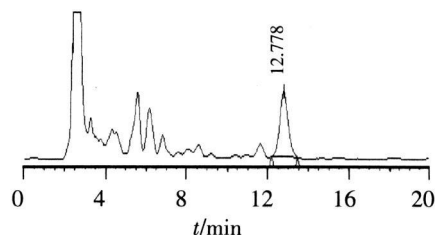


图 2 莲子心供试品溶液 HPLC 色谱图

### 2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 2、6、10、14、18 μl 进样, 测定峰面积。以峰面积  $Y$  为纵坐标, 进样量  $X$  为横坐标进行线性回归, 得回归方程为:  $Y = 2 \times 10^6 X + 393.45$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围为 0.122 ~ 1.094 μg。

### 2.5 仪器精密度试验

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品液 10 μl 连续进样 6 次, 结果芦丁峰面积的平均值为 1106421, RSD = 0.42%, 表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下同一供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 进样 10 μl, 结果芦丁峰面积的平均值为 1119035, RSD = 1.09%, 表明稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

取莲子心粉末, 按“2.2.2”项下方法操作, 平行制备 6 份供试品溶液, 分别测定, 结果芦丁含量的平均值为 0.152%, RSD = 1.14%, 表明重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取芦丁含量为 0.147% 的莲子心粉末约 1 g (6 份), 精密称定, 分别精密加入 7 ml 对照品贮备溶液, 按“2.2.2”项下方法操作, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率的平均值为 100.5%, RSD = 1.72%, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

| 取样量<br>(g) | 样品中芦丁含量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 测得总量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均值<br>(%) | RSD<br>(%) |
|------------|-----------------|-------------|--------------|------------|------------|------------|
| 0.982      | 1.4435          | 1.4182      | 2.8374       | 98.32      | 100.5      | 1.72       |
| 1.023      | 1.5038          | 1.4182      | 2.9625       | 102.7      |            |            |
| 1.014      | 1.4906          | 1.4182      | 2.8962       | 99.15      |            |            |
| 0.993      | 1.4597          | 1.4182      | 2.8754       | 99.83      |            |            |
| 0.997      | 1.4656          | 1.4182      | 2.9102       | 101.8      |            |            |
| 0.991      | 1.4568          | 1.4182      | 2.8870       | 100.8      |            |            |

(下转第 15 页)

### 3 讨论

3.1 在进行样品含量均匀度时,大多数质量标准都是规定:将样品置研钵中,加溶媒分次研磨后移入容量瓶,研钵用溶媒适量洗涤数次,洗液并入容量瓶中充分振摇,再用溶媒稀释至刻度,摇匀,滤过,然后再进行下一步的操作。这不仅费时费力,而且在转移过程中极易造成样品的损失。本法对样品的处理方法则采用了超声处理,对3个厂家的样品分别试用超声处理15、20及30 min,实验显示采用超声30 min的处理方法最接近样品的含量测定结果,所以本法采用了样品超声处理30 min,既操作简单且结果准确可靠。

3.2 因维生素 B<sub>2</sub>在稀氢氧化钠溶液溶解,本法曾参考文献[3],试用0.01 mol/L氢氧化钠溶液作为溶媒,但从试验结果看出,测定波长的选择与药典标准不一致,且样品的溶解情况及含量均匀度测定结果均未能达到实验要求,为保证与现行药典标准规定的一致性和连贯性,本法采用了以冰醋酸、4%氢氧化钠及水(按照5:30:965比例混合)为溶媒,以444 nm为测定波长。

(上接第8页)

#### 2.9 样品测定

取收集的4批样品,每批取3份,按“2.2.2”项下制备供试品溶液,精密吸取对照品溶液及供试品溶液各10 μl注入高效液相色谱仪,按外标法以峰面积计算芦丁的含量。结果见表2。

表2 莲子心中芦丁的含量测定结果(n=3)

| 产地   | 含量(%) | RSD(%) |
|------|-------|--------|
| 湖南湘潭 | 0.139 | 1.12   |
| 福建建宁 | 0.152 | 0.95   |
| 江西赣州 | 0.142 | 1.34   |
| 福建建瓯 | 0.146 | 1.27   |

### 3 讨论

#### 3.1 提取方法考察

以甲醇为提取溶剂,并以提取液中芦丁的含量为指标,比较了索氏提取、回流、超声3种不同提取方法,结果以回流提取效果最好。

#### 3.2 波长选择

芦丁对照品溶液在210~400 nm扫描后,发现有2个最大吸收峰,波长分别为256及355 nm,但256 nm处的吸光度>355 nm,故选择256 nm为芦丁的检测波长。

3.3 我国药典规定, A+1.80S为药品含量均匀度结果判定标准,如 A+1.80S≤15Q即样品的含量均匀度符合规定;若 A+S>15Q则不符合规定;如 A+1.80S>15Q且 A+S≤15Q则应另取20片(个)复试。本组3个厂家5批样品的含量均匀度测定结果均符合规定,但从实验结果可以看出,相同品种不同厂家的维生素 B<sub>2</sub>片的含量均匀度结果相差悬殊,药品质量参差不齐,且《中国药典》2005年版及2010年版对其都未作规定,因此,建议其质量标准增加此项检查,加强药品质量控制。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(二部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 666
- [2] 国家药典委员会. 中国药典(二部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 898
- [3] 李高生, 高爱军. 维生素 B<sub>2</sub>片含量测定方法的改进[J]. 江苏药学与临床研究, 2005, 13(4): 61-62

(收稿日期: 2010-04-09)

#### 3.3 流动相考察

水相单用水, 芦丁峰会拖尾, 加入1%醋酸, 峰反而前沿。但在水中加0.1%的磷酸, 峰形则变好, 对称因子为1.03, 芦丁峰达到基线分离, 故本实验流动相确定为甲醇-0.1%磷酸水溶液(40:60)。

3.4 含量测定结果表明, 4批不同产地的莲子心药材中芦丁的含量差异并不大。

3.5 通过与对照品进行比对, 从莲子心中只检测到芦丁, 并未检测到金丝桃苷和木犀草素。部分峰的全波长扫描图谱显示, 莲子心中仍含有多个具有黄酮特征吸收的色谱峰, 但具体为何种黄酮成分, 尚需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 193
- [2] 匡海学. 中药化学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 133-134
- [3] 夏稼红, 陶冉, 范乃兵, 等. 紫外分光光度法测定莲子心总黄酮的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(2): 116-118
- [4] 许雪琴, 余丽双, 陈国南. 毛细管电泳-柱端安培检测测定莲子心中荷叶碱、芦丁和金丝桃苷的含量[J]. 分析测试技术与仪器, 2008, 14(3): 140-143

(收稿日期: 2010-01-27)