

薄层扫描法测定不同种鹿衔草中高熊果酚苷含量

石娟¹, 刘瑞², 陈慧娟¹, 王军宪¹, 岐琳¹ (1. 西安交通大学药学院, 陕西 西安 710061; 2. 延安市人民医院药剂科, 陕西 延安 716000)

摘要:目的 建立一种分析鹿衔草中高熊果酚苷含量的方法。方法 采用双波长薄层扫描法进行测定。结果 高熊果酚苷点样量在 1.004 ~ 20.08 μg 范围内线性关系良好, 相关系数 $r=0.9996$ 。回收率为 97.33%, RSD 为 1.70%。结论 本法灵敏、简便、准确, 可用于鹿衔草的含量测定和质量控制。

关键词: 鹿衔草属; 高熊果酚苷; 薄层扫描法

中图分类号: R284; R917.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2003)05-0411-03

Determination of homoarbutin in *Pyrola* of different species by TLCS

SHI Juan¹, LIU Rui², CHEN hui-juan¹, WANG Jun-xian¹, QI Lin¹ (1. College of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xian 710061, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an assay for the quantitative determination of homoarbutin in *Pyrola* of different species.

METHOD A dual wavelength TLCS method was selected to determine the contents. **RESULTS** The linearity was obtained over the range of 1.004 ~ 20.08 μg ($r=0.9996$). The average recovery was 97.33% with RSD=1.70%. **CONCLUSION** The results showed that this method is sensitive, simple, specific and accurate for the determination of homoarbutin in *Pyrola* of different species and the control of quality of *Pyrola*.

KEY WORDS: *Pyrola*; homoarbutin; TLCS

鹿衔草为鹿蹄草科植物鹿蹄草 *Pyrola calliantha* H. Andres 或普通鹿蹄草 *Pyrola decorata* H. Andres 的干燥全草。具有祛风湿、强筋骨、止血的功效^[1]。鹿蹄草科鹿蹄草属约有 30 余种,我国有 27 个种,在 20 多个省都有分布,资源丰富。化学成分研究结果表明:鹿衔草中含有金丝桃苷、2"-O 没食子酰基金丝桃苷、高熊果酚苷、肾叶鹿蹄草苷等^[2,3]。不同种鹿衔草中高熊果酚苷的含量测定我们未见报道。为了研究不同种鹿衔草中高熊果酚苷的含量差异,进一步开发利用鹿衔草资源,我们采用薄层扫描法对陕西产三个种的鹿蹄草 *Pyrola calliantha* H. Andres,普通鹿蹄草 *Pyrola decorata* H. Andres 和紫背鹿蹄草 *Pyrola atropurpurea* Franch 中的高熊果酚苷进行了含量测定,为鹿衔草药材及其制剂质量控制提供了依据。

1 仪器与试剂

CS-930 型薄层扫描仪(日本岛津);UV-1 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂);硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工集团公司);所用试剂均为分析纯;高熊果酚苷对照品,从鹿衔草中提得,经 TLC,HPLC,UV,IR,NMR 鉴定并与已知对照品一致^[3],纯度为 99.93%;鹿蹄草(采自陕西太白县太白山)、普通鹿蹄草(采自陕西留坝县张良庙)和紫背鹿蹄草(采自陕西洋县华阳镇)植物标本均经本院徐文友教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液及供试品溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备:精密称取高熊果酚苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 约含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备:取鹿蹄草、普通鹿蹄草和紫背鹿蹄草的干燥全草粉末各约 1 g,精密称定,用甲醇索氏提取 5 h,提取液挥干溶剂,残渣用水 15 mL 溶解,用正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇提取液,挥干溶剂,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2 色谱条件与扫描条件

2.2.1 色谱条件:采用以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF₂₅₄薄层板,以氯仿-甲醇(10:3)为展开剂,直立上行法展

Tab 1 The recovery of homoarbutin

编号	取样量 / g	样品含量 / mg	对照品加入量 / mg	测得量 / mg	加收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
1	0.4983	2.770	2.7108	5.359	95.48		
2	0.4856	2.700	2.7108	5.310	96.27		
3	0.4998	2.779	2.7108	5.442	98.26	97.33	1.70
4	0.4962	2.759	2.7108	5.460	99.65		
5	0.4901	2.725	2.7108	5.354	96.99		

2.7 样品测定

分别取鹿蹄草、普通鹿蹄草和紫背鹿蹄草约 1 g,精密称定,按“2.1.2”方法制备供试品溶液,分别点样 5,10,10 μ L,高熊果酚苷对照品溶液 5.0 μ L 和 10.0 μ L,交叉点于同一薄层板上,按“2.2.1”色谱条件展开,晾干,确定斑点位置,扫描测定,按外标两点法计算供试品中高熊果酚苷的含量,测定结果见表 2。

Tab 2 The contents of homoarbutin in *Pyrola* of different species (n=5)

开,展开距离 10 cm,在紫外灯(254 nm)下检视定位。

2.2.2 扫描波长的确定:精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L,点于同一块薄层板上,展开,定位,在 200~400 nm 范围内做光谱扫描,由光谱图确定 $\lambda_s=284\text{ nm}$, $\lambda_R=340\text{ nm}$ 。

2.2.3 扫描条件:双波长反射法锯齿扫描,外标两点法,散射参数 SX=3,狭缝 1.2 mm $\times$ 1.2 mm。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取高熊果酚苷对照品溶液 1.0,5.0,10.0,15.0,20.0 μ L 点于同一薄层板上,按上述条件展开,晾干,紫外灯(254 nm)下确定高熊果酚苷斑点位置,扫描测定。以点样量为横坐标,斑点峰面积积分值为纵坐标,高熊果酚苷在 1.004~20.08 μ g 范围内线性关系良好。回归方程为 $Y=1738.23+3746.12X$, $r=0.9996$ 。

2.4 精密度和重现性试验

精密吸取高熊果酚苷对照品溶液 5 μ L,于同一薄层板上重复点样 5 个点,按上述条件展开,定位,扫描,测定积分值,其 RSD 为 0.51%($n=5$)。

精密吸取高熊果酚苷对照品溶液 5 μ L 于 5 个不同薄层板上点样。按上述条件展开,定位,扫描,测定积分值,其 RSD 为 2.41%($n=5$)。

取普通鹿蹄草约 1 g,精密称定,共称 5 份,照“2.1.2”方法分别制备供试品溶液。精密吸取对照品溶液 5 μ L 和 10 μ L,普通鹿蹄草供试品溶液各 10 μ L,以下按“2.7”方法操作,测定其中高熊果酚苷含量,其 RSD 为 2.13%($n=5$)。

2.5 斑点的稳定性试验

在硅胶 GF₂₅₄薄层板上分别对高熊果酚苷对照品 10 μ L 斑点和普通鹿蹄草 10 μ L 斑点进行稳定性考察,按上述条件展开,定位,每隔 1 h 测定峰面积积分值。结果表明:两者在 5 h 内稳定。对照品斑点 $Y=40628.14$,RSD=0.79% 供试品斑点 $Y=24473.23$,RSD=1.43%。

2.6 加样加收率试验

取已知含量的普通鹿蹄草粉末 0.5 g,精密称定,准确加入高熊果酚苷对照品溶液(1.004 mg/mL) 2.7 mL,按“2.1.2”方法制备供试品溶液,依“2.7”测定,测定结果见表 1。

样品	点样量 / μL	供试品量 / g	测得量 / mg	含量 / %	平均含量 / %	RSD / %
鹿蹄草	5.0	1.000 1.022 0.9780	7.2111 7.3072 7.2335	1.442 1.399 1.479	1.440	2.78
普通鹿蹄草	10.0	1.008 1.019 0.9955	5.5449 5.6533 5.6059	0.5500 0.5549 0.5631	0.5560	1.19
紫背鹿蹄草	10.0	0.9982 0.9826 1.026	3.0588 3.0704 3.1339	0.3064 0.3125 0.3054	0.3081	1.25

3 讨论

本实验比较了陕西产的鹿蹄草、普通鹿蹄草和紫背鹿蹄草中高熊果酚苷含量。试验结果表明：鹿蹄草中高熊果酚苷含量最高(1.44%)，其余两种分别为普通鹿蹄草0.556%和紫背鹿蹄草0.308%。说明不同种鹿蹄草中高熊果酚苷含量差异较大，其中中国药典收载鹿蹄草的两个种含量较高。

供试品溶液的提取溶剂选择甲醇，但甲醇提取物中干扰物质较多，甲醇提取物蒸干，残渣用水溶解后，再用正丁醇萃取制得供试品分离效果较好。

本实验比较了正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:5)上层、氯仿-甲醇(10:4)和氯仿-甲醇(10:3)三种展开剂，供试品薄层展

开后，在紫外灯(254nm)下检视，以氯仿-甲醇(10:3)为展开剂，斑点R_f值合适(0.37)，斑点分离情况良好，故选择氯仿-甲醇(10:3)为展开剂。

参考文献

- [1] 中国药典2000年版，(一部)[S].2000:265.
- [2] 王西发，张建民，曹爱兰等.鹿衔草的化学成分[J].中草药.1988,19(1):8.
- [3] 石娟，王军宪.鹿衔草化学成分的再研究.[J]天然产物研究与开发.2002,14(1):37.

收稿日期:2001-12-31