HPLC 法测定鲜地黄中梓醇和桃叶珊瑚苷

马运明[1]，郭建华[2,3]，田成旺[3]，张铁军[3]

1. 天津市疾病预防控制中心，天津　300011
2. 天津医科大学，天津　300070
3. 天津药物研究院，天津　300193

摘　要：目的　建立 HPLC 法测定鲜地黄中梓醇及桃叶珊瑚苷的方法，对鲜地黄进行质量控制。**方法**　采用 HPLC 法对鲜地黄中梓醇及桃叶珊瑚苷进行定量测定。**结果**　线性回归方程分别为梓醇 Y=43 800 X+2 849.2，r=0.999 9；桃叶珊瑚苷 Y=76 163 X+1 676.1，r=0.999 9；梓醇和桃叶珊瑚苷线性范围分别为 0.19～2.375 μg、0.152～1.90 μg，回收率分别为 99.00%和 99.38%。**结论**　该方法准确、重现性好，可以作为鲜地黄的质量控制方法。

关键词：鲜地黄；梓醇；桃叶珊瑚苷；高效液相色谱；质量控制

中图分类号：R286.02　　**文献标志码：**B　　**文章编号：**0253 - 2670(2011)07 - 1348 - 03

Determination of catalpol and aucubin in fresh *Rehmannia glutinosa* by HPLC

MA Yun-ming[1]，GUO Jian-hua[2,3]，TIAN Cheng-wang[3]，ZHANG Tie-jun[3]

1. Center for Disease Control and Prevention of Tianjin, Tianjin 300011, China
2. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Key words: fresh *Rehmannia glutinosa* Libosch.; catalpol; aucubin; HPLC; quality control

追溯人类医药的起源，人类最早应用于防治疾病、保障健康的药物是自然界生长的鲜活植物，就是所说的“鲜药”。鲜药一般指的是未经任何改变或损失，在采收后即行使用的中药原料，在国内外均有悠久的药用历史。鲜药具有活性成分丰富、质量好、疗效快等特点。但由于不易保存，限制了其在临床上广泛应用。鲜药材具有不同于其炮制品的独特药性与疗效，所以对于鲜药材的开发利用将成为中药开发的热点之一。

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的块根，根据炮制方法的不同，分鲜地黄、生地黄和熟地黄[1-3]。地黄中主要降糖活性成分为环烯醚萜类成分，梓醇及桃叶珊瑚苷为其代表性成分[4]。此类化合物结构类似，极性较大，易溶于水，热稳定性较差。研究发现地黄从鲜品加工成生地及熟地，梓醇量下降 1/10，甚至更低[5]。桃叶珊瑚苷热敏性更强，极易分解而发生变化[6]。目前，对于地黄的研究主要集中在其炮制品上，而对于鲜地黄中主要活性成分的控制尚无报道。本实验采用 HPLC 法测定鲜地黄中梓醇及桃叶珊瑚苷的量，结果可靠准确，可作为鲜地黄药材质量控制的定量方法。

1　仪器与材料

Lab Alliance 高效液相色谱仪，SeriesⅡ二元泵系统，Lab Alliance 色谱工作站；Diamonol C_{18} 柱（200 mm×4.6 mm，5 μm）。

Sartovius 电子天平（十万分之一天平）；Mettler Toledo 电子天平（万分之一天平）（Mettler Toledo 公司）。Autoscience（AS3120）超声仪（奥特宝恩斯仪器有限公司）。

鲜地黄药材购自河南怀庆、山东菏泽、河北安国，经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为 *Rehmannia glutinosa* Libosch.的新鲜块根。

梓醇及桃叶珊瑚苷对照品购自中国药品生物制品检定所，质量分数为 99%。甲醇、乙腈均为色谱纯，乙醇、磷酸均为分析纯，去离子水。

收稿日期：2011-01-15

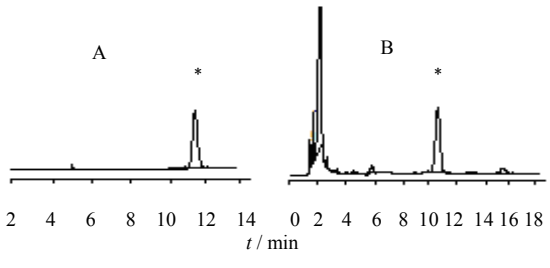
作者简介：马运明（1955—），男，主任技师，天津市疾病预防控制中心，从事保健食品卫生检验。
Tel: 13323360261　E-mail: mayunming68@163.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 梓醇测定的色谱条件 Diomonsil C_{18} 柱（200 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－0.1%磷酸水（1∶99），检测波长为 210 nm，体积流量 1 mL/min，柱温 35 ℃。理论塔板数按梓醇峰计不少于 4 000。色谱图见图 1。

2.1.2 桃叶珊瑚苷测定的色谱条件 Diomonsil C_{18} 柱（200 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇－水（5∶95），检测波长为 205 nm，体积流量 1 mL/min，柱温 25 ℃。理论塔板数按桃叶珊瑚苷计不少于 5 000。色谱图见图 2。

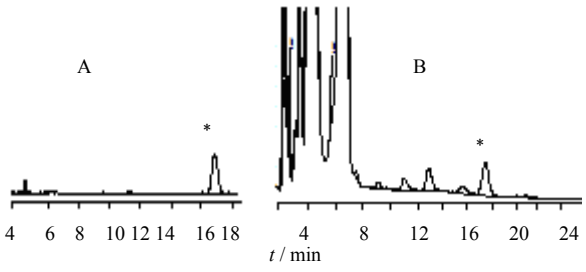


* 梓醇

* catalpol

图 1 梓醇对照品（A）及样品（B）HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of catalpol refernce substance (A) and sample (B)



* 桃叶珊瑚苷

* aucubin

图 2 桃叶珊瑚苷对照品（A）及样品（B）HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of aucubin reference substance (A) and sample (B)

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取梓醇及桃叶珊瑚苷对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，加流动相定容，摇匀，得对照品溶液，梓醇为 0.19 mg/mL，桃叶珊瑚苷为 0.152 mg/mL。

2.3 供试品溶液的制备

取鲜地黄药材洗净擦干表面水分，去除须根后切成 2～4 mm 细丝。精密称定上述鲜地黄细丝 2.0 g 置于具塞锥形瓶中，精密加入 20%乙醇 25 mL，称质量，超声提取 30 min，用 20%乙醇补足减失质量，取提取液经 0.45 μm 滤膜滤过，即为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察

取梓醇及桃叶珊瑚苷对照品溶液，分别精密吸取 1、2.5、5、7.5、10、12.5 μL 按上述色谱条件进样，以梓醇及桃叶珊瑚苷的峰面积值为纵坐标（Y），质量浓度为横坐标（X）绘制标准曲线，得梓醇回归方程 Y＝43 800 X＋2 849.2，r＝0.999 9，线性范围为 0.19～2.375 μg；桃叶珊瑚苷回归方程为 Y＝76 163 X＋1 676.1，r＝0.999 9，线性范围为 0.152～1.90 μg。

2.5 精密度试验

精密吸取梓醇及桃叶珊瑚苷对照品溶液，重复进样 6 次，梓醇 10 μL、桃叶珊瑚苷 2.5 μL，分别测定峰面积积分值，结果梓醇峰面积的 RSD 为 1.28%，桃叶珊瑚苷峰面积的 RSD 为 1.77%。

2.6 稳定性试验

取同一份供试品溶液分别在配制后 0、2、4、8、12、24 h 进样，记录峰面积积分值，结果梓醇峰面积的 RSD 为 2.91%，桃叶珊瑚苷峰面积的 RSD 为 1.55%，结果表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验

取同一鲜地黄药材，按供试品溶液制备方法平行制备 6 份，分别进样测定，计算其质量分数，求得梓醇和桃叶珊瑚苷的 RSD 分别为 1.28%和 2.23%。

2.8 加样回收率试验

2.8.1 梓醇加样回收率试验 平行取含梓醇 4.0%（按干质量计）的鲜地黄药材 1.00 g 6 份，精密加入梓醇对照品 10.00 mg，按供试品溶液制备方法制备，对照品进样 10 μL，样品进样 5 μL，计算其平均回收率为 99.00%，RSD 为 1.55%。

2.8.2 桃叶珊瑚苷加样回收率试验 平行取含桃叶珊瑚苷量为 0.15%（按干质量计）的鲜地黄药材 1.00 g 6 份，精密加入桃叶珊瑚苷对照品 0.325 mg，按供试品溶液制备方法制备，对照品进样 2.5 μL，样品进样 20 μL，计算其平均回收率为 99.38%，RSD 为 1.70%。

2.9 样品测定

取 3 个产地，6 批药材制备供试品溶液，分别进样 5 μL 和 20 μL，测得梓醇及桃叶珊瑚苷的峰面

积，计算梓醇及桃叶珊瑚苷的质量分数（按干质量计）。见表 1。

表 1　样品测定结果

Table 1　Determination of samples

批号	产地	梓醇/%	桃叶珊瑚苷/%
101115	河南怀庆	4.01	0.15
101116	山东菏泽	4.24	0.18
101117	河北安国	4.18	0.16
110409	河南怀庆	3.58	0.13
110410	山东菏泽	3.86	0.16
110411	河北安国	3.67	0.17

3　讨论

梓醇及桃叶珊瑚苷均为环烯醚萜苷类化合物，极易溶于水，但易受酶和温度的影响。在供试品制备过程中，考察了水和 20%、50%、70%乙醇 4 种溶剂进行超声提取，提取液滤过，作为供试品溶液，进样测定梓醇及桃叶珊瑚苷的峰面积，结果 20%乙醇提取效果最佳，故采用本法制备供试品溶液。

由于 2010 版《中国药典》仅有关于鲜地黄药材的性状标准，并没有其活性成分的定量测定方法，无法控制鲜地黄药材的内在质量。本实验对鲜地黄中环烯醚萜苷类主要活性成分梓醇及桃叶珊瑚苷进行了定量测定，所建立的方法简单、准确，可作为鲜地黄药材质量控制的定量测定方法，为进一步开发鲜地黄的成药性奠定了一定的基础。

参考文献

[1] 叶定江, 张世臣. 中药炮制学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.

[2] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. HPLC 法测定地黄及含地黄成药中寡糖 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 1997-2000.

[3] 唐　岚, 刘　力, 徐德生. 生地黄中低聚糖的提取和纯化研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1167-1171.

[4] 李更生, 于　震, 王慧森, 等. 地黄化学成分与药理研究进展 [J]. 国外医学中医中药分册, 2004, 26(2): 74-78.

[5] 张慧芳. 不同炮制方法对地黄中糖类及梓醇含量影响研究概况 [J]. 实用中医药杂志, 2009, 25(7): 1-2.

[6] 赵　晔, 杨腊虎, 孙文基, 等. 桃叶珊瑚苷的热稳定性研究 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(6): 734-736.

《现代药物与临床》杂志征稿、征订启事

《现代药物与临床》杂志（CN12-1407/R，ISSN 1674-5515）是国家级医药科技期刊，天津市一级期刊，2009 年 1 月由《国外医药•植物药分册》更名为《现代药物与临床》，并被美国《化学文摘》（CA）、波兰《哥白尼索引》（IC）、美国《乌里希期刊指南》（Ulrich's Periodicals Directory），CNKI 中国期刊全文数据库、中国核心期刊（遴选）数据库等收载。为了进一步提高期刊质量，2010 年出版的《现代药物与临床》全新改版，更加突出创新性与实用性，紧跟国内外药学发展趋势，适时追踪热点，从栏目内容、文章质量，到封面版式、装帧印刷都得到了全面的提升与改进。

办刊宗旨：报道国内外药物研究的新进展与新技术，以及药物在临床应用方面的最新动态，为新药研发、生产人员以及临床医生与药剂师合理用药提供有益的参考。

内容与栏目：涵盖药物的基础研究与临床研究各学科，设置“专论与综述”、“实验研究”、“临床研究”、“未来药物”、“药事管理”、“知识产权”、“药物经济学”和“市场信息”等栏目。“专论与综述”栏目除报道植物药研究的最新进展外，诚征有关药物与临床研究前沿的前瞻性文章。

读者对象：药物研发、生产、监管人员，以及临床医生与药剂师。

《现代药物与临床》双月刊，国内外公开发行，封面铜板彩色覆膜。为扩大信息量、缩短出版周期，本刊由 64 页扩版为 80 页；为惠顾广大读者，改版不提价，每期定价仍为 15 元，全年 90 元。本刊自办发行，请直接与编辑部联系订阅。

本刊网上在线投稿、审稿、查询系统正式开通，欢迎投稿、欢迎订阅！

《现代药物与临床》编辑部

地址：天津市南开区鞍山西道 308 号（300193）　　**电话与传真：**（022）23006823

网址：www.中草药杂志社.中国；www.tiprpress.com　　**邮箱：**dc@tiprpress.com

开户银行：兴业银行天津南开支行　**账号：**44114010010081504　**户名：**天津中草药杂志社