

# 河南不同产地夏枯草的质量对比分析

陈志红, 刘伟(河南中医学院分析测试中心, 郑州 450008)

**摘要:**目的 通过采用高效液相法测定河南不同产地夏枯草中熊果酸、齐墩果酸的含量来比较夏枯草质量的优劣, 为夏枯草的质量控制方法提供一定的依据。方法 测定熊果酸、齐墩果酸色谱条件为 Betasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸二氢钠缓冲液[取磷酸二氢钠 7.8 g 加水至 1 000 mL]-甲醇(14:86); 流速: 0.8 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 25 °C; 检测波长: 210 nm; 结果 熊果酸在 0.554 ~ 5.34 μg 内线性关系良好,  $r=0.9997$ , 平均回收率为 97.45%, RSD 为 0.92%。齐墩果酸在 0.28 ~ 2.24 μg 内线性关系良好,  $r=0.9994$ , 平均回收率为 97.61%, RSD 为 0.87%。结论 该方法简单、准确并且专属性强。

**关键词:**夏枯草; 熊果酸; 齐墩果酸; 质量分析

中图分类号: A 文献标识码: R 284.1 文章编号: 1007-7693(2009)04-0291-03

## The Quality Analysis of Defferent Areas of Henan's *Spica Prunellae*

CHEN Zhihong, LIU Wei( Center of Analysis and Measurement of Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of ursolic acid and oleanolic acid in different area of

作者简介: 陈志红, 女, 高级实验师 Tel: (0371)65575838 E-mail: chenzhtsy@126.com

Henan's *Spica Prunellae*. **METHODS** The ursolic acid and oleanolic acid separation was performed on a column: Betasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column, mobile phase was natrium dihydrogen phosphate solution (7.8 g → 1000 mL)-methanol (14:86), the flow rate was 0.8 mL · min<sup>-1</sup>, the column temperature was 25 °C, the detective wavelength was 210 nm. **RESULTS** The ursolic acid calibration curve showed good linearity in the range of 0.554 – 5.34 μg ( $r = 0.9997$ ), the average recovery was 97.45% (RSD = 0.92%). The oleanolic acid calibration curve showed good linearity in the range of 0.28 – 2.24 μg ( $r = 0.9994$ ), the average recovery was 97.61% (RSD = 0.87%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and sensitive.

**KEY WORDS:** *Spica Prunellae*; ursolic acid; oleanolic acid; quality analysis

夏枯草 (*Prunella vulgaris* L.) 是唇形科夏枯草属植物。因“此草夏至后即枯”故名,为中医临床常用的一味中药。夏枯草始载于《神农本草经》,列为下品,其味“苦辛寒,治寒热瘰疬,鼠瘻头痛,破症,散瘰结气,脚肿湿痹,轻身,一名乃东,生川谷”。其味苦、性寒、辛,具有清肝、明目、散结、消肿、止痛之功效。用于目赤肿痛、目珠夜痛、羞明流泪、头痛眩晕、瘰疬、瘰瘤、乳痈肿痛<sup>[1]</sup>。现代临床多用于治疗甲状腺肿大、淋巴结核、乳腺增生、高血压、肺结核、急性黄疸型传染性肝炎等疾病<sup>[2]</sup>。熊果酸、齐墩果酸为夏枯草中主要有效成分,它们的含量直接影响夏枯草质量。笔者采用高效液相法测定河南不同产地夏枯草中熊果酸、齐墩果酸的含量,为比较夏枯草质量提供科学依据。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 检测器(美国); METTLER AE240 十万分之一天平(瑞士)。

### 1.2 试药

熊果酸对照品(批号:110742-200516, ≥98%, 中国药品生物制品检定所); 齐墩果酸对照品(批号:709-8903, ≥98%, 中国药品生物制品检定所); 试验中所用甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯。

试验所用夏枯草样品分别采自于: 河南省桐柏县淮源镇、桐柏县朱庄乡、桐柏县城郊乡、桐柏县大河乡、驻马店泌阳县、洛阳栾川县(以上样品经河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为夏枯草 *Spica Prunella*)。

## 2 色谱条件

色谱柱: Betasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸二氢钠缓冲液[取磷酸二氢钠 7.8 g 加水至 1 000 mL]-甲醇(14:86); 流速: 0.8 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 25 °C; 检测波长: 210 nm。

## 3 方法与结果

### 3.1 对照品溶液的制备

精密称取熊果酸、齐墩果酸对照品各 13.60, 5.60 mg 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得每 1 mL 分别含熊果酸、齐墩果酸 0.544, 0.224 mg 的对照品溶液。

### 3.2 供试品溶液的制备

分别称取样品粉末 2.0 g, 精密称定, 置于索氏提取器内, 加入乙醚适量, 浸泡过夜, 水浴加热回流约 6 h, 回收溶剂, 残渣用石油醚(60 ~ 90 °C) 浸泡 2 次, 每次 15 mL, 每次 2 min, 倾出石油醚液, 残渣挥干残留溶剂, 用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 滤液作为供试品溶液。

### 3.3 系统适用性试验

分别取“3.2”项下供试品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 理论板数以熊果酸、齐墩果酸峰计分别不低于 4 000, 熊果酸、齐墩果酸峰与相邻色谱峰的分度度均不小于 1.5。对照品及供试品色谱图见图 1。

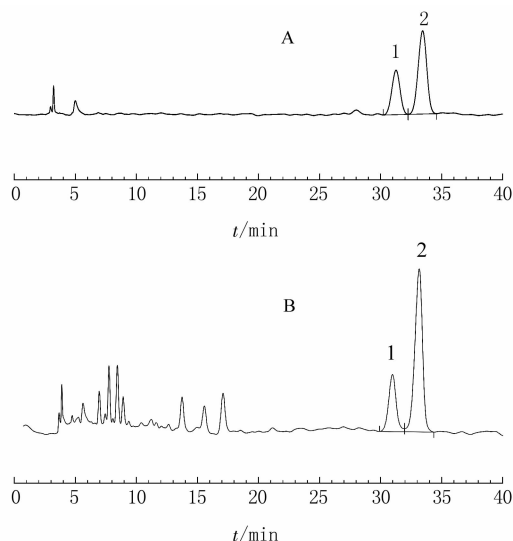


图 1 高效液相色谱图

A - 对照品; 2 - 供试品

Fig 1 HPLC Chromatogram

A - control; B - sample

### 3.4 标准曲线及线性范围试验

分别精密吸取对照品储备液(熊果酸 0.544 mg · mL<sup>-1</sup>、齐墩果酸 0.224 mg · mL<sup>-1</sup>) 适量, 稀释制

成每 1 mL 分别含熊果酸: 0.0544, 0.136, 0.272, 0.408, 0.544 mg · mL<sup>-1</sup>; 齐墩果酸: 0.028, 0.056, 0.112, 0.168, 0.224 mg · mL<sup>-1</sup>的溶液, 各取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 在上述色谱条件下测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 以对照品的量为横坐标, 分别绘制标准曲线, 得出回归方程分别为: 熊果酸  $Y = 694\ 662 X - 214\ 550$ ,  $r = 0.999\ 7$ ; 齐墩果酸  $Y = 691\ 342 X - 107\ 279$ ,  $r = 0.999\ 4$ 。熊果酸、齐墩果酸分别在 0.544 ~ 5.44, 0.28 ~ 2.24 μg 内呈良好线性关系。

### 3.5 仪器精密度试验

精密吸取“3.1”项下熊果酸、齐墩果酸对照品溶液 10 μL, 连续重复进样 5 次, 测定峰面积, RSD 分别为 0.66%, 0.78%, 表明仪器精密度良好。

### 3.6 稳定性试验

取“3.2”项下供试品溶液 10 μL, 分别于 0, 3, 6, 9, 12 h 进样, 测定熊果酸、齐墩果酸峰面积, 其 RSD 分别为 1.38%, 1.29%, 表明样品中熊果酸、齐墩果酸在 12 h 内稳定。

### 3.7 重复性试验

分别取同一批样品(驻马店泌阳)5 份, 各 2.0 g, 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述方法测定, 熊果酸、齐墩果酸的含量分别为 0.44% 和 0.11%, RSD 分别为 1.06%, 1.13%。

### 3.8 加样回收率试验

分别取已知含量的样品 1.000 g, 各 6 份, 精密称定, 按 1:1 的比例分别加入 2.64 mg 熊果酸、0.77 mg 齐墩果酸, 按上述方法提取并测定熊果酸、齐墩果酸的含量, 计算回收率, 熊果酸平均回收率为 97.45%, RSD 为 0.92%; 齐墩果酸平均回收率为 97.61%, RSD 为 0.87%。

### 3.9 样品测定

分别取 6 批夏枯草粉末各 2.0 g, 照“3.2”项下方法制备供试品溶液并测定熊果酸、齐墩果酸的含量, 结果见表 1。

表 1 含量测定结果( $n = 3$ )

Tab 1 Results of content determination( $n = 3$ )

样品产地	熊果酸含量/%	齐墩果酸含量/%
洛阳栾川县	0.07	0.02
驻马店泌阳县	0.44	0.11
桐柏县大河乡	0.35	0.10
桐柏县朱庄乡	0.27	0.07
桐柏县淮源镇	0.36	0.09
桐柏县城郊乡	0.40	0.10

## 4 讨论

4.1 本试验采用高效液相法对河南不同产地夏枯草中熊果酸、齐墩果酸的含量进行了测定, 结果表明, 河南驻马店泌阳县产夏枯草中熊果酸和齐墩果酸含量较高; 熊果酸、齐墩果酸均为夏枯草中有效成分, 因此, 判断夏枯草质量的优劣并不能根据某一种化学成分来判断, 而是要根据多种成分指标来判断夏枯草质量, 只有多种成分的综合指标好的才能判断其质量为优。

4.2 笔者所用的高效液相色谱条件是在参考有关文献<sup>[3-7]</sup>的基础上, 经过多次优化、筛选而确定的。曾采用甲醇-水(88:12), 乙腈-1%磷酸水(75:25), 甲醇-磷酸水(90:10), 乙腈-甲醇-水-乙酸胺(60:14:28:0.6), 甲醇-水-冰乙酸-三乙胺(85:15:0.4:0.2), 熊果酸、齐墩果酸分离效果不理想, 后采用磷酸二氢钠缓冲液[取磷酸二氢钠 7.8 g 加水至 1 000 mL]-甲醇(14:86), 基线平稳, 峰形、分离效果较佳, 分离度为 1.96, 达到基线分离, 可以对熊果酸、齐墩果酸准确定量。

## REFERENCES

- [1] China Bencao Editor Committee. China Bencao (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1988: 1642.
- [2] Jingsu New Medical College. Big Dictionary of China Tradit Drugs (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1977: 1872.
- [3] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 197.
- [4] LUO M H, ZHOU R B, TONG Q Z, et al. A study on the optimum picking period for *Prunella Vulgaris* L. cultivated in a standardized way [J]. J Hunan Coll Chin Tradit (湖南中医学院学报), 2005, 25(1): 12-14.
- [5] XUE M, ZHENG Y. Determination of ursolic acid in Linweidihuang capsule by HPLC analysis [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2005, 27(5): 616-617.
- [6] MA X P, JIANG C H, DING N, et al. Determination of ursolic acid in *Verbena officinalis* L. by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2005, 27(1): 88-89.
- [7] JU J H, ZHOU L, ZHENG R X, et al. Determination of ursolic acid in *Eriobotrya japonica* by HPLC analysis [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2003, 38(9): 657-659.

收稿日期: 2008-05-13