

# HPLC法同时测定珠芽景天药材中8种黄酮苷类成分的含量<sup>Δ</sup>

吴莹莹<sup>1,2\*</sup>, 雷艳<sup>1,2</sup>, 姚成芬<sup>1,2</sup>, 马雪<sup>1</sup>, 黄勇<sup>3</sup>, 李勇军<sup>1</sup>, 林昌虎<sup>1#</sup>(1.贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550004; 2.贵州医科大学药学院, 贵阳 550004; 3.贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)12-1436-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.12.06

**摘要** 目的:建立同时测定珠芽景天药材中8种黄酮苷类成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法测定珠芽景天药材中山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖-(1→2)-*α*-*L*-吡喃葡萄糖-7-*O*-*α*-*L*-吡喃鼠李糖苷(KGGR)、山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖-7-*O*-*α*-*L*-吡喃鼠李糖苷(KGR)、槲皮素-3-*O*-*α*-*L*-鼠李糖-7-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷(QRR)、Bulbiferumside II、山柰酚-3-*O*-(6-香豆酰基)-β-*D*-葡萄糖-(1→2)-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷(KcGGR)、山柰酚-3-*O*-(2-β-*D*-葡萄糖)-*α*-*L*-鼠李糖-7-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷(KGRR)、山柰酚-3-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷(KRR)、山柰酚-3-*O*-(6"-乙酰基-β-*D*-葡萄糖)-7-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷(KaGR)的含量。色谱柱为Waters CORTECS C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为0.8 mL/min,检测波长为254 nm,柱温为35℃,进样量为5 μL。结果:上述8种成分均达到基线分离,检测进样量的线性范围分别为0.013~0.052、0.005~0.018、0.008~0.031、0.010~0.042、0.009~0.038、0.008~0.030、0.009~0.037、0.032~0.130 μg(*r*均不低于0.999 0);检测限分别为0.08、0.14、0.11、0.21、0.42、0.35、0.23、0.28 μg/mL,定量限分别为0.25、0.47、0.38、0.69、1.40、1.17、0.77、0.93 μg/mL;精密密度、重复性、稳定性(24 h)试验的RSD均小于3%(*n*为6或7);平均加样回收率为99.67%~104.20%(RSD为0.17%~1.59%,*n*=6)。13批样品中,上述8种成分的平均含量分别为0.893 8、0.312 6、0.490 8、0.964 9、0.751 2、0.502 2、0.606 2、1.915 7 mg/g(*n*=3)。结论:该方法简便、准确、重复性好,可用于同时测定珠芽景天药材中8种黄酮苷类成分的含量。

**关键词** 珠芽景天;高效液相色谱法;黄酮苷类成分;含量测定

## Simultaneous Determination of 8 Flavonoid Glycosides in *Sedum bulbiferum* by HPLC

WU Yingying<sup>1, 2</sup>, LEI Yan<sup>1, 2</sup>, YAO Chengfen<sup>1, 2</sup>, MA Xue<sup>1</sup>, HUANG Yong<sup>3</sup>, LI Yongjun<sup>1</sup>, LIN Changhu<sup>1</sup> (1. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM/State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 8 flavonoid glycosides in *Sedum bulbiferum*. METHODS: HPLC method was adopted to determine the contents of kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside-(1→2)-*α*-*L*-glucopyranoside-7-*O*-*α*-*L*-glucopyranoside (KGGR), kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-7-*O*-*α*-*L*-rhamnopyranoside (KGR), quercetin-3-*O*-*α*-*L*-rhamnose-7-*O*-*α*-*L*-rhamnoside (QRR), Bulbiferumside II, kaempferol-3-*O*-(6-coumarinyl)-β-*D*-glucose-(1→2)-β-*D*-glucose-7-*O*-*α*-*L*-rhamnoside (KcGGR), kaempferol-3-*O*-(2-β-*D*-glucose)-*α*-*L*-rhamnose-7-*O*-*α*-*L*-rhamnoside (KGRR), kaempferol-3-*O*-*α*-*L*-rhamnoside-7-*O*-*α*-*L*-rhamnoside (KRR), kaempferol-3-*O*-(6"-acetyl-β-*D*-glucose)-7-*O*-*α*-*L*-rhamnoside (KaGR) in *S. bulbiferum*. The determination was performed on Waters CORTECS C<sub>18</sub> column with mobile consisted of acetonitrile -0.1% phosphoric acid water solution (gradient elution) at the flow rate of 0.8 mL/min. The detection wavelength was set at 254 nm, and column temperature was 35 °C. The sample size was 5 μL. RESULTS: The linear range of 8 constituents were 0.013-0.052, 0.005-0.018, 0.008-0.031, 0.010-0.042, 0.009-0.038, 0.008-0.030, 0.009-0.037, 0.032-0.130 μg, respectively (all *r* were not less than 0.999 0). The limits of detection were 0.08, 0.14, 0.11, 0.21, 0.42, 0.35, 0.23, 0.28 μg/mL, respectively. The limits of quantification were 0.25, 0.47, 0.38, 0.69, 1.40, 1.17, 0.77, 0.93 μg/mL, respectively. RSDs of precision, reproducibility and stability tests (24 h) were all lower than 3% (*n*=6 or *n*=7). The average recoveries were 99.67%-104.20% (RSDs=0.17%-1.59%, *n*=6). Average contents of above 8 constituents in 13 batches of samples were 0.893 8, 0.312 6, 0.490 8, 0.964 9, 0.751 2, 0.502 2, 0.606 2, 1.915 7 mg/g (*n*=3).

CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for simultaneous determination of 8 flavonoid glycosides in *S. bulbiferum*.

**KEYWORDS** *Sedum bulbiferum*; HPLC; Flavonoid glycosides; Content determination

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.U1812403);中央引导地方科技发展专项资金项目(No.黔科中引地[2018]4006);贵州省科技计划项目(No.黔科合平台人才[2016]5613, No.黔科合平台人才[2016]5677)

\* 硕士研究生。研究方向:药效物质基础。E-mail:2458460478@qq.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药资源可持续利用及其物质基础。E-mail:linchh026@126.com

珠芽景天为景天科植物珠芽景天(*Sedum bulbiferum* Makino.)的干燥全草,又名小箭草、珠芽半支,广泛分布于我国南部地区,野生资源丰富,是我国民间常用的植物药,可用于治疗寒热疟疾、食积腹痛、热毒痈肿等症<sup>[1-3]</sup>。化学成分研究显示,珠芽景天主要含有生物碱类、多糖类、三萜类、黄酮类、矿质元素等化学成分<sup>[4-9]</sup>。本课题组前期研究中发现,黄酮类化合物为珠芽景天的主要成分,并分离得到以山柰酚、槲皮素为母核的苷类化合物,包括山柰酚-3-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-吡喃葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖苷(KGGR)、山柰酚-3-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖苷(KGR)、槲皮素-3-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(QRR)、Bulbiferumside II、山柰酚-3-*O*-(6-香豆酰基)- $\beta$ -D-葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(KcGGR)、山柰酚-3-*O*-(2- $\beta$ -D-葡萄糖)- $\alpha$ -L-鼠李糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(KGRR)、山柰酚-3-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(KRR)、山柰酚-3-*O*-(6"-乙酰基- $\beta$ -D-葡萄糖)-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(KaGR)等。已有药理活性研究表明,珠芽景天的黄酮类成分对人肝癌细胞株HepG2、人食管癌细胞株EC109、人结肠癌细胞株SW480的体外增殖有抑制作用<sup>[10-11]</sup>。

中药成分复杂多样且质量不易控制,这在一定程度上制约了中药的研究与开发。目前,有关珠芽景天质量控制的研究报道较少,仅见黄酮苷元槲皮素和山柰素的定量研究<sup>[10-11]</sup>,然而仅通过单一化学成分的含量测定难以全面评估珠芽景天的质量。近年来,多指标含量测定已广泛应用于中药材的质量控制,如白花蛇舌草、大黄、三叶青等<sup>[12-14]</sup>。因此,本研究拟建立同时测定珠芽景天药材中上述8种主要黄酮苷类成分含量的高效液相色谱法(HPLC),旨在为该药材的质量控制研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

UltiMate 3000型HPLC仪,包括系统控制器、输液泵、脱气组件、低压梯度组件、自动进样器、柱温箱、温控样品室、二极管阵列检测器、Chromeleon 7.0色谱数据工作站(美国Thermo Fisher Scientific公司);Allegra 64R型低温高速离心机(美国Beckman Coulter公司);WP-UP-IV-20型超纯水机(四川沃特科技发展有限公司);EL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 药品与试剂

珠芽景天药材采自贵州省各地,经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为景天科景天属植物珠芽景天(*S. bulbiferum* Makino.)的干燥全草,13批药材样品来源见表1。KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR、KaGR对照品均为本实验室自制,经HPLC面积归一法检测纯度均大于98.0%;乙腈、甲醇均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

表1 13批药材样品来源

Tab 1 Source of 13 batches of samples

编号	批号	产地	编号	批号	产地
S1	20160602	贵阳市清镇市百花湖乡	S8	20160609	安顺市平坝县城关镇
S2	20160605-1	贵阳市清镇市百花湖乡	S9	20160610-1	贵阳市清镇市百花湖乡
S3	20160605-2	贵阳市南明区云关乡	S10	20160610-2	贵阳市清镇市百花湖乡
S4	20160605-3	贵阳市南明区机场路	S11	20160610-3	贵阳市清镇市百花湖乡
S5	20160605-4	贵阳市南明区云关乡	S12	20160702	贵阳市清镇市百花湖乡
S6	20160607-1	贵阳市修文县小箐乡	S13	20160618	贵阳市清镇市百花湖乡
S7	20160607-2	贵阳市修文县扎佐镇			

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Waters CORTECS C<sub>18</sub>(150 mm $\times$ 4.6 mm,2.7  $\mu$ m);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B);梯度洗脱(0~5 min,5% A $\rightarrow$ 12% A;5~15 min,12% A $\rightarrow$ 13% A;15~30 min,13% A;30~45 min,13% A $\rightarrow$ 14% A;45~60 min,14% A $\rightarrow$ 15% A);流速:0.8 mL/min;柱温:35  $^{\circ}$ C;检测波长:254 nm;进样量:5  $\mu$ L。

### 2.2 溶液的制备

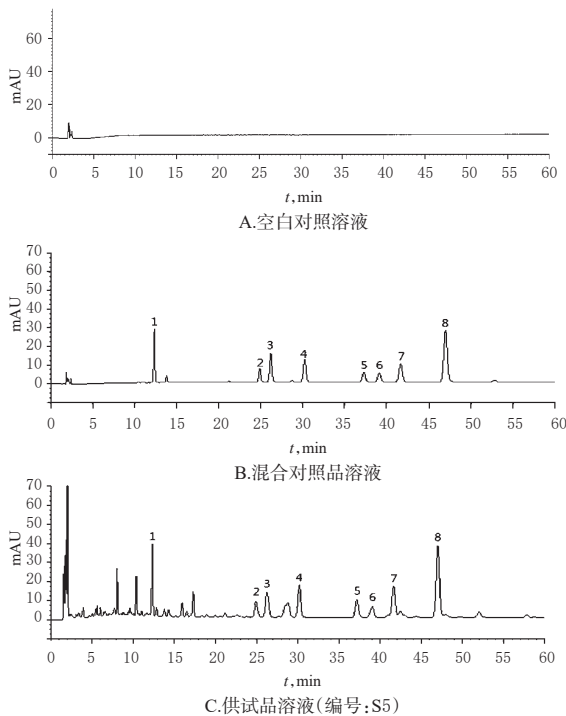
2.2.1 混合对照品溶液的制备 取KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR对照品适量,精密称定,分别用甲醇溶解并定容至10 mL量瓶中,得单一对照品贮备液。精密吸取上述单一对照品贮备液各适量,置于同一10 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,制成每1 mL含KGGR 13.0  $\mu$ g、KGR 4.6  $\mu$ g、QRR 7.7  $\mu$ g、Bulbiferumside II 10.4  $\mu$ g、KcGGR 9.4  $\mu$ g、KGRR 7.5  $\mu$ g、KRR 9.3  $\mu$ g、KaGR 32.4  $\mu$ g的混合对照品溶液,保存于4  $^{\circ}$ C冰箱中,备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取珠芽景天药材适量,粉碎后,过40目筛。精密称取上述粉末1 g,加入50%乙醇20 mL,称定质量后,水浴加热回流1 h,冷却至室温,再次称定质量,用50%乙醇补足减失质量,摇匀,以12 000 r/min离心10 min,取上清液,即得供试品溶液。

### 2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察 精密吸取空白对照溶液(甲醇溶液)和“2.2”项下供试品溶液(编号:S5)、混合对照品溶液适量,空白对照溶液和供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定,混合对照溶液用甲醇稀释5倍后进样测定,记录色谱图,详见图1。结果,在该色谱条件下,KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR的分离度均良好,且色谱峰峰形对称,理论板数按QRR峰计均不低于17 000。

2.3.2 标准曲线绘制 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1.0 mL,置于5 mL量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,制成KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR质量浓度分别为2.60、0.92、1.54、2.08、1.88、1.50、1.86、6.48  $\mu$ g/mL的混合溶液,分别精密吸取5、8、10、12、15、18、20  $\mu$ L,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量( $x$ ,  $\mu$ g)为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,结果见表2。



注: 1. KGGR; 2. KGR; 3. QRR; 4. Bulbiferumside II; 5. KcGGR; 6. KGRR; 7. KRR; 8. KaGR  
 Note: 1. KGGR; 2. KGR; 3. QRR; 4. Bulbiferumside II; 5. KcGGR; 6. KGRR; 7. KRR; 8. KaGR

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g}$
KGGR	$y=115.08x+0.0618$	0.9994	0.013~0.052
KGR	$y=165.30x-0.0510$	0.9995	0.005~0.018
QRR	$y=215.76x-0.0303$	0.9995	0.008~0.031
Bulbiferumside II	$y=120.04x+0.0632$	0.9994	0.010~0.042
KcGGR	$y=84.89x-0.0529$	0.9990	0.009~0.038
KGRR	$y=102.22x-0.0683$	1.0000	0.008~0.030
KRR	$y=165.84x-0.1383$	0.9990	0.009~0.037
KaGR	$y=143.57x-0.1599$	0.9997	0.032~0.130

2.3.3 检测限与定量限考察 取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,以甲醇倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别确定其定量限、检测限。结果,KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR的检测限分别为0.08、0.14、0.11、0.21、0.42、0.35、0.23、0.28  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,定量限分别为0.25、0.47、0.38、0.69、1.40、1.17、0.77、0.93  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.3.4 精密度试验 取同一批珠芽景天(编号:S5)供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR峰面积的RSD分别为0.48%、0.96%、0.86%、0.86%、0.39%、0.77%、0.82%、0.83% ( $n=6$ ),表明方法精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批珠芽景天药材(编号:S5)粉末,按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液6份,再按

“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按标准曲线法计算各待测成分的含量。结果,KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR含量的RSD分别为1.00%、0.47%、2.15%、1.66%、2.53%、2.72%、2.71%、1.17% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一批珠芽景天药材(编号:S5)粉末,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、1、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,KGGR、KGR、QRR、Bulbiferumside II、KcGGR、KGRR、KRR和KaGR峰面积的RSD分别为1.39%、1.29%、1.99%、1.90%、1.80%、1.97%、1.10%、0.84% ( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.7 加样回收率试验 取已知含量的珠芽景天药材(编号:S5)粉末,共6份,每份约0.5 g,精密称定,分别按各成分在药材中的含量等量加入相应单一对照品贮备液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 3 Results of recovery tests( $n=6$ )

待测成分	已知量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
KGGR	0.4182	0.3906	0.8183	102.43	103.10	1.20
	0.4165	0.3906	0.8244	104.43		
	0.4172	0.3906	0.8260	104.66		
	0.4173	0.3906	0.8177	102.51		
	0.4176	0.3906	0.8140	101.48		
	0.4167	0.3906	0.8193	103.07		
KGR	0.1573	0.1462	0.3084	103.35	102.70	1.59
	0.1567	0.1462	0.3098	104.72		
	0.1569	0.1462	0.3089	103.97		
	0.1570	0.1462	0.3070	102.60		
	0.1571	0.1462	0.3042	100.62		
	0.1568	0.1462	0.3044	100.96		
QRR	0.2261	0.2123	0.4425	101.93	102.44	0.66
	0.2252	0.2123	0.4410	101.65		
	0.2256	0.2123	0.4453	103.49		
	0.2256	0.2123	0.4424	102.12		
	0.2258	0.2123	0.4439	102.73		
	0.2253	0.2123	0.4434	102.73		
Bulbiferumside II	0.4735	0.4239	0.9161	104.41	104.20	0.18
	0.4717	0.4239	0.9136	104.25		
	0.4724	0.4239	0.9136	104.08		
	0.4725	0.4239	0.9130	103.92		
	0.4729	0.4239	0.9148	104.25		
	0.4719	0.4239	0.9141	104.32		
KcGGR	0.4065	0.3658	0.7733	100.27	100.08	0.39
	0.4049	0.3658	0.7732	100.68		
	0.4055	0.3658	0.7700	99.64		
	0.4056	0.3658	0.7703	99.70		
	0.4059	0.3658	0.7715	99.95		
	0.4050	0.3658	0.7716	100.22		
KGRR	0.2500	0.2345	0.4839	99.74	99.67	0.26
	0.2490	0.2345	0.4823	99.49		
	0.2494	0.2345	0.4840	100.04		
	0.2494	0.2345	0.4840	100.04		

续表3

Continued tab 3

待测成分	已知量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
KRR	0.249 4	0.234 5	0.482 3	99.32		
	0.249 6	0.234 5	0.483 1	99.57		
	0.249 1	0.234 5	0.483 2	99.83		
	0.301 7	0.269 9	0.575 3	101.37	103.82	1.16
	0.300 5	0.269 9	0.582 9	104.63		
	0.300 9	0.269 9	0.582 2	104.22		
	0.301 0	0.269 9	0.581 8	104.04		
	0.301 2	0.269 9	0.582 9	104.37		
	0.300 6	0.269 9	0.582 1	104.30		
	KaGR	0.917 0	0.841 1	1.780 5	102.66	102.97
	0.913 3	0.841 1	1.779 3	102.96		
	0.914 8	0.841 1	1.782 0	103.10		
	0.915 0	0.841 1	1.781 7	103.04		
	0.915 7	0.841 1	1.781 3	102.91		
	0.913 7	0.841 1	1.781 4	103.16		

## 2.4 样品含量测定

称取 13 批珠芽景天药材粉末各 1 g, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 按标准曲线法计算 8 种黄酮苷类成分的含量。每批平行操作 3 次, 结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果 ( $n=3$ , mg/g)Tab 4 Results of content determination of samples ( $n=3$ , mg/g)

编号	KGGR	KGR	QRR	Bulbiferu-moside II	KcGGR	KGRR	KRR	KaGR
S1	1.016 3	0.355 9	0.510 2	1.023 1	0.732 5	0.508 2	0.735 1	2.260 5
S2	0.768 6	0.265 0	0.452 6	0.904 1	0.711 1	0.448 7	0.515 8	1.688 6
S3	0.759 0	0.286 5	0.431 9	0.863 0	0.650 5	0.375 2	0.501 7	1.497 7
S4	0.885 9	0.317 5	0.520 2	1.013 0	0.746 2	0.535 8	0.615 7	2.074 6
S5	0.793 4	0.255 2	0.372 2	0.789 2	0.686 6	0.428 4	0.521 5	1.620 8
S6	0.921 6	0.320 5	0.478 6	0.992 8	0.742 3	0.488 2	0.645 1	2.098 7
S7	0.947 3	0.313 8	0.558 4	1.014 4	0.761 7	0.518 5	0.561 1	1.749 8
S8	0.890 8	0.308 2	0.461 3	0.948 0	0.793 0	0.507 0	0.599 6	1.876 2
S9	1.018 5	0.361 2	0.601 7	1.014 6	1.009 0	0.574 8	0.715 6	2.315 8
S10	0.898 3	0.326 8	0.553 8	1.010 7	0.732 8	0.555 6	0.622 0	1.942 0
S11	0.928 0	0.317 8	0.489 3	1.006 5	0.726 3	0.547 9	0.632 3	1.963 1
S12	0.882 1	0.319 5	0.472 5	0.987 8	0.747 5	0.515 5	0.598 4	1.885 6
S13	0.909 1	0.316 3	0.478 1	0.976 3	0.725 8	0.524 7	0.617 0	1.931 2
平均值	0.893 8	0.312 6	0.490 8	0.964 9	0.751 2	0.502 2	0.606 2	1.915 7

由表 4 结果可见, 所测 13 批珠芽景天药材中 8 种黄酮苷类成分含量差异不大, 其中平均含量最高的是 KaGR (1.915 7 mg/g), 平均含量最低的是 KGR (0.312 6 mg/g)。

## 3 讨论

### 3.1 供试品溶液制备方法选择

本课题组前期分别考察了提取方法 (超声、回流)、提取溶剂 [水、不同体积分数 (100%、75%、50%、25%) 的甲醇和乙醇]、提取时间 (0.5、1、2、4 h) 对珠芽景天提取率的影响。结果发现, 以 50% 乙醇回流 1 h 的提取率较高, 且提取时间适宜, 故最终选择此方法作为供试品溶液的制备方法。

### 3.2 色谱条件选择

本课题组前期分别对色谱柱 (ACE Excel 5 C<sub>18</sub>-AR、ACE Excel 5 C<sub>18</sub>、Waters CORTECS C<sub>18</sub>)、流动相 (乙腈-0.1% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-0.1% 甲酸水溶液)、流速 (0.8、1.0、1.2 mL/min) 进行了考察。结果发现, 当色谱柱为 Waters CORTECS C<sub>18</sub>、流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (梯度洗脱) 时, 珠芽景天中 8 种黄酮苷类成分的色谱峰峰形、分离度均较好, 且基线平稳, 故最终选用此色谱条件。本课题组在全波长扫描时发现, 珠芽景天中这 8 种黄酮苷类成分均在 254 nm 波长处有较理想的色谱响应, 且与其他杂质峰分离度也较好, 故选择 254 nm 波长作为检测波长。

综上所述, 本研究所建方法操作简便, 准确度、精密度高, 重复性、稳定性好, 可用于同时测定珠芽景天药材中 8 种黄酮苷类成分的含量, 可为其质量控制及进一步开发利用提供方法支持。

### 参考文献

- [1] 《贵州植物志》编辑委员会. 贵州植物志: 第 2 卷[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1986: 198.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编: 下册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 481.
- [3] 万定荣. 垂盆草及其同属 (景天属) 药用种的民族医疗应用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1853-1855.
- [4] KIM JH, THART H, STEVENS JF. Alkaloids of some Asian *Sedum* species[J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1319-1324.
- [5] 《湖南植物志》编辑委员会. 湖南植物志: 第 5 卷[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004: 3392-3393.
- [6] 江苏新医学院. 中药大辞典: 上册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 260.
- [7] WARASHINA T, MIYASE T. Flavonoid glycosides from *Sedum bulbiferum*[J]. *Chem Pharm Bull: Tokyo*, 2017, 65(12): 1199-1204.
- [8] 姚成芬, 汪洋, 蒋礼, 等. 珠芽景天的化学成分研究[J]. 中药材, 2018, 41(6): 1369-1371.
- [9] 杨耿, 巩吉力, 郑艳, 等. 珠芽景天的矿质元素分析[J]. 基层中药杂志, 2000, 14(3): 8-9.
- [10] 胡婧. 珠芽景天的鉴定、黄酮类成分含量测定及抗肿瘤活性研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2012.
- [11] 胡婧, 王璐瑶, 万定荣, 等. 珠芽景天抗肿瘤活性研究及槲皮素和山柰素的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 139-142.
- [12] 段和祥, 刘绪平, 陈希, 等. HPLC 法同时测定白花蛇舌草中 6 种有机酸类成分的含量[J]. 中药材, 2019, 42(8): 1842-1845.
- [13] 陆文瑾, 窦志华, 曹瑞, 等. HPLC 法同时测定大黄药材中 8 个非蒽醌类成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(14): 1975-1980.
- [14] 李彩凤, 胡欣, 金鹏飞, 等. HPLC 法同时测定三叶青块根中 6 个黄酮类成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(13): 1755-1758.

(收稿日期: 2020-01-17 修回日期: 2020-04-06)

(编辑: 邹丽娟)