

## RP-HPLC 测定桑椹中芦丁的含量

耿旦<sup>1</sup>, 马雯芳<sup>2</sup>, 甄汉深<sup>2\*</sup>, 丘琴<sup>2</sup>, 韦良宏<sup>1</sup>, 唐霞丽<sup>2</sup>

(1. 钦州市第一人民医院, 广西 钦州 535000; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 优化桑椹中芦丁的提取条件并建立芦丁的 HPLC 测定方法。方法: 采用单因素考察法优化桑椹中芦丁的提取条件, 采用 HPLC 法测定芦丁的含量, 色谱柱为 Agilent Zobax C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸 (19:81) 为流动相, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 360 nm, 柱温 30 °C。结果: 芦丁最佳提取条件为料液比 1:25, 50% 乙醇回流 60 min, 芦丁在 0.1~2.0 μg 有良好线性关系 ( $r=0.9999$ )。平均回收率为 102.4%, RSD 1.8% ( $n=6$ )。结论: 该方法简便、准确、可靠, 可作为桑椹中芦丁含量测定的方法。

**[关键词]** 反相高效液相色谱法; 桑椹; 芦丁; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0063-03

## Determination of Rutin in *Morus alba* by RP-HPLC

GENG Dan<sup>1</sup>, MA Wen-fang<sup>2</sup>, ZHEN Han-shen<sup>2\*</sup>, QIU Qin<sup>2</sup>, WEI Liang-hong<sup>1</sup>, TANG Xia-li<sup>2</sup>

(1. First People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535000, China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** Optimize the extract condition of rutin in *Morus alba* to establish a quantification method for rutin. **Method:** Single-factor analysis was applied to optimize the extract condition of rutin in *Morus alba*. HPLC was used in the determination of rutin on C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mixture of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (19:81) as a mobile phase at the flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. Rutin was detected at 360 nm, column temperature was 30 °C. **Result:** The optimal extract condition was the solid-to-liquid ratio 1:25, 50% ethanol refluxed for 60 min. The linearity of rutin was in the range of 0.1-2.0 μg. The average recovery rate of rutin was 102.4% with RSD 1.8% ( $n=6$ ). **Conclusion:** The determination method was simple, accurate and reliable, it could be used as the determination method of rutin in *Morus alba*.

**[Key words]** RP-HPLC; *Morus alba*; rutin; determination

桑椹在广西有广泛分布, 国家卫生部把桑椹列为“既是食品又是药品”的农产品之一, 具有滋阴养血、生津、润肠之功效, 现代研究表明, 桑椹具有抗老化<sup>[1]</sup>、抗疲劳<sup>[2-3]</sup>、增强免疫<sup>[4]</sup>、降血脂、抗动脉粥样硬化<sup>[5]</sup>等药理作用。芦丁是桑椹的有效成分, 具有清除自由基、抗脂质过氧化、舒张血管等作用<sup>[6]</sup>, 本

文采用 RP-HPLC 法对桑椹中芦丁的含量进行测定, 为桑椹的质量控制提供实验依据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 在线真空脱气机 (G-1322A), 高压四元泵 (G-1313A), 二极管阵列检测器, Agilent 1100 series 色谱工作站 (美国安捷伦科技公司); (G-1311A), 标准自动进样器 (G-1313A), 智能化柱温箱 (G-1316A), 可变波长检测器; SB3200T 型超声波清洗仪 (上海能信超声有限公司); BP211D 电子分析天平 (德国赛多利斯)。

**1.2 试剂与试药** 芦丁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 10080-200707, 供含量测定用); 桑椹药

**[收稿日期]** 2011-01-30

**[基金项目]** 广西卫生厅项目 (Z2009238)

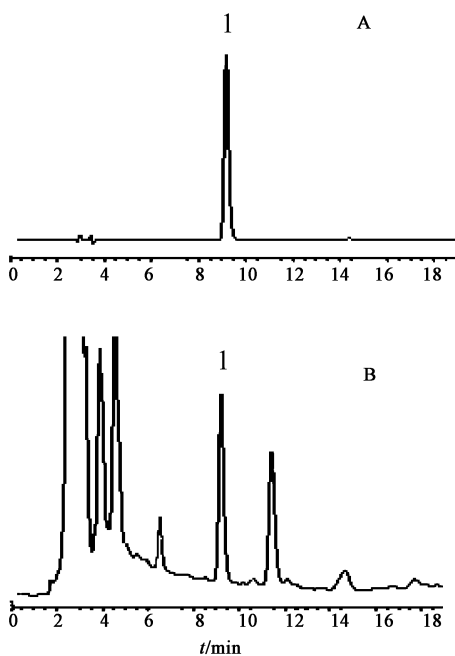
**[第一作者]** 耿旦, 副主任药师, 研究方向: 医院药学研究与与管理, Tel: 0777-2861656, E-mail: GD686@163.com

**[通讯作者]** \* 甄汉深, 教授, 从事中药与药理学教学与科研, Tel: 0771-2918239, E-mail: 8zhen@163.com

材分别采自广西南宁、钦州、合浦、平果、浦北,经广西中医学院刘寿养副教授鉴定为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥果穗;乙腈为色谱纯(天津四友精细化学品有限公司出品)、其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent Zobax C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-0.1%磷酸(19:81);检测波长 360 nm;流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;柱温 30 °C;进样体积 20 μL。在该色谱条件下,样品中芦丁分离良好,理论塔板数按芦丁计算大于 5 000。对照品和供试品色谱图见图 1。



1. 芦丁

图 1 芦丁对照品(A)桑椹供试品(B)液相色谱

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芦丁对照品 2.50 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,配制成浓度为 0.10 g · L<sup>-1</sup> 的芦丁对照品溶液,即得。

### 2.3 提取条件的考察

**2.3.1 提取方法** 回流提取法、冷浸 24 h 提取法及超声提取法 3 种提取方法,回流提取提取率较高,故本文选用回流提取为提取方法。

**2.3.2 提取溶剂** 分别比较了甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、乙醇、75% 乙醇、50% 乙醇,结果表明,50% 乙醇提取率较高,毒性小,且无杂质干扰,故提

取溶剂选用 50% 乙醇。

**2.3.3 料液的对比** 溶剂与药材的配比分别为 15, 20, 25 倍。结果表明,溶剂与药材的配比为 25 倍时,芦丁提取较为完全,故本文设定料液比为 1:25。

**2.3.4 提取时间** 分别考察了 30, 60, 90 min。提取时间为 60 min 时芦丁的提取率与 90 min 相似,为节省时间及能源提取时间设定为 60 min。

**2.3.5 供试品溶液的制备** 取 1 g 桑椹干燥粉末,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 25 mL,回流 60 min,放冷,用 50% 乙醇补足损失的质量,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

**2.4 线性关系的考察** 精密吸取芦丁对照品溶液(0.10 g · L<sup>-1</sup>) 0.5, 1, 2, 4, 8, 10 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。分别取上述 6 个不同浓度的标准溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件进行分析测定。以对照品标准溶液进样量(X, μg)为横坐标,其色谱峰面积为纵坐标(Y),绘制标准工作曲线,芦丁回归方程为  $Y = 1427.5X + 9.5924$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明,芦丁在进样量为 0.1 ~ 2.0 μg 呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 在选定的色谱条件下,精密吸取同一对照品溶液,进样 20 μL,连续进样 6 次,分析测定芦丁峰面积值,其 RSD 1.4%,表明仪器精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,于制备后的 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 h,注入高效液相色谱仪,测定其峰面积。结果芦丁峰面积 RSD 2.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.7 重复性试验** 取同一批桑椹药材样品约 1 g,共 6 份,精密称定,按 2.3.5 项下方法制备,按 2.1 项下条件测定,计算芦丁的含量,RSD 2.1%,表明该法重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的桑椹干燥粉末 0.5 g,共 6 份,分别精密加入与药材相当量的芦丁对照品(0.135 g · L<sup>-1</sup>) 溶液 1 mL,按 2.3.5 项下方法制备,计算加样回收率。芦丁平均回收率为 102.4%,RSD 1.8%,见表 1。

**2.9 含量测定** 分别取产于广西各地的桑椹干燥粉末约 1 g,精密称定,每批 3 份,按 2.3.5 项下方法制备,按 2.1 项下色谱条件进样,测定芦丁含量,见表 2。

表 1 芦丁加样回收试验 ( $n=6$ )

No.	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.500 5	0.139	0.135	0.280	104.3	102.4	1.8
2	0.500 4	0.139	0.135	0.281	104.8		
3	0.501 3	0.139	0.135	0.276	101.4		
4	0.500 6	0.139	0.135	0.274	100.0		
5	0.500 8	0.139	0.135	0.276	101.4		
6	0.500 4	0.139	0.135	0.278	102.8		

表 2 不同产地桑椹中芦丁的含量测定 ( $n=3$ )  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 

No.	采收地点	芦丁
1	广西南宁	0.281 1
2	钦州	0.510 4
3	合浦	0.441 2
4	平果	0.195 1
5	浦北	0.275 6

### 3 讨论

**3.1 流动相的选择** 曾考察过甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸等流动相,但峰形均不佳,以乙腈-0.1%磷酸(19:81)为流动相,分离度较好( $>1.5$ ),保留时间适中,峰形亦较好而选用。

**3.2 检测波长的选择** 在 200~400 nm 测定芦丁的吸收曲线,在 360 nm 波长处为最大吸收,灵敏度最高,因此采用 360 nm 作为检测波长。

本文建立的芦丁含量测定的方法,可以较好地反映桑椹中芦丁的含量,结果准确,重复性好,对桑椹质量控制有一定意义。但不同产地的桑椹含量差

别较大,有必要进行最佳产地的优选和不同采收期的含量比较研究。

### [参考文献]

- [1] 石瑛,袁保红,石磊,等.白桑椹对老年大鼠的抗老化与降脂作用研究[J].中国食品学报,2007,7(2):23.
- [2] 陶曙,江月仙.桑椹抗疲劳作用的实验研究[J].浙江中医杂志,2007,42(11):684.
- [3] 张莉,李志西,杜双奎,等.桑椹醋减肥与抗疲劳作用的动物试验[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(7):227.
- [4] 顾洪安,胡瀚月.桑椹对阴虚小鼠免疫功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(4):40.
- [5] 杨小兰,毛立新,张晓云.黑桑椹对高脂血症大鼠的降脂作用研究[J].食品科学,2005,26(9):509.
- [6] 臧志和,曹丽萍,钟铃.芦丁药理作用及制剂的研究进展[J].医药导报,2007,26(7):758.

[责任编辑 蔡仲德]

## 《中国中药杂志》2012 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2012 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。