

# 高效液相色谱法测定三叶香茶菜中齐墩果酸含量\*

## Determination of Oleandric Acid in Herba Isodonis Ternifoliae by HPLC

李艳苓, 王 勤, 陈 勇

LI Yan-ling, WANG Qin, CHEN Yong

(广西中医学院药学院, 广西南宁 530001)

(Medicinal College, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi, 530001, China)

**摘要:**采用高效液相色谱(HPLC)法,选用大连依利特 Hypersil ODS2 色谱柱,流动相甲醇-0.1%磷酸溶液(80:20),检测波长 207nm,柱温 22℃,测定广西三叶香茶菜中的齐墩果酸含量。结果表明,齐墩果酸在 0.175~7μg 之间呈线性关系,齐墩果酸平均回收率为 98.91%,RSD 为 1.886%。该方法准确可行,重复性好,可以作为测定三叶香茶菜中齐墩果酸含量的方法。

**关键词:**高效液相色谱法 齐墩果酸 三叶香茶菜

中图分类号:O657.72;R917 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2006)S0-0406-02

**Abstract:** A HPLC method was developed. The Elite Hypersil ODS2 column was used, and mobile phase was composed of CH<sub>3</sub>OH-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution (80:20), the detection wavelength was at 207 nm and the column temperature was 22°C. The result showed that oleandric acid had the linear range of 0.175~7μg, the average recovery of oleandric acid was 98.91%, RSD = 1.886%. The method of quantification is accurate, reliable and reproducible. It can be used effectively for the HPLC determination of oleandric acid in Herba isodonis ternifoliae.

**Key words:** HPLC, oleandric acid, herba isodonis ternifoliae

三叶香茶菜是唇形科植物牛尾草 [*Rabdosia ternifolia* (D. Don) Hara] 的干燥全草<sup>[1]</sup>, 又名三姐妹、虫牙药、伤寒头等, 为广西少数民族及民间用药。该药具有清热解毒、退黄利湿、消肿之功效, 用于感冒、咳嗽、黄疸、腹痛及急性肾炎等。现代化学研究结果表明, 三叶香茶菜中含有齐墩果酸、熊果酸、冬凌草素、10-表奥古素等化学成分。现代药理研究表明, 齐墩果酸有抗乙肝病毒, 促进肝细胞再生, 降低血清转氨酶作用。齐墩果酸制剂辅以维生素 C, 维生素 B<sub>1</sub> 可治疗急性黄疸性肝炎和慢性肝炎。为控制本品质量, 保证疗效, 我们对其中的有效成分齐墩果酸进行了含量测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

美国 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪; 四元泵, 在线脱气机, 自动进样器(G1313A), 柱温箱, 可变波长检测器, 超纯水系统(MILLIPORE); SB3200-T 超声清洗仪(功率 250W, 频率 50kHz, 必能信超声(上海)有限公司出品); LG16-W 离心机(北京医用离心机厂生产)。

甲醇为色谱纯, 其余的试剂均为分析纯, 水为高纯水。

齐墩果酸对照品由中国药品生物制品检验所提供, 供含量测定用, 批号: 0709-9803。药材采自广西金秀县, 东兰县, 南宁市郊区及广西药用植物园, 经广西中医学院药学院刘寿养副教授鉴定为唇形科植物牛尾草 [*Rabdosia ternifolia* (D. Don) Hara] 的干燥全草。

## 1.2 色谱条件

色谱柱: HpersilC<sub>18</sub> 分析柱(4.6mm×250mm); 流动相: 甲醇-0.1%磷酸水(80:20); 柱温 22℃; 流速 1ml/min; 检测波长 207nm; 进样量 20μl。对照品和样品的色谱图分别见图 1 和图 2。

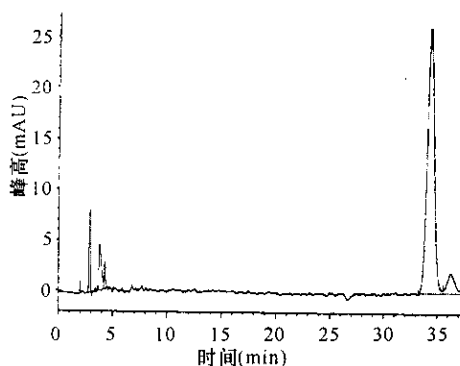


图 1 对照品色谱图

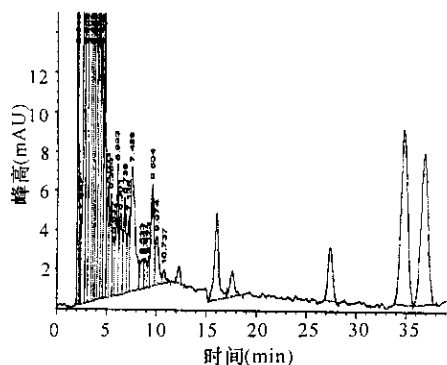


图 2 样品色谱图

## 1.3 供试品溶液制备

精密称取齐墩果酸对照品 3.5mg, 置 10ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液(0.35mg/ml)。精密称取三叶香茶菜粗粉 1g, 加 75%乙醇 50ml, 称重后浸泡 0.5h, 超声 0.5h, 放冷, 补足重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

## 1.4 线性范围

精密称取齐墩果酸对照品 7.0mg, 精密加入 10.0ml 甲醇配成 0.7mg/ml 的对照品溶液。精密量取该溶液, 加甲醇配成浓度为 0.0175mg/ml, 0.035mg/ml, 0.07mg/ml, 0.14mg/ml, 0.35mg/ml, 0.7mg/ml 的对照品溶液。吸取上述溶液, 依次进样 10μl, 以质量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为:  $Y = 478.79X - 1.63$ ,  $r = 0.9996$ , 线性范围 0.175~7.000μg。

## 1.5 精密度实验

取齐墩果酸对照品溶液(0.0467mg/ml), 重复进样 5 次, 测得峰面积分别为 1791.168, 1780.585, 1789.845, 1781.577, 1750.82, 1778.931,  $RSD =$

0.82%, 说明仪器精密度良好。

## 1.6 重现性试验

取已知含量的供试品, 称取 5 份, 依法操作, 测定齐墩果酸含量。结果平均含量为 0.265mg/ml,  $RSD = 1.5\%$ 。

## 1.7 稳定性试验

取供试品溶液, 每隔 2h 进样测定 1 次, 共进样 6 次, 测得齐墩果酸的含量分别为(%)0.35, 0.353, 0.338, 0.345, 0.35, 0.344, 0.349,  $RSD = 1.52\%$ , 说明样品溶液在 12h 内测定稳定。

## 1.8 加样回收率实验

取已测知齐墩果酸含量的药材 6 份, 加入齐墩果酸对照品适量, 按样品制备项的方法制备供试品溶液, 得 6 份供试品, 分别对每份供试品按前述色谱条件进行测定。测定结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果( $n=6$ )

样品(g)	相当齐墩果酸量(mg)	加入量(mg)	测得齐墩果酸量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.9972	2.6426	2.65	5.3390	101.75	98.91	1.886
0.9998	2.6495	2.57	5.1718	98.15		
0.9984	2.6458	2.65	5.1923	96.10		
1.0033	2.6587	2.76	5.3839	98.74		
0.9997	2.6492	2.57	5.1918	98.93		
1.0016	2.6542	2.61	5.2591	99.80		

## 2 样品含量测定

按拟定的含量测定方法, 对 4 批样品进行含量测定的结果为 0.143%, 0.131%, 0.065%, 0.113%, 0.059%, 0.070%。

## 3 结束语

在确定提取方法时, 本实验曾试用了超声, 回流, 索氏, 水解等不同提取方法, 提取效果相当, 但超声速度最快。不同提取试剂的试验结果是甲醇, 乙醇相当, 故选用低毒的乙醇。用正交实验确定最终提取方法。

曾试用乙腈-水、甲醇-乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸等多种溶剂系统不同比例进行的分离试验, 确定出以甲醇-0.1%磷酸溶液(80:20)为流动相, 齐墩果酸的分离效果较好。

## 参考文献:

- [1] Public Health Department of Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region. Standard for Chinese Medicinal Material of Guangxi[S]. Vol 1. Nanning: Guangxi Science and Technology Publishing House, 1996.