HPLC-ELSD 法测定红景天中红景天苷及大花红天素

伍小艳[1, 3]，张 桥[2, 3]，杨素德[2, 3]，孙永成[2, 3]，张广仁[1, 3]，王振中[2, 3]，毕宇安[2, 3]，萧 伟[2, 3*]

1. 南京中医药大学，江苏 南京 210000
2. 江苏康缘药业股份有限公司，江苏 连云港 222001
3. 中药制药过程新技术国家重点实验室，江苏 连云港 222001

摘 要：目的 建立同时测定红景天药材中红景天苷、大花红天素的方法，比较了不同批次药材中这 2 种成分的质量分数差异。**方法** 采用 HPLC-ELSD 法，Kromasil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱，以乙腈-水为流动相，梯度洗脱，体积流量为 1.0 mL/min，柱温为 30 ℃；氮气体积流量 2.0 L/min，漂移管温度 45 ℃，增益为 2。**结果** 红景天苷进样量在 0.806～8.06 μg 呈良好线性关系（r＝0.999 6，n＝6），平均回收率为 100.56%；大花红天素进样量在 2.142～21.42 μg 呈良好线性关系（r＝0.999 9，n＝6），平均回收率为 100.40%。**结论** 该方法简便准确，重复性好，可作为红景天药材中红景天苷、大花红天素的测定方法。

关键词：HPLC-ELSD；红景天；红景天苷；大花红天素；质量标准

中图分类号：R286.22 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2014)08 - 1157 - 03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.08.021

Determination of salidroside and crenulatin in *Rhodiolae Sacrae Herbra* by HPLC-ELSD

WU Xiao-yan[1, 3], ZHANG Qiao[2, 3], YANG Su-de[2, 3], SUN Yong-cheng[2, 3], ZHANG Guang-ren[1, 3], WANG Zhen-zhong[2, 3], Bi Yu-an[2, 3], XIAO Wei[2, 3]

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China
2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China
3. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To establish a determination method for the contents of salidroside and crenulatin in *Rhodiolae Sacrae Herbra*, and to compare the content differences of the two compounds in *Rhodiolae Sacrae Herbra* from different batches. **Methods** Using HPLC-ELSD method and Kromasil C_{18} column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with acetonitrile and water as mobile phase, gradient elution at flow rate of 1.0 mL/min, column temperature of 30 ℃, nitrogen flow rate of 2.0 L/min, drift tube temperature of 45 ℃, and gain of 2. **Results** The linear of salidroside was 0.806—8.06 μg (r = 0.999 6, n = 6), and the average recovery rate was 100.56%. The linear of crenulatin was 2.142—21.42 μg (r = 0.999 9, n = 6), and the average recovery rate was 100.40%. **Conclusion** This method is simple, and accurate, and has better reproducibility for the determination of the two compounds in *Rhodiolae Sacrae Herbra*. It could be used as a quantitative determination method for salidroside and crenulatin in *Rhodiolae Sacrae Herbra*.

Key words: HPLC-ELSD; *Rhodiolae Sacrae Herbra*; salidroside; crenulatin; quality standard

红景天为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎[1]，是常用药材之一。药理研究发现，红景天具有抗血小板聚集、保护缺血再灌注损伤及神经系统的作用[2-6]。红景天中的主要成分有红景天苷、大花红天素、酪醇、络塞维等[7]，红景天苷药理作用较为明确，《中国药典》2010 年版将其作为红景天属植物的主要指标性成分。大花红天素是大花红景天中特有的成分，专属性好[8]，在药材中量较高，对脑及肺微血管内皮细胞凋亡有调节作用[9-10]，故本实验选红景

收稿日期：2014-03-20

基金项目：国家科技部重大新药创制（2011ZX09401-097）

作者简介：伍小艳（1986—），女，广西桂林人，南京中医药大学 2011 级硕士研究生，研究方向为中药药剂学。
Tel: 13655135184 E-mail: w370071533@126.com

***通信作者** 萧 伟，男，博士生导师，研究员，研究方向为中药新剂型的研究与开发。Tel: (0518)81152337 E-mail: wzhzh-nj@vip.tom.com

天苷和大花红天素作为大花红景天药材质量控制的指标，建立了同时测定的方法，为红景天药材质量标准提升以及相关制剂的研发提供科学依据。

1 仪器与试药

Agilent 1200 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；蒸发光散射检测器（Alltech 3300）；XP6 电子天平（Mettler Toledo 公司）；BP211D 型电子分析天平（Mettler Toledo 公司）；红景天苷对照品（中国食品药品检定研究院，批号 110818-201005）；大花红天素（自制，批号 20131210）；乙腈（色谱纯）；水为纯化水，其余均为分析纯。红景天药材均产自西藏，共 10 批，经江苏康缘药业股份有限公司吴舟执业药师鉴定均为正品为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎。

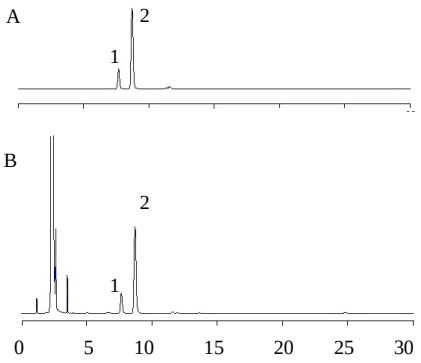
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-水（B），梯度洗脱程序为 0～30 min，10%～15% A；体积流量为 1 mL/min；柱温为 30 ℃；蒸发光检测器，以氮气为载气，漂移管温度 45 ℃，体积流量 2.0 L/min，增益 2。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

取红景天苷和大花红天素对照品适量，精密称定，置于 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成含红景天苷 0.40 mg/mL、大花红天素 1.07 mg/mL 的混合对照品溶液。



1-红景天苷 2-大花红天素

1-salidroside 2-crenulatin

图 1 混合对照品 (A) 和红景天药材 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and *Rhodiolae Sacrae Herbra* (B)

2.3 供试品溶液的制备

红景天药材约 0.5 g，精密称定，置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 10 mL，密塞，称定质量，超声 30 min，放凉，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 线性关系考察

分别取红景天苷和大花红天素对照品适量，精密称定，加甲醇制成对照品浓溶液（红景天苷 806.0 μg/mL、大花红天素 2 142.0 μg/mL）。精密量取 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、10.0 mL，分别置于 10 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，得系列混合对照品溶液。按“2.1”项色谱条件，分别精密吸取上述溶液各 10 μL，测定峰面积，以进样质量的常用对数为横坐标（X），峰面积常用对数为纵坐标（Y），进行线性回归，得到红景天苷回归方程为 Y＝0.938 4 X＋2.707 6，r＝0.999 6；大花红天素回归方程为 Y＝1.278 0 X＋2.516 9，r＝0.999 9。结果表明，红景天苷在进样量为 0.806～8.06 μg 具有良好的线性关系，大花红天素在进样量为 2.142～21.42 μg 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL，按“2.1”色谱条件，进样，测定，连续 6 次。以红景天苷、大花红天素的峰面积计算，RSD 分别为 1.04%、0.69%，表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取“2.3”项供试品溶液，分别于制备后 0、2、4、6、8、10、12 h 分别进样，按“2.1”项色谱条件测定，以红景天苷、大花红天素峰面积计算，结果 RSD 分别为 1.19%、0.76%，表明供试品溶液放置 12 h 稳定。

2.7 重复性试验

按“2.3”项下的方法，制备 6 份供试品溶液，按“2.1”项色谱条件测定，结果表明红景天苷的平均质量分数为 8.65 mg/g，RSD 为 1.82%，大花红天素的平均质量分数为 23.09 mg/g，RSD 为 1.19 %。

2.8 加样回收率试验

取红景天药材约 0.25 g，精密称定，置 100 mL 具塞锥形瓶中，加入含 2.17 mg/mL 红景天苷、5.82 mg/mL 大花红天素的混合对照品溶液 1 mL，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，平行制备 6 份，按“2.1”项下色谱条件进行测定，计算红景天苷、

大花红天素的平均回收率分别为 100.56%和 100.40%，RSD 分别为 1.90%和 1.60%。

2.9 样品测定

取红景天药材，按“2.3”项下方法制备 10 批红景天供试品溶液，每次进样量 10 μL。取“2.2”项下的对照品溶液，分别进样 5、10 μL。按“2.1”项下色谱条件测定，以峰面积的对数值按外标二点法计算，样品中的红景天苷、大花红天素的质量分数，结果见表 1。

表 1 红景天药材中红景天苷和大花红天素测定结果

Table 1 Determination of salidroside and crenulatin

编号	红景天苷 / %	大花红天素 / %	总量 / %
1	0.82	2.32	3.14
2	1.14	1.76	2.90
3	0.86	2.29	3.15
4	0.79	2.01	2.80
5	1.12	1.98	3.10
6	1.23	2.21	3.44
7	0.95	1.86	2.81
8	0.87	1.77	2.64
9	0.65	2.13	2.78
10	1.08	2.43	3.51

3 讨论

本实验比较了乙腈-水、甲醇-水 2 种流动相系统进行色谱分析，结果采用乙腈-水作为流动相。在优化流动相时，先采用等度洗脱，洗脱时间较短，但峰型及分离度均较差；采用梯度洗脱，洗脱时间延长，但峰型和分离效果都较好。

近年来，红景天的开发较热，在食品、化妆品、保健品和中药制剂方面都有较大投入，但红景天药材差异较大，相关质量标准有待完善，本实验选择主要有效成分红景天苷和大花红天素 2 个指标作为红景天药材的评价依据，对 10 个不同批次的红景天药材中红景天苷和大花红天素进行了定量研究，结果表明：两者单独的质量分数以及总和都具有一定的差异，在今后的研究应当综合考虑。

本实验建立了一种简便、快捷测定红景天药材中红景天苷和大花红天素的定量分析方法，该方法线性良好，准确度高、专属性强，可作为红景天药材质量控制的方法，为红景天药材质量标准的提升打下了基础。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 储戟农, 张早华, 刘建勋, 等. 红景天注射液对家兔血小板聚集率、大鼠体外血栓形成及血液黏度的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 39-41.

[3] 刘建明, 邱光明, 王 芳, 等. 红景天苷对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 基层医学论坛, 2011, 15(12): 1106-1107.

[4] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 228-234.

[5] 常 凯, 马丽利, 王亚雄, 等. 大花红景天尿苷二磷酸葡萄糖基转移酶基因组 DNA 的克隆及分析[J]. 中草药, 2013, 44(6): 736-743.

[6] 徐 琪, 祝世功, 周家文, 等. 红景天保护缺血再灌注损伤鼠脑细胞的作用及机理研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 1999, 16(3): 144-146.

[7] 张晓丹, 余自云, 张 茹. 红景天属植物的化学成分研究进展 [J]. 航空航天医药, 2006, 17(1): 61-63.

[8] 王 曙, 王锋鹏. 大花红景天化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1992, 27(2): 117-120.

[9] 钱睿哲, 张国平, 金惠铭, 等. 大花红天素对脑微血管内皮细胞凋亡的双相调节作用及机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(11): 2086-2090.

[10] 张国平, 金惠铭, 王文健, 等. 大花红天素对大鼠肺微血管内皮细胞凋亡影响的实验研究 [J]. 中国微循环, 2004, 8(5): 272-278.