

2.5 重现性试验:取同一地黄药材 5 份,平行进行提取测定,求得地黄苷 D 的含量为 0.337%, 0.351%, 0.332%, 0.341%, 0.345%; *RSD* 为 1.9%。

2.6 加样回收率试验:准确称取已知含量的同一地黄样品粗粉 6 份,每份 1.0 g,分别加入不同浓度对照品溶液,按样品溶液制备方法进行提取,以“2.1 色谱条件”进行测定,测得地黄苷 D 的加样回收率为 100.6%, *RSD* = 2.1%。

2.7 样品的测定:将地黄药材粉碎过二号筛,精密称取 1.0 g,置圆底烧瓶中,加 100 mL 80% 甲醇,水浴加热回流 2 h,放冷,过滤定容于 100 mL 量瓶,取 10 mL,挥干,加 10% 乙腈定容于 50 mL,以微孔滤膜过滤,滤液作为供试品溶液,进样 20  $\mu$ L,测得地黄苷 D 的峰面积,按外标一点法计算含量,结果见表 1。

表 1 不同产地地黄中地黄苷 D 的含量 %

Table 1 Rehmannioside D in *R. glutinosa* from different areas %

编号	产地	级别	地黄苷 D
1	山东嘉祥县	一级品	0.387
2	山东嘉祥县	三级品	0.193
3	山东济宁市	一级品	0.344
4	山东济宁市	二级品	0.230
5	山西襄汾县	二级品	0.154
6	山西襄汾县	三级品	0.149
7	山西曲沃县	一级品	0.345
8	山西曲沃县	二级品	0.342
9	河南温县	二级品	0.200
10	河南温县	三级品	0.185
11	河南武陟县	一级品	0.333
12	河南武陟县	三级品	0.137
13	河南博爱县	一级品	0.691
14	河南博爱县	二级品	0.547
15	陕西渭南	一级品	0.396
16	陕西渭南	二级品	0.230

由上述含量测定结果可见,地黄药材中地黄苷 D 的含量为 0.137% ~ 0.691%。建议地黄药材中地黄苷 D 的含量应不低于 0.15%。

### 3 讨论

3.1 在样品提取条件的筛选试验中,曾分别采用水、20% 甲醇、50% 甲醇、80% 甲醇、甲醇、20% 乙醇、50% 乙醇、80% 乙醇、乙醇回流提取,提取液过滤,定容,作为供试品溶液。进样 10  $\mu$ L 测定地黄苷 D 的峰面积,结果表明 80% 甲醇回流提取 2 h,地黄苷 D 的提取率较高,杂质较少,故采用本法制备样品供试品液。另外选 1% ~ 6% 的甲醇或乙腈作为流动相,结果表明,流动相以 4% 乙腈水可获得较好的分离。

3.2 地黄药材由于其产地及品质的不同,其地黄苷 D 含量有显著差别。从 8 个不同产地的 16 份完整药材样品中地黄苷 D 的含量测定结果显示,以道地优级药材地黄苷 D 的含量较高,质次三级药材含量较低。为控制地黄药材的质量,建议地黄优级药材中地黄苷 D 的含量应不低于 0.15%。

### References:

- [1] Zhang L, Xu X G, Shi Y Z, et al. Studies on the extracting conditions of Dihuang (*Rehmannia glutinosa*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(5): 308.
- [2] Li G S, Wang H S, Du H Q, et al. Separation and preparation of active component of *Radix Rehmanniae*: Catalpol by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 36.
- [3] Wang H J, Bian B L, Yang J, et al. A study on catalpol content changes in *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. under certain conditions [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(7): 408.
- [4] Yu Z, Wang J, Li G S, et al. Experimental study on rehmannioside D in action of nourishing Yin-enriching the blood and reducing the blood sugar [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2001, 28(4): 240.

## HPLC 法测定马先蒿属三种药用植物中桃叶珊瑚苷的含量

李发荣<sup>1,2</sup>, 杨建雄<sup>2</sup>, 田先华<sup>2\*</sup>

(1. 西安交通大学电信学院, 陕西 西安 710049; 2. 陕西师范大学生命科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要:目的 建立马先蒿属 3 种植物中桃叶珊瑚苷的测定方法。方法 药材用乙醚脱脂后,甲醇提取,Varian C<sub>18</sub> 柱;流动相:甲醇-水(15:85);检测波长:204 nm;流速:0.5 mL/min。结果 桃叶珊瑚苷在太白参、扭歪马先蒿、短茎马先蒿中的含量分别为 0.90%, 1.94%, 0.95%;回收率分别为 102.3%, 98.2%, 97.6%。结论 马先蒿属植物具有较好的药用开发前景,并为其质量评价提供参考。

关键词:马先蒿属;桃叶珊瑚苷;HPLC

中图分类号:R 282.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2003)08-0000-00

\* 收稿日期:2002-11-06

基金项目:陕西省自然科学基金项目(2000SM20)

作者简介:李发荣(1972-),男,陕西白水人,陕西师范大学生命科学学院,讲师,西安交通大学在读博士,主要从事中药药理学研究,发表论文 10 篇。Tel: (029) 5308451, E-mail: Lifarong12@sohu.com

Determination of aucubin in three medicinal plants of *Pedicularis* Linn. by HPLCLI Fa-rong<sup>1,2</sup>, YANG Jian-xiong<sup>2</sup>, TIAN Xian-hua<sup>2</sup>

(1. Electric and Information Engineering Institute of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

2. Institute of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** **Object** To set up a determination method for aucubin in three medicinal plants of *Pedicularis* L. **Methods** The medicinal herbs were defatted by Et<sub>2</sub>O, then extracted by MeOH and determined by HPLC method. Varian C<sub>18</sub> column, mobile phase: MeOH-H<sub>2</sub>O (15:85); detection wavelength: 204 nm, flow rate: 0.5 mL/min. **Results** The content of aucubin and its recovery in three medicinal plants were as follows: aucubin in *P. decora*, in *P. davidii* and *P. artselaeri* were 0.90%, 1.94%, 0.95%; recovery rates were 102.3%, 98.2%, 97.6% in *P. artselaeri*. **Conclusion** Medicinal plants of *Pedicularis* Linn. has a good exploiting prospect, the research can provide the reference for evaluating of these medicinal herbs.

**Key words:** *Pedicularis* Linn.; aucubin; HPLC

马先蒿属(*Pedicularis* Linn.)是玄参科(Scrophulariaceae)中的一个属,共有500余种植物,其中在我国分布有329种,是该属植物的分布中心,资源十分丰富<sup>[1]</sup>。马先蒿属植物药用种类繁多,药用历史悠久,在《神农本草经》、《晶珠本草》、《藏药经典》等本草著作中皆有该属植物药用的记载<sup>[2]</sup>。现代药理学和化学研究证明,马先蒿属植物普遍含有环烯醚萜苷或苯丙素苷类化合物,具有抗菌、保肝、降压、利尿、清除自由基、抗肿瘤、抗氧化性溶血、DNA碱基修复<sup>[3-7]</sup>等多种生理活性。但环烯醚萜苷在不同植物中含量比较研究尚未见报道。本实验利用HPLC法对该属在民间应用较多,疗效显著的美观马先蒿(又称太白参、黑参*P. decora* Franch.等)及其类同品短茎马先蒿*P. artselaeri* Maxim.、扭盔马先蒿*P. davidii* Franch.中桃叶珊瑚苷的含量进行

测定,为该类药用植物的应用及开发提供依据。

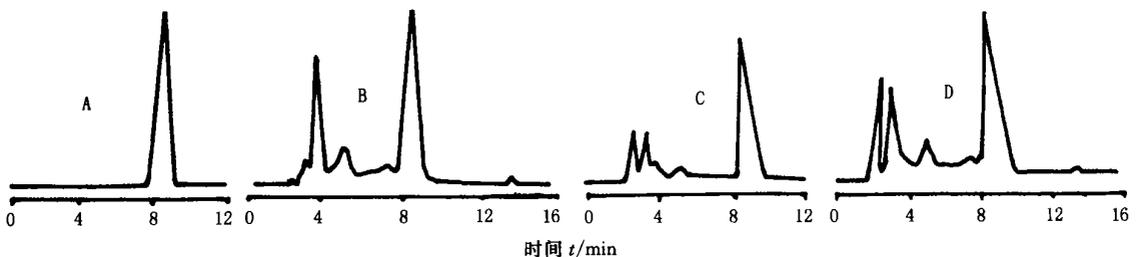
## 1 仪器与材料

1.1 仪器: Hitachi L-7100 高效液相色谱仪, Hitachi L-7420 紫外-可见检测器, Hitachi D-7000 色谱工作站。

1.2 材料: 甲醇为色谱纯,实验用水为双蒸水,其余试剂皆为分析纯;桃叶珊瑚苷对照品(自制,经色谱检测为单一峰,并经红外光谱和质谱鉴定),太白参、短茎马先蒿、扭盔马先蒿于1999年9月采自秦岭梁,由田先华副教授鉴定。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: Varian C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm);流动相: 甲醇-水(15:85);检测波长: 204 nm;流速: 0.5 mL/min。在此条件下对照品及样品的HPLC图谱见图1。



A-桃叶珊瑚苷 B-太白参 C-扭盔马先蒿 D-短茎马先蒿

A-aucubin B-*P. decora* C-*P. artselaeri* D-*P. davidii*

图1 桃叶珊瑚苷及样品的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of aucubin and its samples

2.2 标准曲线的制备: 精确称取桃叶珊瑚苷对照品

3.33 mg 置 50 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。精密吸取对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9 μL 进样,以对照品进样量对峰面积作图,得回归方程:  $Y = 2.385 \times 10^{-7}X + 2.041 \times 10^{-2}$  ( $r = 0.9992$ ) 表明桃叶珊瑚苷

在 0.0667 ~ 0.599 μg 和峰面积线性关系良好。

2.3 提取条件选择: 方法 1: 精确称量太白参粉末(过 50 目筛)各 1.000 g,置圆底烧瓶中,加入 50 mL 乙醚提取 2 h,弃乙醚液,残渣用 40 mL 甲醇回流提取 2 次,每次 1 h,合并 2 次提取液,定容至 100 mL

摇匀,再从其中精确吸取 2.50 mL,用甲醇定容至 10 mL,微孔滤膜过滤即得供试品液。方法 2: 太白参经乙醚脱脂处理后,残渣用 40 mL 甲醇冷浸超声提取 2 次,每次 30 min,然后定容、稀释,制备供试液。精密吸取供试液 10  $\mu$ L,进样分析。方法 1 测得太白参中桃叶珊瑚苷含量为 0.902%,  $RSD = 1.8\%$  ( $n = 5$ ),方法 2 测得太白参中桃叶珊瑚苷含量为 0.901%,  $RSD = 1.4\%$  ( $n = 5$ ),显示两种提取方法提取效果相当,本实验中提取方法选用方法 1。

2.4 精密度试验: 分别取桃叶珊瑚苷对照品溶液 5  $\mu$ L,连续进样 6 次,结果  $RSD = 0.38\%$ 。

2.5 稳定性试验: 按照 2.3 项下方法 1 制备太白参供试液,室温放置,在 1 周内每隔一定时间测定 1 次,共测定 7 次,结果测得桃叶珊瑚苷含量为 0.902%,  $RSD = 2.6\%$ ,说明供试品溶液在 1 周内基本稳定。

2.6 加样回收率试验: 分别精确称取 3 种药材粉末各 0.5 g,每种药材各称 3 份,分别加入不同量对照品,依样品的制备及测定项下处理,计算平均回收率,太白参为 102.3%,  $RSD = 3.0\%$ ; 扭歪马先蒿为 98.2%,  $RSD = 2.6\%$ ; 短茎马先蒿为 97.6%,  $RSD = 3.4\%$ 。

2.7 重现性试验: 精确称量太白参、短茎马先蒿、扭歪马先蒿根粉末(过 50 目筛)各 1.000 g,每种样品称量 5 份,按照 2.3 项下方法 1 分别制备太白参、扭歪马先蒿、短茎马先蒿供试液,各精确吸取 10  $\mu$ L 进样测定,结果太白参  $RSD = 1.2\%$ ,扭歪马先蒿  $RSD = 0.9\%$ ,短茎马先蒿  $RSD = 1.4\%$  ( $n = 5$ ),证明此方法重现性良好。

2.8 样品的制备及测定: 精确称量太白参、短茎马先蒿、扭歪马先蒿根粉末(过 50 目筛)各 1.000 g,按照 2.3 项下方法 1 分别制备样品供试液,各精确吸取 10  $\mu$ L 进样测定,结果见表 1。

表 1 马先蒿属 3 种药用植物中桃叶珊瑚苷的含量测定结果( $n = 5$ ) %

Table 1 Result of aucubin in three plants of *Pedicularis* L. %

植物种类	桃叶珊瑚苷含量	RSD
太白参	0.90	1.2
扭歪马先蒿	1.94	0.9
短茎马先蒿	0.95	1.4

### 3 讨论

3.1 桃叶珊瑚苷是从太白参中分离得到并鉴定,在扭歪马先蒿、短茎马先蒿样品液中分别加入少量桃叶珊瑚苷对照品固体,分别进样,两种样品色谱图显

示,与对照品保留一致的峰的面积上升,而其它峰未见升高,未见新峰出现,从而确定扭歪马先蒿、短茎马先蒿中桃叶珊瑚苷的存在。

3.2 桃叶珊瑚苷属环烯醚萜苷类化合物,该类化合物易被水解,尤其是在酸性条件下加热时可引起分解,产生的苷元性质活泼,可以迅速聚合,产生难溶物质,影响提取效果<sup>[3]</sup>,本实验提取条件研究显示,甲醇回流提取与冷浸超声提取效果相当,说明样品在甲醇回流提取条件下比较稳定,可用于分析测定时的提取。

3.3 桃叶珊瑚苷的测定方法有比色法等方法<sup>[8]</sup>,比色法测定操作简单,但由于显色反应特异性不高,常导致结果较实际值偏高,不适用于精确定量测定,用 HPLC 对其进行测定可以较好的克服这一缺点;本实验在流动相选用甲醇-水= 15:85 时,3 种药材中桃叶珊瑚苷皆可以达到较好的基线分离、本方法简便、重现性好,为上述 3 种药材质量标准的建立提供了可行的方法。

3.4 桃叶珊瑚苷在玄参、车间、地黄、杜仲等中药中存在,是其中的活性成分之一,是评价该类中药质量的一个重要指标。本实验结果显示,太白参、短茎马先蒿、扭歪马先蒿皆含有较多量的桃叶珊瑚苷,其中扭歪马先蒿含量最高,太白参与短茎马先蒿含量相近,所以民间将其作为类同品应用是有一定道理的,在我们进行的相关药效学研究中也证明,3 者药效相似,扭歪马先蒿作用效果更好,提示扭歪马先蒿是更具开发前景的民间草药。

### References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edits. *Florae Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1963.
- [2] Feng H Y, An L Z, Wang X L. Investigation on resources of medicinal plants *Pedicularis* L. in Gansu Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(5): 449-451.
- [3] Lin Q S. *Constituent Chemistry of Chinese Herbal Medicine* (中草药成分化学) [M]. Beijing: Science Press, 1977.
- [4] Chang I M. Liver protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine [J]. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1998, 102(2): 189-204.
- [5] Shi Y M, Shi Y P, Jia Z J, et al. Fast repair of dAMP radical anions by phenylpropanoid glycosides and their analogs [J]. *Sci Sin (C)* (中国科学, C 辑), 2000, 30(1): 85-91.
- [6] Yang J X, Gao M L, Li F R. Effects of Taibai-Ginseng extract on anti-oxidation damage of mice [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(1): 37-39.
- [7] Li J, Ge R C, Jia Z J, et al. Antitumour effects of phenylpropanoid glycosides [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1995, 30(5): 269-272.
- [8] Dong Y E, Ma B L, Jia E H. Study on measuring method of aucubin in *Eucommia ulmoides* leaf [J]. *J Northwest Forestry Univ*, 2001, 16(1): 53-55.