

# RP-HPLC测定 2种桃叶珊瑚属药用植物中的桃叶珊瑚苷

魏屹, 宋良科, 蒋树杨, 董可, 彭创业

(西南交通大学药学院, 四川 峨眉 614202)

**摘要:** 目的 测定桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚中的桃叶珊瑚苷。方法 药材用 70% 乙醇回流提取, RP-HPLC 法测定, 色谱柱为 Symmetry shield RP<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相用甲醇-水 (12: 88); 检测波长 203 nm; 柱温 25°C; 流速 1.0 ml min<sup>-1</sup>。结果 桃叶珊瑚苷在 203 nm 处有最大吸收, 在 0.72~2.88 μg 线性关系良好 ( $r^2 = 0.9998$ ), 桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷的含量分别为 4.31%、3.07%, 平均回收率分别为 98.94%、98.87%, RSD 分别为 2.04%、1.74% ( $n = 6$ )。结论 所建方法操作简便, 重复性好, 专属性强, 准确可靠。

**关键词:** 峨眉桃叶珊瑚; 桃叶珊瑚; 桃叶珊瑚苷; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)01-0113-03

## Determination of aucubin in two medicinal plants of *Aucuba*

WEI Yi, SONG Liang-ke, JIANG Shu-yang, DONG Ke, PENG Chuang-ye

(College of Pharmacy, Southwest Jiaotong University, Em ei 614202, China)

**Abstract** **OBJECTIVE** A method was established for determination of aucubin in *Aucuba chinensis* and *Aucuba omeiensis*. **METHODS** Aucubin was extracted by EtOH-H<sub>2</sub>O (70:30) with reflux extraction and determined by RP-HPLC method. column: Symmetry shield RP<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), mobile phase: MeOH-H<sub>2</sub>O (12:88), detection wavelength: 203 nm, column temperature: 25°C, flow rate: 1.0 ml min<sup>-1</sup>. **RESULTS** The maximum absorption wavelength of aucubin was 203 nm. The calibration curve was linear over the concentration range of 0.76 μg to 2.88 μg for aucubin contents. The aucubin contents in *A. chinensis* and *A. omeiensis* were 4.31%, 3.07% respectively. The average recoveries were 98.94%, 98.87%, RSD were 2.04%, 1.74% ( $n = 6$ ). **CONCLUSION** The method is proved to be repeatable, specific, accurate and easy to operate.

**Key words** *Aucuba omeiensis*; *Aucuba chinensis*; Aucubin; RP-HPLC

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2008)01-0113-03

桃叶珊瑚苷具有清湿热、利小便、镇痛、降压、保肝护肝、抗抑郁、抗肿瘤等作用, 能促进干细胞再生, 明显抑制乙型肝炎病毒 DNA 的复制<sup>[1]</sup>, 其苷元及有效多聚体作为一种抗菌素为医药、日用化工和饲料等行业所应用<sup>[2]</sup>。山茱萸科桃叶珊瑚属植物桃叶珊瑚 *Aucuba chinensis* Benh. 和峨眉桃叶珊瑚 *Aucuba omeiensis* Fang 的研究未见报道, 为此, 特从两种植物中提取出桃叶珊瑚苷, 并采用 RP-HPLC 法测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

LC-6AD 高效液相色谱仪包括 LC-6AD 泵、SPD-M10A<sub>VP</sub> 二极管阵列检测器 (日本岛津)。桃叶珊瑚苷对照品 (法国 Fluka 纯度 ≥ 99.0%); 桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚 (峨眉山仙森苗圃种植场); 甲醇为色谱纯; 其余试剂为分析纯。

### 1.2 方法与结果

#### 1.2.1 色谱条件

色谱柱为 Symmetry shield RP<sub>18</sub>

(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (12: 88); 检测波长 203 nm; 柱温 25°C; 流速 1.0 ml min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μl

**1.2.2 溶液的制备** 精密称取 18 mg 桃叶珊瑚苷对照品, 加水溶解并定容至 50 ml 得 0.36 mg ml<sup>-1</sup> 对照品溶液。分别取各 3 g 桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚药材, 精密称定, 加入 70% 乙醇溶液于 70°C 加热回流 (30 ml × 3 每次 1 h), 过滤, 合并滤液, 加 70% 乙醇溶液定容至 100 ml 精密量取各 1 ml 此溶液, 加水定容至 10 ml 作为桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚供试品溶液。

**1.2.3 标准曲线与线性范围** 精密吸取 2.345678 μl 对照品溶液进样, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程:  $Y = 1.058 \times 10^6 X + 1.220 \times 10^4$  ( $r^2 = 0.9998$ ), 桃叶珊瑚苷进样量 0.72~2.88 μg 与峰面积有良好的线性关系。

**1.2.4 精密度的考察** 精密吸取 5 μl 对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 桃叶珊瑚苷保留时间为

基金项目: 西南交通大学校基金项目 (10096034)

作者简介: 魏屹 (1966-), 女, 四川西昌, 副教授, 从事生药学研究工作。

6.512 min 计算其峰面积的  $RSD = 1.26\%$  ( $n = 6$ )。

**1.2.5 重复性试验** 精密称取各 3 g 桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚药材,按“1.2.2”项方法制备供试液,各精密吸取 20  $\mu$ l 进样,记录色谱图。桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷的平均含量为 4.31%,  $RSD = 1.31\%$  ( $n = 6$ );峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷的平均含量为 3.07%,  $RSD = 1.65\%$  ( $n = 6$ )。

**1.2.6 加样回收率试验** 精密称取 1.5 g 已知含量的桃叶珊瑚与峨眉桃叶珊瑚药材各 6 份,分别精密加入各 45 mg 对照品,按“1.2.2”项方法制备供试液,各精密吸取 20  $\mu$ l 进样,记录色谱图,结果见表 1。

**1.2.7 稳定性试验** 按“1.2.2”项方法制备桃叶珊瑚与峨眉桃叶珊瑚供试品溶液,室温放置,分别于 0, 4, 8, 12, 24 h 进样 20  $\mu$ l 记录色谱图,其峰面积的  $RSD$  分别为 1.43%、2.03% ( $n = 5$ ),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**1.2.8 样品的测定** 精密称取各 3 g 三个不同时间采集的桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚药材 ( $n = 3$ ),按

表 1 桃叶珊瑚和峨眉桃叶珊瑚加样回收结果 (mg  $n = 6$ )

Table 1 Result of recoveries in *A. chinensis* and *A. amurensis* (mg  $n = 6$ )

Samples	Original	Added	Detected	Recovery %	$\bar{X}$ %	RSD %
<i>A. chinensis</i>	1.283	0.9	2.148	96.11	98.94	2.04
	1.281	0.9	2.186	100.56		
	1.290	0.9	2.176	98.44		
	1.202	0.9	2.078	97.33		
	1.323	0.9	2.236	101.44		
	1.207	0.9	2.105	99.78		
<i>A. amurensis</i>	0.909	0.9	1.810	100.14	98.78	1.74
	0.904	0.9	1.791	98.52		
	0.907	0.9	1.812	100.52		
	0.899	0.9	1.757	95.31		
	0.911	0.9	1.817	100.67		
	0.884	0.9	1.772	98.72		

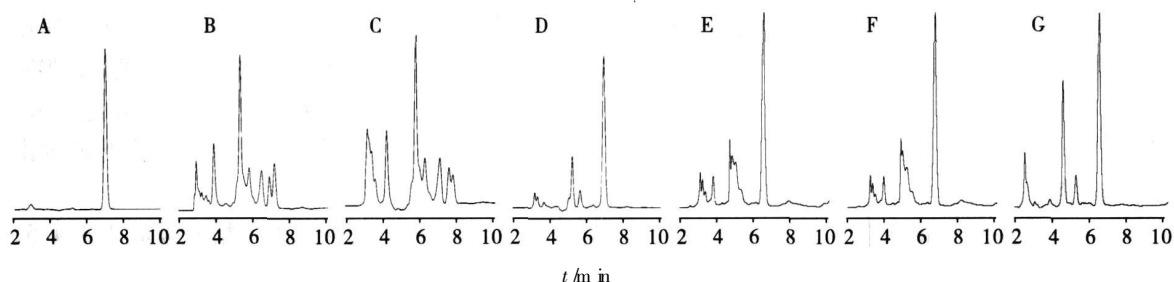


图 1 对照品 (A)、70% 甲醇超声 (B)、70% 甲醇冷浸 (C)、70% 甲醇回流 (D)、70% 乙醇冷浸 (E)、70% 乙醇超声 (F) 和 70% 乙醇回流 (G) 的方法比较

Fig 1 Comparison methods of aucubin(A), sample extracted in ultrasonic bath with 70% methanol(B), sample soaked in 70% methanol (C), sample extracted by the 70% methanol reflux(D), sample extracted in ultrasonic bath with 70% ethanol(E), sample soaked in 70% ethanol(F) and sample extracted by the 70% ethanol reflux(G)

实验用测定桃叶珊瑚苷含量的方法简便准确、稳定可靠。桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷

“1.2.2”项方法制备供试液,各精密吸取 20  $\mu$ l 进样,记录色谱图,将峰面积带入上述回归方程,3 批桃叶珊瑚与峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷含量分别为 3.76%、4.31%、4.29%、2.80%、3.07%、2.99%。

## 2 讨论

桃叶珊瑚苷在 203 nm 波长处有最大吸收,且峰形较好。在桃叶珊瑚与峨眉桃叶珊瑚样品液中分别加入少量对照品固体,分别进样,两种样品色谱图显示,与对照品保留时间一致的峰的峰面积上升,而其它峰未见升高,未见新峰出现,从而确定桃叶珊瑚、峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷的存在。

精密吸取“1.2.8”项桃叶珊瑚与峨眉桃叶珊瑚供试液各 20  $\mu$ l 进样,记录桃叶珊瑚苷峰光谱图,比较其相似性,结果表明桃叶珊瑚在 6.507 min、峨眉桃叶珊瑚在 6.512 min 时出的峰为一纯峰。

桃叶珊瑚苷为环烯醚萜类化合物,易溶于水,溶于甲醇、乙醇等极性较大的有机溶剂,用甲醇与乙醇分别考查了回流、超声、冷浸法提取峨眉桃叶珊瑚中桃叶珊瑚苷的提取效果,结果甲醇冷浸和超声提取的样品中杂质成分增大很多,色谱峰分离不好,用回流法提取样品的色谱峰分离较好。乙醇冷浸、超声和回流处理的样品色谱峰分离均较好,但回流提取法提取桃叶珊瑚苷的量最高(图 1)。

采用回流提取法,主要考察了溶剂、提取温度、提取次数三个因素,每个因素选三个水平,按  $L_9(3^4)$  正交表设计试验,测定桃叶珊瑚苷的含量。根据正交试验结果和方差分析,三因素对桃叶珊瑚苷的含量的影响顺序为:溶剂 > 提取温度 > 提取次数,最佳提取条件为溶剂为 70% 乙醇,提取温度为 70°C,提取次数 3 次,每次 1 h。

含量较杜仲、车前草<sup>[3,4]</sup>等药用植物高,具有较好的药用开发前景。

参考文献:

[1] Chang I 桃叶珊瑚甙抑制乙型肝炎病毒复制的作用 [J]. 国外医学中医中药分册, 1998, 20(5): 48.

[2] 朱媛, 王亚琴. 桃叶珊瑚苷研究的进展 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 947- 949

[3] 杨小梅, 尚平, 刘建斌, 等. HPLC法测定杜仲仁中桃叶珊瑚苷的含量 [J]. 中草药, 2003, 10(10): 附 7- 9

[4] 方芸, 吴正群, 裴云萍, 等. 高效液相色谱法测定车前草中桃叶珊瑚苷的含量 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 4(2): 136- 137

收稿日期: 2007- 05

## RP-HPLC测定热灼平喷雾剂中的大黄酸、大黄素和大黄酚

张爱军<sup>1, 2</sup>, 杨安东<sup>2</sup>, 杨军<sup>2</sup>, 侯世祥<sup>1\*</sup>

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610041)

**摘要:** 目的 采用 RP-HPLC法测定热灼平喷雾剂中的大黄酸、大黄素、大黄酚。方法 采用 Luna-C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸 (80:20), 柱温 25℃, 流速 1.0 ml min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm。结果 大黄酸、大黄素、大黄酚的线性范围分别为 85.2~852.0 μg (r=0.9999)、88.0~880.0 μg (r=0.9998)、107.2~1072.0 μg (r=0.9999), 平均回收率分别为 99.88% (RSD=3.02%)、105.0% (RSD=2.45%)、102.5% (RSD=1.48%)。结论 所建方法简便、准确。

**关键词:** 热灼平喷雾剂; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 反相高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)01-0115-02

## Determination of rhein, emodin and chrysophanol in Rezhuo Ping spray by RP-HPLC

Zhang Ai-jun<sup>1, 2</sup>, Yang An-dong<sup>2</sup>, Yang Jun<sup>2</sup>, Hou Shi-xiang<sup>1\*</sup>

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041 China)

**Abstract** **OBJECTIVE** To establish a method for determination of rhein, emodin and chrysophanol in Rezhuo Ping spray. **METHODS** An RP-HPLC method was adopted. The analysis was carried out on an analytical column Luna-C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (80:20) and the flow rate was 1.0 ml min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 254 nm with column temperature of 25°C. **RESULTS** The linear range and average recovery showed respectively as follows: rhein: linear range 85.2-852.0 μg (r=0.9999), the average recovery was 99.88% with RSD of 3.02%; Emodin: linear range 88.0-880.0 μg (r=0.9998), the average recovery 105.0% (RSD=2.45%); Chrysophanol: linear range 107.2-1072.0 μg (r=0.9999), the average recovery 102.5% (RSD=1.48%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate.

**Key words** Rezhuo Ping spray; Rhein; Emodin; Chrysophanol; RP-HPLC; Content determination

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2008)01-0115-02

热灼平喷雾剂由大黄、黄柏等七味中药制成, 具有清热解毒、收湿敛疮的功效, 用于治疗各种原因引起的轻、中度烧烫伤。大黄为《中国药典》2005年版收载的蓼科植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎。大黄酸、大黄素、大黄酚等大黄蒽醌类成分是药材大黄和成品喷雾剂中的特征有效成分<sup>[1-3]</sup>。为此, 采用 RP-HPLC 法, 测定了热灼平喷雾剂中的大黄酸、大黄素和大黄酚。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器及试剂

HP-1100 型高效液相色谱仪和紫外检测器

(美国惠普)。大黄酸、大黄素、大黄酚 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为: 0757-200206, 110756-20011Q, 110796-200514); 甲醇、磷酸为色谱纯; 水为重蒸水; 热灼平喷雾剂 (自制, 每瓶 100 ml)。

#### 1.2 方法与结果

**1.2.1 溶液的制备** 精密称取适量大黄酸、大黄素、大黄酚对照品于同一量瓶中, 加甲醇制成含大黄酸、大黄素、大黄酚各约 80 μg·ml<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。精密量取 2 ml 热灼平喷雾剂, 加 20 ml 10% 盐酸溶液, 10 ml 三氯甲烷, 水浴回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 3 次,

作者简介: 张爱军, 女, 副研究员, 正攻读药剂学专业的硕士学位。E-mail: ajzh33@sohu.com

\* 通讯作者 (Correspondent author)