

高效液相色谱法测定车前草中桃叶珊瑚苷的含量

方 芸 吴正红 裴云萍 陈志一(南京 210008 南京大学医学院附属鼓楼医院临床药理室)

摘要 目的:建立测定车前草中桃叶珊瑚苷含量的高效液相色谱法。方法:以 Nucleosil 7 - C₁₈(Φ4.6 × 250 mm, 10 μm) 为分析柱,流动相为甲醇 - 水(5: 95);柱温:25 ℃;检测波长:203 nm;流速:1.0 ml/min,采用面积外标法。结果:线性范围 2.50 × 10⁻² ~ 1.60 μg,平均回收率为 98.77%,RSD 为 1.69%(n = 5)。结论:本法简便、灵敏、重现性好,可用于测定车前草中桃叶珊瑚苷含量。
关键词 车前草;桃叶珊瑚苷;高效液相色谱法

Determination of aucubin in herba plantaginis by HPLC

Fang Yun(Fang Y), Wu Zhenghong(Wu ZH), Pei Yunping(Pei YP), et al(*The clinical Pharmacological Determent of the Affiliated Drum Tower Hospital of Medical College of Nanjing University, Nanjing 210008*)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a HPLC method for the determination of aucubin in herba plantaginis. **METHODS:** Column, Nucleosil 7 - C₁₈(Φ4.6 × 250 mm, 10 μm), mobile: methanol - water(5: 95), temperature, 25 ℃, detective wavelength, 203 nm, flow rate, 1.0 ml/min. External standard method. **RESULTS:** The method was linear within the range of 2.50 × 10⁻¹ ~ 1.60 μg, the average recovery was 98.77%, and the RSD was 1.69%(n = 50). **CONCLUSION:** The method is simple, sensitive, and highly reproductive, and it is suitable for analysis of aucubin in herba plantaginis.

KEY WORDS aucubin, herba plantaginis, HPLC

车前草是车前科车前属植物,是常用中药,具有利水通淋,清湿除热的功效,并有致泄、护肝降压,抑菌和降低血清胆固醇的作用。桃叶珊瑚苷(aucubin)为主要有效成分之一(徐国钧,何宏贤,徐璐珊等主编,中国药理学,下册,北京:中国医药科技出版社,1996:1589)。本文采用高效液相色谱法测定车前草中桃叶珊瑚苷的含量,方法准确,灵敏度高。

1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津);SPD-10A 紫外检测器;C-R7A 数据处理机;AG204 电子分析天平(上海梅特勒-托利多公司);pH 计(上海分析仪器厂);USA7512 进样器(定量管 20 μl);超声波振荡器(无锡超声电子设备厂)。桃叶珊瑚苷对照品(含量 98% 以上,日本和光纯药工业株式会社);车前草(*Plantago asiatica* L.)(南京中药饮片厂,由南京中医药大学中药学院陈建伟教授鉴定);Epstahl 试剂(称取对二甲氨基苯甲醛 0.25g 溶于冰醋酸 50g,85% 磷酸 5g 和 20 ml 混合液中,贮于棕色瓶中备用);甲醇为色谱纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Nucleosil 7 - C₁₈ Φ4.6 × 250 mm(10 μm);紫外检测波

长 203 nm;流动相:甲醇 - 水(5: 95, vol/vol);柱温 25 ℃;流量 1.0 ml/min;纸速 2 mm/min。

2.2 桃叶珊瑚苷标准曲线

精密称取桃叶珊瑚苷对照品约 8 mg 置 10 ml 量瓶中,加入适量甲醇溶解后再稀释至刻度,摇匀,则成桃叶珊瑚苷标准贮备液(0.8 mg/ml)。精密吸取 1.0 ml 置于 10 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密吸取 5 ml 置于 10 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,依次重复操作,配制 7 个浓度为 80.00, 40.00, 20.00, 10.00, 5.00, 2.50 和 1.25 μg/ml 的标准溶液,精密量取 20 μl 进样,按上述条件测定,结果在 1.25 ~ 80.00 μg/ml 浓度范围内,色谱峰面积(Y)和桃叶珊瑚苷浓度(X)之间呈线性关系。其回归方程为:Y = 7644.27 X - 267.59, r = 0.99998。

2.3 样品测定法

精密称取车前草细粉约 0.5g,置于磨口锥形瓶中,精密加入甲醇 10 ml,称重,置超声振荡器中超声提取 1.5 h,冷却后,再称重,补加甲醇至原重,过滤,弃去初滤液,收集续滤液,精密量取滤液 1.0 ml 置于 10 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,进样分析。按外标法以峰面积计算桃叶珊瑚苷

含量,结果3批不同产地车前草的桃叶珊瑚苷含量分别为0.35,0.82和0.69 mg/g, RSD分别为1.34%,1.19%和3.84% (n=3)。

2.4 空白试验

称取车前草细粉约0.5g,置于索氏提取器中,用乙醚提取约4h(提取液点于滤纸上,喷以Epstahl试剂后,于110℃加热10min,无蓝色斑点显示为止)。取出车前草细粉,挥尽乙醚,置磨口锥形瓶中,精密加入甲醇10ml,按样品测定项下操作,结果见表1。

表1 回收率试验结果

药材量/g	桃液珊瑚苷量/mg	加入对照品量/mg	峰面积	检出量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.291	0.201	0.82	78608	1.032	101.1		
0.312	0.215	0.82	77310	1.015	98.07		
0.304	0.210	0.82	76628	1.006	97.67	98.77	1.69
0.327	0.226	0.82	77430	1.016	97.13		
0.301	0.208	0.82	78234	1.027	99.90		

2.6 精密度试验

精密称取车前草细粉约0.5g,按样品测定项下操作,连续进样8次,每次进样20μl,测得计算桃液珊瑚苷峰面积及含量,求得RSD,结果见表2。

表2 精密度试验结果

次数	峰面积	含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
1	25904	0.688	
2	25729	0.683	
3	25280	0.671	
4	26031	0.691	
5	25237	0.670	1.39
6	25856	0.686	
7	25806	0.685	
8	26304	0.698	

2.7 重复性考察

表4 不同药用部位含量/n=3

编号	不同药用部位含量/μg·ml ⁻¹							
	花	RSD/%	叶	RSD/%	茎	RSD/%	根	RSD/%
1	84.40	4.60	51.50	3.21	293.40	3.25	1271.62	1.83
2	230.28	2.14	80.05	4.11	1437.33	2.89	3460.46	2.26
3	185.10	2.71	-	-	1532.74	1.72	1845.03	2.09

3 讨论

3.1 超声提取与索氏提取比较,含量无显著性差异。

3.2 分别用甲醇超声提取0.5,1.0,1.5和2.0h,结果表明超声提取达1.5h时有效成分的提取基本完全。

作,制备空白液,进样分析,从色谱图可知,空白液对桃叶珊瑚苷的测定没有干扰。

2.5 回收率试验

精密称取已知桃液珊瑚苷含量的车前草细粉约0.3g 5份,置于磨口锥形瓶中,分别加入1.0ml桃液珊瑚苷对照品甲醇溶液(0.82mg/ml),再分别加入9.0ml甲醇,称重,置超声振荡器中超声提取1.5h,按样品测定项下操作,计算桃液珊瑚苷量和回收率,结果见表1。

按样品测定项下操作,制取车前草供试液5份,进样测定,计算车前草中桃液珊瑚苷的含量,结果5份试液中桃液珊瑚苷的含量分别为0.669,0.676,0.649,0.648和0.694mg·g⁻¹,其平均值为0.667,RSD为2.90%。

2.8 不同超声时间对提取率的影响

精密称取车前草细粉约0.5g,共4份,按样品测定项下操作,结果见表3。

表3 不同超声时间对提取率的影响/n=3

时间/h	c/μg·ml ⁻¹	RSD/%
0.5	2.76	1.93
1.0	3.34	0.43
1.5	3.78	1.78
2.0	3.77	1.32

2.9 不同药用部位的含量

精密称取不同药用部位细粉约0.5g,按样品测定项下操作,测定含量,结果见表4。

3.3 不同产地的车前草桃液珊瑚苷含量差异较大,而且不同药用部位桃液珊瑚苷含量也有较大差异,所以在中药制剂生产过程中,要注意其原料药材的质量。

收稿日期:1999-06-18