

## 多成分同时比较芫花及芫花叶化学组成

谢锦艳<sup>1,2</sup>, 范崇庆<sup>2,3</sup>, 宋小妹<sup>2\*</sup>, 顾雪竹<sup>2</sup>, 李婷婷<sup>2\*</sup>, 方婧<sup>2</sup>

(1. 陕西中医学院, 西安 712046; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 郑州大学药学院, 郑州 450000)

**[摘要]** 目的:多成分比较芫花花蕾和芫花叶的化学组成。方法:以芹菜素、木犀草素、羟基芫花素、芫花素为对照品,采用RP-HPLC方法测定芫花花蕾及芫花叶中4个成分的含量,比较2个药用部位的成分组成差异。Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸(58:42:0.5),流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长350 nm(木犀草素、羟基芫花素)、338 nm(芹菜素、芫花素),柱温35℃。结果:芫花花蕾中这4个成分的质量分数依次为0.017%、0.0884%、0.0699%、0.0593%,芫花叶中这4个成分质量分数依次为0.0118%、未检测到、0.0123%、未检测到。结论:芫花叶和芫花花蕾含有两个相同成分,但含量不同;而花蕾中的两个成分在叶中未检测到,表明叶与花蕾成分不同,可根据临床治病目的分别入药。

**[关键词]** 芫花花蕾; 芫花叶; 芹菜素; 木犀草素; 羟基芫花素; 芫花素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0099-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180099

## Compare of the Contents of Several Components in Flower Buds and Leaves of *Daphne genkwa*

XIE Jin-yan<sup>1,2</sup>, FAN Chong-qing<sup>1,3</sup>, SONG Xiao-mei<sup>2\*</sup>,  
GU Xue-zhu<sup>2</sup>, LI Rao-rao<sup>2\*</sup>, FANG Jing<sup>2</sup>

(1. Shaanxi College of Chinese Traditional Medicine, Xi'an 712046, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;  
3. College of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the content of four compounds in the flower buds and leave of *Daphne genkwa*. **Method:** Apigenin, luteolin, hydroxyl genkwanin, genkwanin were used as reference. The contents of the four compounds in the flower buds and leaves were detected by RP-HPLC method. The difference between the two parts were analyzed according to the data. Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); mobile phase of methanol - water (58: 42: 0.5), flow rate 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength of 350 nm (luteolin, hydroxyl genkwanin), 338 nm (apigenin, genkwanin), the column temperature was set at 35℃. **Result:** The levels of these four components yuanhuacine were: 0.017%, 0.0884%, 0.0699%, 0.0593%. *Daphne* leaves the content of these four components as follows: 0.0118%, not detected, 0.0123%, not detected. **Conclusion:** Studies showed that there were different compounds in the flower buds and leaves of the drug, so they should be used in clinic separately according to different clinical purpose.

**[Key words]** flower buds of *Daphne genkwa*; leave of *D. genkwa*; apigenin; luteolin; hydroxyl genkwanin; genkwanin

**[收稿日期]** 20140514(009)

**[基金项目]** 北京自然科学基金资助项目(7112097)

**[第一作者]** 谢锦艳, 硕士, 从事中草药药效物质基础研究, Tel: 13468916542, E-mail: lotusxie33@163.com

**[通讯作者]** \* 宋小妹, 博士, 教授, 从事中草药药效物质基础研究, Tel: 13636733632, E-mail: songxiaom@126.com;

\* 李婷婷, 博士, 副研究员, 从事中药饮片质量标准研究, Tel: 010-64014411-2975, E-mail: leeraorao@163.com

芫花花蕾用药历史悠久,始载于《神农本草经》,列为下品,为瑞香科植物芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. 的干燥花蕾,为峻下逐水药,具有利水、镇咳祛痰的功效,用于治疗水肿和咳嗽<sup>[1]</sup>。黄酮类成分中芫花素等为其主要的镇咳祛痰成分<sup>[2]</sup>。芫花叶为该植物的干燥叶,民间用于治疗牙痛<sup>[3]</sup>。

黄酮类成分在心血管方面的应用已有较久的历史,芫花花蕾中及其炮制品醋芫花中黄酮类成分的研究及含量测定已有报道<sup>[4-9]</sup>,芫花叶中黄酮苷类成分的含量测定也有报道<sup>[10]</sup>,而作为同一药用植物来源,不同的药用部位,二者成分的比较尚未见到报道,也曾有学者报道叶中含有与花蕾中相同的黄酮类成分,以该成分为依据,可以以叶代花入药,我们对此进行了研究,以多个单体成分为指标进行含量测定,以期为该药用植物的开发应用提供实验数据。

### 1 仪器与试剂

LC-20AT 型高效液相色谱仪(包括 LC-Solution 工作站,日本岛津),FA/JA 型 1/万电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司),BP-211D 型 1/10 万电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司),KX-30DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品:芹菜素(批号 111901-201102)购自中国食品药品检定研究院,羟基芫花素(批号 T20140115)购自经科化学,木犀草素、芫花素均为自制,经<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 鉴定结构,HPLC 面积归一化法确定纯度均 >98%。甲醇(美国 Fisher 公司,色谱纯),水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

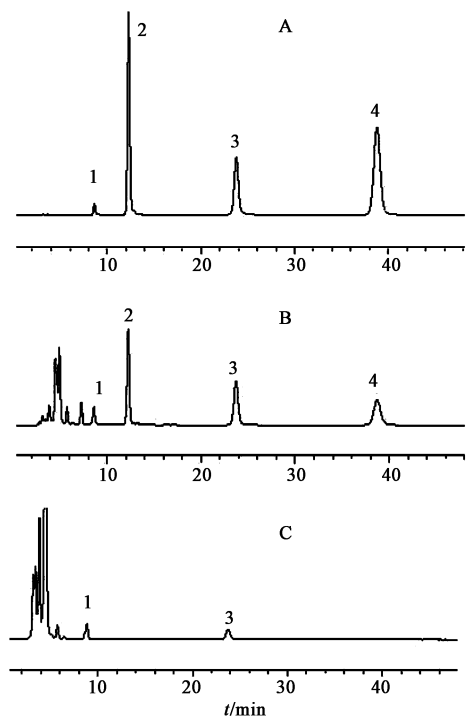
芫花的花蕾及叶均采自河南信阳,为野生品,经中国中医科学院中药研究所李尧尧副研究员鉴定为瑞香科植物芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc 的干燥花蕾和叶。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(58:42:0.5),流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 350 nm(木犀草素、羟基芫花素)、338 nm(芹菜素、芫花素),柱温 35 °C,进样体积 10 μL。在此色谱条件下木犀草素、芹菜素、羟基芫花素、芫花素分离度良好,对照品和样品色谱图见图 1。

#### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 分别称取木犀草素、芹菜素、羟基芫花素、芫花素对照品适量,精密称定,



A. 对照品;B. 芫花;C. 芫花叶;  
1. 木犀草素;2. 芹菜素;3. 羟基芫花素;4. 芫花素

图 1 芫花的花蕾及叶的 HPLC

分别配制成 0.050,0.095,0.099,0.095 g·L<sup>-1</sup> 的溶液,作为对照品溶液,备用。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 分别称取芫花花蕾和叶粉末(过二号筛),于 60 °C 烘 6 h,粉碎后取约 0.5 g,精密称定,加入甲醇 25 mL,称定质量,回流提取 1 h,放冷,称定质量,甲醇补足损失质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,过微孔滤膜(0.45 μm)作为供试品溶液。

**2.3 线性范围** 分别称取对照品木犀草素约 2 mg、芹菜素约 3.5 mg、羟基芫花素约 2.1 mg、芫花素约 3.5 mg,精密称定,置同一 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液的储备液,备用。分别精密吸取 2.2.1 项下的各对照品溶液 2,4,6,8,10 mL,分别置于 10mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得不同质量浓度对照品溶液。分别精密吸取系列对照品溶液 10 μL 进样测定,以峰面积为纵坐标(Y),以进样量(μg)为横坐标(X),绘制标准曲线,各对照品的线性方程、线性范围及相关系数见表 1。木犀草素、芹菜素、羟基芫花素、芫花素的进样质量分别在各自浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。分别取芹菜素对照品溶液和芫花素对照品溶液,依次稀释,不同浓度分别进样 10 μL,结果显示该检测条件下,芫花素和芹菜素的最低检测限分别

为  $1.47 \times 10^{-7}$  ng 和  $2.31 \times 10^{-7}$  ng。

表1 4种对照品的回归方程和线性范围

对照品	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}$	$r$
木犀草素	$Y = 5.21 \times 10^6 X - 3.12 \times 10^4$	0.1 ~ 0.5	0.999 9
芹菜素	$Y = 5.21 \times 10^6 X - 4.89 \times 10^4$	0.19 ~ 0.95	0.999 8
羟基芫花素	$Y = 2.87 \times 10^6 X - 5.65 \times 10^4$	0.198 ~ 1.98	0.999 6
芫花素	$Y = 5.96 \times 10^6 X - 5.49 \times 10^4$	0.19 ~ 0.95	0.999 9

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密密度试验** 取花蕾样品,按照 2.2.2 项下的方法制备供试品溶液,按照 2.1 项下的色谱条件,连续测定 6 次,记录木犀草素,芹菜素,羟基芫花素和芫花素的峰面积,其 RSD 分别为 0.78%,0.95%,1.03%,0.86%,表明仪器精密密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取同一样品 6 份,按照 2.2.2 项下的方法制备供试品溶液,按照 2.1 项下的色谱条件,分别进样测定,记录木犀草素,芹菜素,羟基芫花素和芫花素的峰面积,其平均含量 RSD 依次为 0.78%,0.95%,1.03% 和 0.86%,表明样品的制备方法稳定,重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,24 h 进样,测定各成分色谱峰的峰面积,木犀草素,芹菜素,羟基芫花素和芫花素 RSD 分别为 1.02%,1.31%,1.55%,0.96%,表明样品溶液在 12 h 内稳定性较好。

**2.4.4 回收率试验** 采用加样回收法,分别取芫花花蕾样品 6 份,每份约 0.25 g,依次加入木犀草素、芹菜素、羟基芫花素、芫花素对照品适量,按 2.2 项下制备供试品溶液,分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,测定,见表 2。各对照品加样回收率结果均在 95% ~ 105%。

**2.5 样品测定** 精密吸取按 2.2 项下制备的对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,进样测定,以外标一点法测定各成分含量,结果见表 3。

## 3 讨论

**3.1 色谱条件的选择** 分别采用甲醇-水-冰醋酸系统、乙腈-水-冰醋酸系统进行色谱分析,结果显示甲醇-水-冰醋酸系统下,目标峰与其他杂质峰分离度良好,因此选择该系统为洗脱系统。笔者对甲醇-水-冰醋酸的比例进行了选择,最终确定三者的比例为 (58:42:0.5)。

**3.2 检测波长的选择** 采用全波长扫描法,对 4 个成分的紫外吸收图进行了扫描,确定了木犀草素和羟基芫花素的检测波长为 350 nm,芹菜素和芫花素的检测波长为 338 nm。

表2 芫花花蕾中 4 个成分加样回收率试验

对照品	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均 回收率 /%	RSD /%
木犀草素	0.250 1	0.043 52	0.04	0.083 20	99.60	1.91
	0.250 3	0.043 55	0.04	0.082 79		
	0.250 2	0.043 53	0.04	0.082 41		
	0.250 3	0.043 55	0.04	0.084 15		
	0.250 1	0.043 52	0.04	0.083 32		
	0.250 2	0.043 53	0.04	0.084 37		
芹菜素	0.250 1	0.221 1	0.22	0.437 1	99.83	1.81
	0.250 3	0.221 3	0.22	0.436 0		
	0.250 2	0.221 2	0.22	0.445 8		
	0.250 3	0.221 3	0.22	0.439 7		
	0.250 1	0.221 1	0.22	0.444 6		
	0.250 2	0.221 2	0.22	0.441 6		
羟基芫花素	0.250 1	0.174 8	0.17	0.340 2	99.93	1.61
	0.250 3	0.175 0	0.17	0.344 3		
	0.250 2	0.174 9	0.17	0.345 2		
	0.250 3	0.175 0	0.17	0.344 6		
	0.250 1	0.174 8	0.17	0.348 7		
	0.250 2	0.174 9	0.17	0.345 6		
芫花素	0.250 1	0.148 3	0.15	0.299 1	99.23	1.52
	0.250 3	0.148 4	0.15	0.295 9		
	0.250 2	0.148 4	0.15	0.296 3		
	0.250 3	0.148 4	0.15	0.297 7		
	0.250 1	0.148 3	0.15	0.294 1		
	0.250 2	0.148 4	0.15	0.300 3		

表3 芫花花蕾、叶中 4 种指标性成分含量测定 ( $n=3$ )

样品名称	木犀草素	芹菜素	羟基芫花素	芫花素
芫花花蕾	0.882 8	4.494 4	7.642 1	3.042 6
芫花叶	0.589 2	-	1.246 4	-

注:“-”表示未检测到

**3.3 样品提取方法的选择** 分别采用超声提取、回流提取的方法对样品进行提取,结果显示,回流提取的提取率较高,因此选择回流为样品的提取方法。

**3.4 提取溶剂的选择** 取芫花花蕾样品 4 份,分别加入甲醇、乙醇、50% 甲醇和 50% 乙醇提取,结果显示甲醇中 4 个黄酮苷元类成分的含量最高,因此选择甲醇为提取溶剂。

芫花叶和花蕾中 4 个黄酮苷元成分的测定尚未见到报道,笔者对此进行研究后发现芫花花蕾中

# HPLC 测定醋酸地塞米松乳膏中维生素 E 的含量

关晶<sup>1</sup>, 张建民<sup>2</sup>, 谭征<sup>3\*</sup>

(1. 北京首儿李桥儿童医院, 北京 101304; 2. 首都儿科研究所, 北京 100020;  
3. 北京首儿药厂, 北京 101304)

**[摘要]** 目的: 建立 HPLC 测定醋酸地塞米松乳膏中维生素 E 含量的方法, 并用于醋酸地塞米松乳膏中维生素 E 含量的测定。方法: 采用 Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水(98:2), 检测波长 284 nm; 柱温 40 °C, 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 维生素 E 在 0.029 6 ~ 0.296 mg·L<sup>-1</sup> 具有良好的线性关系( $r = 0.999\ 9$ ), 平均回收率为 99.70% ~ 101.80%, RSD 为 0.9%。结论: 经方法学验证后, 确定本方法准确度高, 重复性好, 可作为醋酸地塞米松乳膏中维生素 E 的含量测定方法。

**[关键词]** 维生素 E; 高效液相色谱法; 含量测定; 醋酸地塞米松乳膏

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0102-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180102

## Determination of Vitamin E in Dexamethasone Acetate Cream by HPLC

GUAN Jing<sup>1</sup>, ZHANG Jian-min<sup>2</sup>, TAN Zheng<sup>3\*</sup>

(1. The Children's Hospital Beijing Shouer Liqiao, Beijing 101304, China;  
2. Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China;  
3. Beijing Shouer Pharmaceutical Factory, Beijing 101304, China)

**[收稿日期]** 20140703(101)

**[第一作者]** 关晶, Tel: 13651366990, E-mail: 1416302477@qq.com

**[通讯作者]** \* 谭征, 药师, Tel: 13683160242, E-mail: tanjarzheng@126.com

4 个成分均可以检测到, 而叶中检测到了木犀草素和羟基芫花素, 芹菜素和芫花素未检测到。所以如果基于这几个黄酮苷元成分探讨以叶代花使用的话, 建议分别入药。由于本实验基于一个产地的样品测定得到, 尚需进一步采集多个样品进行验证性实验。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 148.
- [2] 李娆娆, 王彩芳, 黄兰岚, 等. 芫花药材中 4 个黄酮苷元的定性鉴别定量分析[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 894.
- [3] 李娆娆, 刘延泽. RP-HPLC 法测定芫花叶中 3 种黄酮苷的含量[J]. 中草药, 2004, 35(7): 822.
- [4] 徐子芳, 李娆娆, 龚千锋, 等. 芫花不同药用部位芫花素和芫花酯甲含量比较[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(4): 59.

- [5] 李娆娆, 王彩芳, 黄兰岚, 等. 大孔树脂处理对芫花药材 HPLC 指纹图谱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 4.
- [6] 徐美丽, 刘昌辉, 吕渭升, 等. LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中芫花素的浓度及药物动力学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 51.
- [7] 李玲芝, 宋少江, 高品一. 芫花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(9): 587.
- [8] 逢楠楠, 毕开顺, 闫宝庆, 等. 芫花高效液相指纹图谱研究[J]. 中草药, 2010, 41(5): 818.
- [9] 孙倩, 武洁, 李菲菲, 等. 芫花化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 32(2): 94.
- [10] 王彩芳, 李海霞, 张振中, 等. 芫花叶中总提物和羟基芫花素的提取工艺[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2005, 40(6): 1155.

[责任编辑 顾雪竹]