

液相色谱法测定杜仲叶提取物中京尼平苷酸含量

LC-328

摘要：本文参照食品国家标准 GB/T 40644-2021，利用岛津液相色谱仪 LC-16 分析了杜仲叶提取物中京尼平苷酸含量。标准品在 0.109~1.090 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.999。京尼平苷酸检出限为 0.010 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。标准品溶液连续进样 6 针，保留时间和峰面积 RSD 均小于 2%，精密度良好。样品加标回收率在 103.8~109.5% 之间，方法可靠。

关键词：HPLC 杜仲叶提取物 京尼平苷酸

杜仲叶是杜仲科植物杜仲的干燥叶，一般是在夏、秋二季枝叶茂盛时采收、晒干或低温烘干。杜仲叶作为一味中药材，具有降血脂、减少中性脂肪形成的作用。其提取物一般采用水提或醇提。杜仲叶提取物主要含绿原酸、杜仲苷、京尼平苷酸和车叶草苷。其中京尼平苷酸属于单萜类二次代谢产物环烯醚萜类化合物，具有多种药理活性和广泛应用价值。京尼平苷酸可明显提高糖耐量，降低血糖，调节血脂，促进前脂肪细胞对葡萄糖的吸收，同时能明显降低高糖高脂大鼠的总胆固醇和三酰甘油，

具有保肝利胆作用。京尼平苷酸还可以对抗对乙酰氨基酚、 CCl_4 肝损伤引起的谷胱甘肽含量下降，以及丙二醛升高和谷胱甘肽过氧化物酶活力降低，具有良好的抗氧化功能，因此常用于保健食品中。

本文参照食品国家标准 GB/T 21266-2007，利用岛津液相色谱仪 LC-16 建立了杜仲叶提取物中京尼平苷酸含量测定方法，并分析了市售杜仲叶提取物样品。结果显示，该方法操作方便，稳定可靠，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-16 高效液相色谱系统，具体配置为：

自动进样器：SIL-16

输液泵：LC-16 \times 2

检测器：SPD-16

柱温箱：CTO-16

色谱工作站：LabSolutions V. 5.106 SP1

脱气机：DGU-20A5R

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 250 \times 4.6 mm I.D., 5 μm ,

岛津（上海）实验器材有限公司，P/N：227-30017-08

流动相：A. 甲醇；B. 0.1% 磷酸水溶液

流速：1.0 mL/min

柱温：32 $^{\circ}\text{C}$

进样体积：10 μL

波长：240 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 95%，时间程序表见表 1。

表 1 时间程序表

洗脱时间 / 分钟	甲醇 (A) %	0.1% 磷酸水溶液 (B) %
0	5	95
6	5	95
13	13	87
22	20	80
30	25	75
40	50	50

1.3 标准品配制和样品前处理

1.3.1 标准溶液配制

精密称取京尼平苷酸 0.02137 g，以甲醇溶解并定容至 10 mL，配制成标准储备液，再逐级稀释为 0.109、0.218、0.436、0.654、0.872、1.090 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列溶液，待测。

1.3.2 样品前处理

取杜仲叶提取物样品 0.050g 于 50 mL 容量瓶中，精密称定。加甲醇适量，超声 5min 使充分溶解后，定容至 50 mL。取适量过滤后 HPLC 进样分析。

■ 结果

2.1 标准品谱图

按照 1.2 中分析条件进行测定，标准品色谱图如图 1 所示。

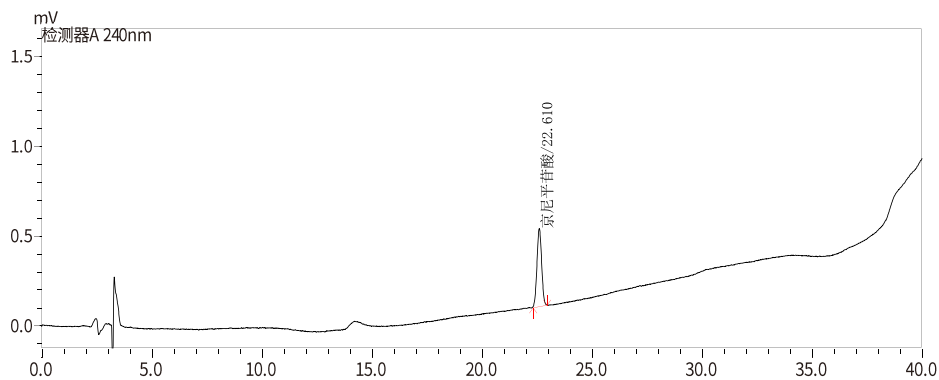


图 1 标准品色谱图 (0.436 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

2.2 线性关系

按 1.3.1 配制标准系列溶液，按 1.2 条件分析。以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线。校准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.999，回读值准确度在 96.9~102.4 % 之间。检出限、定量限使用 LabSolutions 软件计算，分别为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

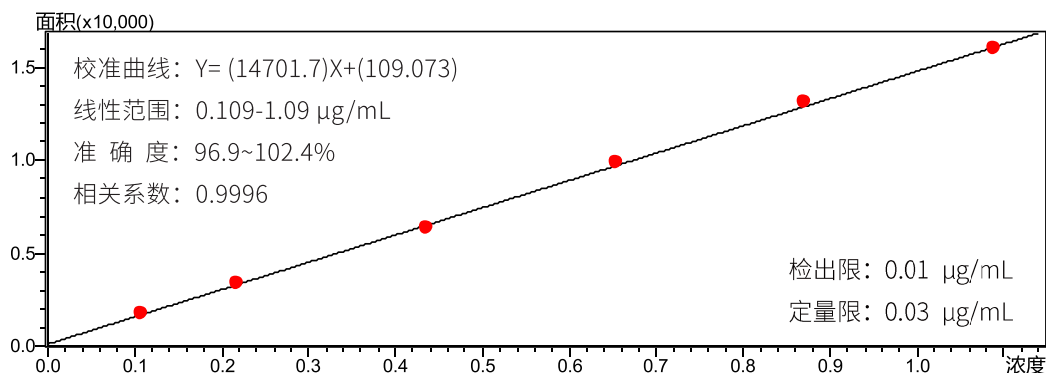


图2 京尼平苷酸校准曲线信息

2.3 精密度

取校准曲线次低浓度点 (0.218 µg/mL)，重复进样 6 次，目标物保留时间和峰面积的 RSD 均小于 2%，仪器精密度良好。

表2 精密度结果 (n=6)

序号	保留时间	面积
1	23.109	3402
2	23.104	3385
3	23.115	3328
4	23.13	3295
5	22.493	3242
6	23.142	3298
%RSD	1.11	1.81

2.4 回收率

取杜仲叶提取物适量，添加标准品，按照 1.3.2 进行样品前处理，配制成三个不同浓度的加标样品，平行测定 3 次，京尼平苷酸加标回收率在 103.8~109.5% 之间，方法可靠。加标回收结果如表 3 所示。

表3 样品加标回收结果

化合物名称	样品含量 (µg/g)	加标含量 (µg/g)	加标样品含量均值 (µg/g)	加标回收率 (%)
京尼平苷酸	386.120	207.146	615.736	103.8
		410.006	871.732	109.5
		614.200	1063.110	106.3

2.5 实际样品分析

按照 1.3.2 进行样品前处理，分别对三个不同厂家的 6 份样本进行测定，结果如图 3 和表 5 所示。

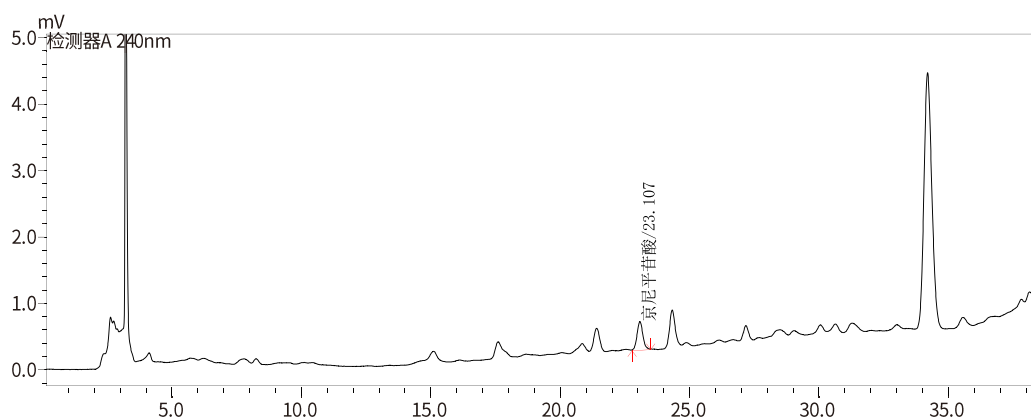


图3 杜仲叶提取物样品色谱图 (厂家1样品)

 表5 不同厂家杜仲叶提取物样品分析结果 ($\mu\text{g/g}$)

	厂家1		厂家2		厂家3	
	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5	样品6
含量 ($\mu\text{g/g}$)	390.41	381.83	243.71	245.9	111.42	113.06
平均值 ($\mu\text{g/g}$)	386.12		244.81		112.24	
RSD(%)	1.57		0.63		1.03	

■ 结论

本文参考 GB/T 40644-2021, 采用岛津液相色谱仪 LC-16, 建立了杜仲叶提取物中京尼平苷酸含量测定方法。采用外标法定量, 标准曲线相关系数大于 0.999, 回读值准确度在 96.9~102.4 % 之间, 京尼平苷酸检出限为 0.010 $\mu\text{g/mL}$ 。目标物保留时间和峰面积的 RSD 均小于 2%, 精密度良好。实际样品测试显示, 京尼平苷酸加标回收率在 103.8~109.5% 之间。该方法操作方便, 稳定可靠, 适合用于杜仲叶提取物中京尼平苷酸的含量测定。

岛津应用云

