

## RP-HPLC 法测定固公果中蔷薇酸和委陵菜酸

宋菲<sup>1</sup>, 马荣<sup>2</sup>, 高颖<sup>1</sup>, 刘岱琳<sup>1\*</sup>

1 中国人民武装警察部队医学院生药教研室, 天津市职业与危害生物标志物重点实验室, 天津 300162;

2 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

**摘要** 目的: 利用 RP-HPLC 方法测定彝族药物固公果中蔷薇酸、委陵菜酸的量。方法: 采用 Ultimatex B-C<sub>18</sub> (美国 Welch 公司, 150 nm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-1.5%磷酸水溶液 (33:67) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 210 nm。结果: 固公果中蔷薇酸与委陵菜酸能得到很好的分离。测定线性范围分别为: 蔷薇酸 77.4~774.3 μg/mL,  $r=0.999\ 9$ ; 委陵菜酸 54.7~546.9 μg/mL,  $r=0.999\ 9$ 。蔷薇酸平均回收率为 102.5% ( $n=9$ ), 委陵菜酸平均回收率为 103.7% ( $n=9$ )。结论: 该法便捷、灵敏、准确, 重复性好, 可以控制该药材的质量。

**关键词** 固公果; 蔷薇酸; 委陵菜酸; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 03-0213-03

## Determination of euscaphic acid and tormertic acid in roots of *Rosa odorata* var. *gigantea* by RP-HPLC

SONG Fei<sup>1</sup>, MA Rong<sup>2</sup>, GAO Ying<sup>1</sup>, LIU Dai-lin<sup>1\*</sup>

1 Department of Pharmacognosy and Tianjin Key Laboratory for Biomarkers of Occupational and Environmental Hazard, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China;

2 School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

**Abstract** **Objective:** To establish a RP-HPLC method for determination of euscaphic acid and tormertic acid in the root of *Rosa odorata* var. *gigantea*. **Methods:** A Ultimatex B C<sub>18</sub> column (150 nm × 4.6 mm, 5 μm) and a mobile phase consisted of methanol-0.15% phosphoric acid (33:67) were used for analysis. The flow rate was 1.0 mL/min and the UV detector wavelength was 210 nm. **Results:** Euscaphic acid was well separated from tormertic acid and other compounds in *R. odorata* var. *gigantea*. The calibration curves of euscaphic acid and tormertic acid had a good linearity ( $r=0.999\ 9$ ) in the range of 0.077 4 - 0.774 3 mg/mL and 0.054 7 - 0.546 9 mg/mL, respectively. The average recovery of euscaphic acid and tormertic acid were 102.5% ( $n=9$ ) and 103.7% ( $n=9$ ). **Conclusion:** This method is simple, accurate, and reproducible, which is suitable for the quality control of euscaphic acid and tormertic acid in the roots of *R. odorata* var. *gigantea*.

**Key words:** roots of *Rosa odorata* Sweet var. *gigantea* Rehd. et Wils.; euscaphic acid; tormertic acid; RP-HPLC

固公果 *Rosa odorata* Sweet var. *gigantea* Rehd. et Wils. 属蔷薇属植物, 其根性平、味酸, 具有涩肠止泻的功效, 常用于治疗腹泻、菌痢等疾病<sup>[1]</sup>, 是一味应用历史悠久的彝族民间药材。本课题组前期研究固公果根中含有多种三萜类成份<sup>[2,3]</sup>, 其中蔷薇酸与委陵菜酸是其中量较高的三萜成分。三萜类成分具有较好的镇痛抗炎作用<sup>[4]</sup>。为了进一步开发该彝族民间药材, 并且保证固公果根药材的用药质

量, 本文首次利用高效液相色谱法建立了蔷薇酸与委陵菜酸的定量测定方法, 并将此方法作为固公果质量控制的指标之一。

### 1 试验仪器与材料

#### 1.1 试验仪器

电子天平: HANGPING JA3003 型。旋转蒸发器: BUCHIR-124 型 瑞士。TP-500B 超声波清洗器: 天鹏电子新技术(北京)有限公司制造。DHG-9000A

收稿日期: 2010-02-26

基金项目: 天津市自然科学基金项目 (10JCYBJC14600) 资助。

\* 通讯作者 刘岱琳 (1973—), 女, 副教授, 主要从事天然产物活性成分研究。Email: dailinlch@163.com; Tel: 022-60578194

型电热恒温鼓风干燥箱:上海恒实验仪器有限公司。  
 高效液相色谱仪: Thermo Electron P1000 美国, 色谱柱: UltimatexB-C<sub>18</sub>(美国 Welch 公司, 150 nm×4.6 mm, 5 μm)。HH-2 数字显示恒温水浴锅: 常州国华仪器有限公司。

## 1.2 试验试剂与材料

试验试剂: 甲醇色谱纯, 购自天津市康科德科技有限公司; 水(娃哈哈纯净水, 杭州娃哈哈集团), 磷酸(天津市盛奥化学试剂有限公司), 95%乙醇。蔷薇酸、委陵菜酸品, 自制, 纯度 98%。

试验药材: 购自云南曲靖, 经沈阳药科大学中药学院孙启时教授鉴定为蔷薇科蔷薇属植物固公果 *Rosa odorata* Sweet var. *gigantea* Rehd. et Wils. 的根。

## 2 方法和结果

### 2.1 样品前处理考证

为了得到更加准确的定量测定结果, 首先对固公果根中蔷薇酸、委陵菜酸的提取方法进行了方法学研究, 通过查阅文献<sup>[3]</sup>发现, 三萜成分的提取主要选用的试剂由甲醇、95%乙醇、正丁醇以及丙酮, 而 95%乙醇的提取效果较好, 故将 95%乙醇作为提取溶剂, 分别选用超声 30 min、回流 30 min、浸泡 12 h 3 种方法对 5 g 药材粉末进行提取, 结果经过 HPLC 检测, 回流 30 min 为最佳方法, 并以此作为样品溶液的制备方法。

### 2.2 对照品溶液制备

精密称取蔷薇酸、委陵菜酸对照品 7.901、5.581 mg, 加甲醇定容至 10 mL, 制成 0.790 1 mg/mL 蔷薇酸及 0.058 1 mg/mL 委陵菜酸的混合对照品溶液。

### 2.3 样品溶液制备

精密称取药材粉末 5.0 g, 加入 95%乙醇至 50 mL 量瓶中, 称重, 回流 30 min 后, 补足重量, 过滤, 旋转蒸发, 得固形物, 称重, 甲醇溶解移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成样品溶液。

### 2.4 色谱条件与系统适用性试验

UltimatexB-C<sub>18</sub>(美国 Welch 公司, 150 nm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-2%磷酸水溶液(33:67)为流动相, 检测波长 210 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温室温; 进样量为 20 μL。此条件下, 样品中蔷薇酸( $t_R=21.7$  min)、委陵菜酸( $t_R=24$  min)与相邻峰分离度大于 1.5, 理论塔板数按蔷薇酸、委陵菜酸计算应不低于 5 000。色谱图见图 1。

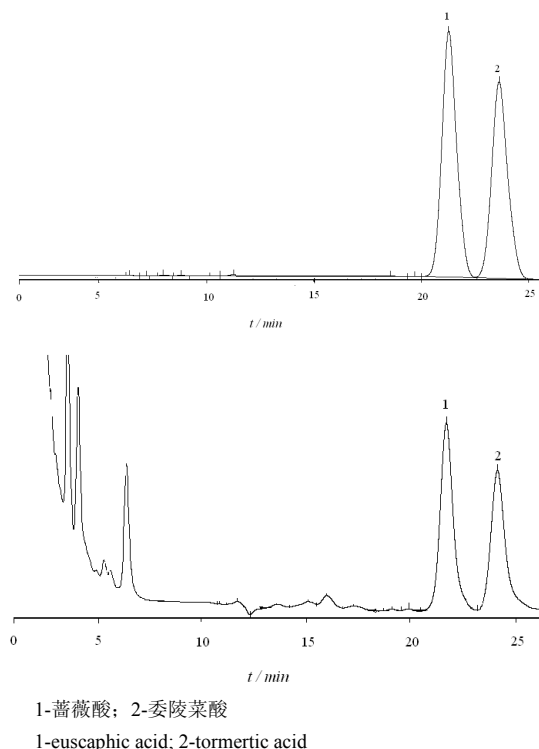


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) RP-HPLC 色谱图  
 Fig.1 RP-HPLC Chromatograms of reference substances (A), and samples (B)

### 2.5 标准曲线考察

分别精密移取标准品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 定容至刻度, 分别取 20 μL 进样, 按上述色谱条件进样测定, 平行测定 3 次, 以质量为横坐标, 峰面积为纵标, 绘制标准曲线, 得回归方程, 蔷薇酸:  $Y=309737X+66374$ ,  $r=0.9999$ ; 委陵菜酸:  $Y=384600X+44926$ ,  $r=0.9999$ ; 结果表明: 蔷薇酸在 77.4~774.3 mg/mL 线性关系良好, 委陵菜酸在 54.7~546.9 mg/mL 线性关系良好。

### 2.6 精密度试验

精密吸取对照品溶液 20 μL, 按上述色谱条件连续进样 5 次, 蔷薇酸峰面积 RSD=0.5%, 委陵菜酸峰面积 RSD=0.8%。

### 2.7 重复性试验

精密称取同一批样品, 按“2.3”项下方法制备 5 份样品溶液, 按上述色谱条件进样测定质量分数, 蔷薇酸的 RSD=1.3%, 委陵菜酸的 RSD=2.0%。

### 2.8 稳定性试验

取同一样品溶液, 在上述色谱条件下, 分别于 0、2、4、8、10、12 h 进样测定, 蔷薇酸峰面积 RSD=

0.7%，委陵菜酸峰面积 RSD=0.5%。

### 2.9 回收率试验

精密称取 9 份已测定蔷薇酸、委陵菜酸量的药材粉末，每份 2.5 g，分别精密加入对照品溶液 0.9、1.0、1.1 mL，按“2.3”项下方法配成低、中、高 3 个浓度的溶液，并按上述色谱条件测定，计算回收率 ( $n=3$ )，蔷薇酸平均回收率为 102.5% ( $n=9$ )；委陵菜酸平均回收率为 103.7% ( $n=9$ )。

### 2.10 样品测定

精密称取 5 批固公果根药材粉末，按照“2.3”项下内容制备样品溶液，精密吸取样品溶液及标准品溶液 20  $\mu$ L 进样测定，以外标法计算，得样品中蔷薇酸、委陵菜酸的量，见表 1。

5 批固公果样品中，每克固公果根生药材中含

**表 1 固公果根药材中蔷薇酸与委陵菜酸测定结果**  
**Table 1 Determination of euscaphic acid and tormertic acid in *R. odorata* var. *gigantea***

批号	蔷薇酸/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	委陵菜酸/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
2009080520	1.875	1.189
2009080521	1.824	1.186
2009080523	1.796	1.172
2009080525	1.800	1.158
2009080527	1.865	1.165

1.832 mg 蔷薇酸，RSD=1.9%；每克固公果根生药材中含 1.174 mg 委陵菜酸，RSD=1.1%。

### 3 讨论

本实验建立了固公果根中蔷薇酸与委陵菜酸的 RP-HPLC 的定量检测方法，通过测定 5 批固公果根样品，确定固公果根中蔷薇酸平均质量分数为 1.832 mg/g，委陵菜酸平均质量分数为 1.174 mg/g，且每克固公果根生药材中，蔷薇酸的量不得低于 1.65 mg，委陵菜酸的量不得低于 1.06 mg。该方法精密度高、稳定性好，重现性好，接过能够保证药材质量。由于蔷薇酸具有较好的抗炎镇痛作用，委陵菜酸具有清热解毒，凉血止痢的作用<sup>[5]</sup>，故可将其作为药材品质质量评价指标之一，而有关固公果根有效成分的药效学作用，还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 任 洁, 何广新. 苗药-固公果阿江制剂[J]. 中国民族民间医药杂志, 1998, 31:41-42.
- [2] 刘岱琳, 朱 珊, 等. 固公果根中的三萜成分[J]. 中国天然产物, 2010,8(1):12-15.
- [3] 马 荣, 刘岱琳, 殷 军. 比色法测定固公果中三萜含量[J]. 武警医学院学报, 2010, 2(2):83-85.
- [4] 潘 萍, 贾凌云, 孙启时. RP-HPLC 法测定大叶紫珠中蔷薇酸含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6):841-843.
- [5] 刘 普, 段宏泉, 潘 勤, 等. 委陵菜三萜成分研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1875-1879.