

文章编号:1673-0062(2016)03-0098-05

## 不同产地、不同采收期及不同部位叶下珠药材柯里拉京含量的比较研究

范 适

(湖南环境生物职业技术学院 园林学院,湖南 衡阳 421005)

**摘 要:**对不同产地、不同采收期及不同部位叶下珠药材柯里拉京含量测定进行比较.分析采用 Hypersil ODS2(250 mm×4.60 mm,5 μm)色谱柱,以乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)二元系统梯度洗脱,柱温 25 ℃,流量 0.8 mL/min,检测波长 280 nm.柯里拉京在 0.458~4.580 mg/g( $r=0.995\ 9$ )呈良好的线性关系,加样回收率( $n=5$ )为 97.98%.结果表明:不同产地叶下珠药材柯里拉京的含量有较大差异,广东中山的含量最高达 4.224 mg/g;不同采收期叶下珠药材柯里拉京含量在 10 月 5 日达到最高,随后下降,建议叶下珠药材的采收期为每年的 10 月上旬;不同部位叶下珠药材柯里拉京含量差异较大,根含量很低,建议叶下珠药材只采收地上部分.本实验建立 HPLC 法测定叶下珠药材柯里拉京含量,该方法简便、准确、重现性好,可为叶下珠药材质量评价及质量控制提供依据.

**关键词:**高效液相色谱法;叶下珠;柯里拉京;比较研究

中图分类号:R282 文献标识码:B

## Comparative Study of Contents of Corilagin in *Phyllanthus urinaria* L. from Different Habitats, Different Harvest Time, Different Parts

FAN Shi

(School of Landscape Architecture, Hunan Polytechnic of Environment and Biology,  
Hengyang, Hunan 421005, China)

**Abstract:** To compare the content in corilagin of *Phyllanthus urinaria* L. from different habitats, different harvest time, different parts. The analysis was carried out on a Hypersil ODS2 column(250 mm×4.60 mm, 5 μm), mobile phase was acetonitrile(A)-0.1% phosphoric acid aqueous(B) with gradient elution, column temperature was maintained at 25 ℃, flow

收稿日期:2016-05-17

基金项目:湖南省教育厅青年基金资助项目(04B018);衡阳市科技局科技计划基金资助项目(2007KJ014)

作者简介:范 适(1969-),男,湖南衡阳人,湖南环境生物职业技术学院副教授,博士.主要研究方向:植物天然产物的研究与利用.

rate was 0.8 mL/min and detection wavelength was set at 280 nm. Corilagin showed good linear relationships within the ranges of 0.458~4.580 mg/g ( $r=0.9959$ ), whose average recoveries ( $n=5$ ) were 97.98%. The results was as follows: the content of corilagin in *Phyllanthus urinaria* L. varied greatly with different habitats, the highest is from Zhongshan City, Guangdong Province at 4.224 mg/g. The content of corilagin increased with the growth period, reached the highest in October 5th. It was suggested the best harvest time is early October each year. The content of corilagin from root was very low, therefore, suggested only collecting the aerial parts. This method is simple, accurate with good reproducibility, which can be used for the quality control of *Phyllanthus urinaria* L.

**key words:** high performance liquid chromatography; *Phyllanthus urinaria* L.; corilagin; comparative study

叶下珠(*Phyllanthus urinaria* L.)为大戟科叶下珠属植物叶下珠的干燥全草,有平肝清热、利水解毒之功效<sup>[1]</sup>.叶下珠有抗乙肝病毒及保肝护肝等药理作用<sup>[2-10]</sup>,且毒副作用小<sup>[5]</sup>,是一种值得开发的天然药物.柯里拉京为叶下珠主要活性成分<sup>[3,10]</sup>,因此,在叶下珠药材及成药中,柯里拉京为其主要质量控制成分.已有文献报道采用分光光度法<sup>[11]</sup>及高效液相色谱法(HPLC)<sup>[12-14]</sup>对叶下珠药材进行含量测定,笔者建采用HPLC法对不同产地、不同采收期及不同部位叶下珠药材柯里拉京含量进行比较研究,旨在为叶下珠的临床用药及质量控制提供依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

不同产地叶下珠药材,共11批(见表1),收集时间为2005年9月~10月,采集部位为叶下珠全草.不同采收期的叶下珠药材,共7批:于2005年7月20日至10月20日每隔15天采收一次,采自湖南环境生物职业技术学院校园内,采集部位为叶下珠全草.不同部位叶下珠药材,共4批:于2005年10月上旬采于湖南环境生物职业技术学院校园内,分成根、茎、叶及果四个部分.以上药材经湖南环境生物职业技术学院高迟教授鉴定为叶下珠(*Phyllanthus urinaria* L.).

### 1.2 主要试剂和溶液

甲醇、乙腈(HPLC级),购自湖南省化工研究院精细化工研究所;磷酸、醋酸、甲醇(AR级),购自国药集团化学试剂有限公司;对照品:叶下珠对照药材(批号121374-200401),柯里拉京(批号111623-200301),购自中国药品生物制品检定所.

对照品溶液:精密称取柯里拉京对照品适量,置10 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,作为

质量浓度为0.076 mg/mL的对照品溶液,备用.

表1 叶下珠药材样品信息表

Table 1 Sample information table of *Phyllanthus urinaria* L.

样品编号	样品来源
1	湖北 武昌
2	广东 中山
3	浙江 杭州
4	对照药材(中国药品生物制品检定所)
5	广西南宁
6	海南 儋州
7	江西 吉安
8	云南 昆明
9	湖南 邵阳
10	广东 湛江
11	湖南 郴州

供试品溶液:精密称取叶下珠药材样品细粉(过60目筛)250 mg,置具塞锥形瓶中,加入50%甲醇15 mL称质量,回流提取1.0 h,取出放冷,称质量,用50%甲醇补足缺失的质量,过滤,取上清液用微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ )滤过,即得.

### 1.3 主要仪器

岛津LC-VP系列高效液相色谱仪(包括DAD检测器、二元泵、Class-VP工作站,日本岛津公司);Sartorius CP225D电子天平(德国赛多利斯公司);KQ3200超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);EASypure II RF/UV型Barnstead超纯水处理器(美国赛默飞世尔).

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 色谱条件

色谱柱 Hypersil ODS2 250 mm  $\times$  4.60 mm, 5  $\mu\text{m}$ 粒径(购自大连化学物理研究所).流动相采用乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)二元系统梯度

洗脱:0~10 min A 由 3%升至 11%,10~30 min 由 11%升至 13%,30~45 min 由 13%升至 20%,45~55 min 由 20%升至 30%,55~65 min 由 30%升至 50%,65~70 min 由 50%降至 3%;柱温 25 ℃;流

量 0.8 mL/min;检测波长 280 nm;进样量 10 uL.在此色谱条件下对照品和叶下珠药材样品的分离结果见图 1.可见,叶下珠药材中化合物柯里拉京得到了基线分离.

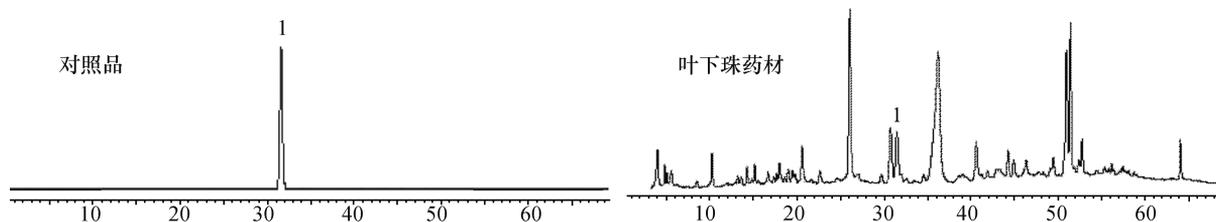


图 1 对照品和叶下珠药材的 HPLC 图谱 (1:柯里拉京)

Fig.1 HPLC chromatograms of reference substance and *Phyllanthus urinaria* L (1:corilagin)

#### 1.4.2 方法学验证

**精密度测定.**精密吸取柯里拉京对照品溶液 10 uL,重复进样 5 次,其峰面积 RSD 为 1.17%,说明仪器精密度良好.

**稳定性测定.**取同一份供试品溶液(药材产地为湖北武昌),分别在 0、2、4、8、16、24 h 检测,柯里拉京峰面积 RSD 为 1.25%,结果显示供试品溶液在 24 h 内稳定.

**重复性测定.**取同一批叶下珠药材(药材产地为湖北武昌)进行 5 次平行实验,结果柯里拉京的平均含量为 2.601 mg/g,RSD 为 1.48%,表明该方法重复性好.

#### 1.4.3 线性范围与标准曲线

取不同质量浓度的对照品溶液,按“1.4.1”项色谱条件测定,记录峰面积.以峰面积为纵坐标(Y),对照品质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线,在 0.458~4.580 mg/g 质量浓度范围内,柯里拉京的色谱峰面积与样品浓度呈良好的线性关系

(见图 2),回归方程为: $Y = 302172 X + 22305$ ,相关系数  $r = 0.9959$ .

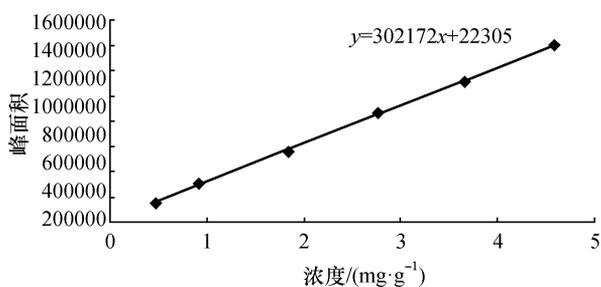


图 2 柯里拉京的标准工作曲线

Fig.2 The standard curve of corilagin

#### 1.4.4 回收率测定

采用加样回收的方法,精密称取已知含量的同一样品 5 份,分别加入不同量的柯里拉京对照品,按“1.4.1”项色谱条件测定,结果见表 2.

表 2 柯里拉京的回收率

Table 2 The rate of recovery of corilagin

编号	取样量/mg	样品中柯里拉京量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	$\bar{X}/\%$	RSD/%
1	268	0.697	0.304	0.977	97.59	97.98	1.17
2	265	0.689	0.304	0.980	98.64		
3	253	0.658	0.380	1.016	97.87		
4	257	0.668	0.380	1.042	99.35		
5	264	0.687	0.380	1.029	96.46		

## 2 结果与分析

### 2.1 不同产地叶下珠药材柯里拉京的含量

叶下珠不同产地药材柯里拉京的含量测定结

果见表 3,由表 3 可知,不同产地药材柯里拉京的含量差异较大,平均含量为 2.288 mg/g,广东中山的含量最高,为 4.224 mg/g,其次为湖南邵阳廉桥,为 4.171 mg/g,含量最低的是浙江杭州,为

0.982 mg/g,明显低于其它各产地,仅为最高的1/4.

表3 叶下珠不同产地药材柯里拉京含量测定结果( $n=3$ )

Table 3 Determination of samples of *Phyllanthus urinaria* L from different habitats ( $n=3$ )

产地	柯里拉京/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/%
湖北 武昌	2.601	1.31
广东 中山	4.224	0.93
浙江 杭州	0.982	1.34
对照 药材	1.059	0.58
广西南宁	2.286	1.24
海南 儋州	1.626	0.63
江西 吉安	1.984	0.79
云南 昆明	1.680	1.15
湖南 邵阳	4.171	1.27
广东 湛江	2.708	0.86
湖南 郴州	1.851	1.06
平均	2.288	-

## 2.2 不同采收期叶下珠药材柯里拉京的含量

叶下珠不同采收期药材柯里拉京的含量测定结果见表4,由表4可知,柯里拉京的含量随着生长期而增高,至10月5日其含量达到最高,为4.090 mg/g,随后含量下降,不同采收期药材柯里拉京的平均含量为2.345 mg/g.

叶下珠药材传统的采收期为夏秋(8~9月份)<sup>[1,11]</sup>,从不同采收期柯里拉京含量可以看出,其含量随着生长期而增高,在10月5日达到最高,随后下降,因此,建议叶下珠药材的采收期为每年的10月上旬.

表4 叶下珠不同采收期药材柯里拉京含量测定结果( $n=3$ )

Table 4 Determination of samples of *Phyllanthus urinaria* L from different harvest time ( $n=3$ )

采收期	柯里拉京/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/%
2005-07-20	1.730	0.76
2005-08-05	1.734	0.98
2005-08-20	1.462	1.29
2005-09-05	1.707	0.74
2005-09-20	2.502	1.34
2005-10-05	4.090	0.68
2005-10-20	3.193	0.85
平均	2.345	-

## 2.3 不同部位叶下珠药材柯里拉京的含量

叶下珠不同部位药材柯里拉京的含量测定结果见表5,由表可知,叶中柯里拉京的含量最高,为4.437 mg/g,其次为果、茎,根中柯里拉京含量最低,为0.895 mg/g,仅为叶的1/5,平均含量为3.053 mg/g.

叶下珠药材的药用部位是全草<sup>[1]</sup>,从不同部位柯里拉京含量可以看出,根的含量很低,仅为叶的1/5,且根所占重量比例不到20%,各成分含量又很低<sup>[10]</sup>,因此,建议叶下珠药材只采收地上部分.

表5 叶下珠不同部位药材柯里拉京含量测定结果( $n=3$ )

Table 5 Determination of samples of *Phyllanthus urinaria* L from different parts ( $n=3$ )

部位	柯里拉京/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/%
根	0.895	1.18
茎	3.163	0.56
叶	4.437	1.03
果	3.716	0.82
平均	3.053	-

## 3 结论

不同产地叶下珠药材柯里拉京的含量有较大差异,广东中山的含量最高达4.224 mg/g;不同采收期叶下珠药材柯里拉京含量在10月5日达到最高,随后下降,建议叶下珠药材的采收期为每年的10月上旬;不同部位叶下珠药材柯里拉京含量差异较大,根含量很低,建议叶下珠药材只采收地上部分.

## 参考文献:

- [1] 谢宗万.全国中草药汇编:上册[M].北京:人民卫生出版社,1978.
- [2] Syamasundar K V, Singh B, Thakur R S, et al. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs[J]. Ethnopharmacol, 1985, 14(1): 41.
- [3] 范适,李兰岚,饶力群,等.抗乙肝植物药叶下珠化学成分和药理作用研究进展[J].南华大学学报(自然科学版),2006,20(2):83-87,99.
- [4] Gunawan-Puteri M D, Kato E, Kawabata J.  $\alpha$ -Amylase inhibitors from an Indonesian medicinal herb, *Phyllanthus urinaria*[J]. J Sci Food Agric., 2012, 92(3): 606-609.
- [5] Gambari R, Borgatti M, Lampronti I, et al. Corilagin is a potent inhibitor of NF-kappaB activity and downregulates

- TNF- $\alpha$  induced expression of IL-8 gene in cystic fibrosis IB3-1 cells [J]. *Int Immunopharmacol.*, 2012, 13(3):308-315.
- [6] Yeo S G, Song J H, Hong E H, et al. Antiviral effects of *Phyllanthus urinaria* containing corilagin against human enterovirus 71 and Coxsackievirus A16 in vitro [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(2):193-202.
- [7] Jung J, Kim N K, Park S, et al. Inhibitory effect of *Phyllanthus urinaria* L. extract on the replication of lamivudine-resistant hepatitis B virus in vitro [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15(7):255-264.
- [8] 戴卫波, 肖文娟. 叶下珠药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(3):4898-500.
- [9] Trinh B T, Staerk D, Jäger A K. Screening for potential  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186(6):189-195.
- [10] 范适. 叶下珠保肝护肝有效成分的分离及 HPLC 指纹图谱研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
- [11] 张岚, 任丽娟, 李克明. 不同产地和采集季节叶下珠中鞣料云实精含量的比较 [J]. *中草药*, 2002, 33(2):157-159.
- [12] 范适, 左家哺, 易诚, 等. HPLC 法同时测定叶下珠胶囊中没食子酸和柯里拉京的含量 [J]. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2007, 33(5):636-638.
- [13] 孙敏. HPLC 法同时测定叶下珠中没食子酸, 原儿茶醛, 柯里拉京, 鞣花酸, 槲皮素的含量 [J]. *青岛医药卫生*, 2012, 44(5):325-328.
- [14] 闫小玉, 孙蒙, 杨国光, 等. RP-HPLC 法同时测定叶下珠中没食子酸、柯里拉京和短叶苏木酚的含量 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(1):45-49, 54.