

高效液相色谱法测定苦玄参药材中的苦玄参苷 I A 含量*

Determination of Piefeltarraenin I A Extracted from *Picria fel-terrae* Lour. by HPLC

甄汉深, 何翠薇, 陈 勇, 周吴萍, 苏春妹, 陆 晖

ZHEN Han-shen, HE Cui-wei, CHEN Yong, ZHOU Wu-ping, SU Chun-mei, LU Hui

(广西中医学院, 广西南宁 530001)

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

摘要:采用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C₈ 色谱柱(4.6×150mm, 5μm), 以乙腈-0.5% 醋酸(32:68) 为流动相, 流速 1ml·min⁻¹, 检测波长 264nm, 建立高效液相色谱法(HPLC), 测定广西梧州大坡种植基地和龙州县种植的苦玄参药材的茎、叶中苦玄参苷 I A 的含量。实验结果显示, 苦玄参苷 I A 在 2.28~11.4μg 范围内线性良好, 平均加样回收率为 101.1% RSD=2.4% (n=5), 梧州大坡种植基地和龙州县种植的苦玄参药材中苦玄参苷 I A 在茎、叶中的平均含量分别为 0.10%, 0.31%, 0.11%, 0.58%。本方法简便、快速, 重复性好, 可实际用于苦玄参药材中苦玄参苷 I A 含量测定。

关键词: 高效液相色谱法 苦玄参 苦玄参苷 I A 含量测定

中图分类号: O657.72; R284 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)S0-0403-03

Abstract: Using the Agilent ZORBAX Eclipse XDS C₈ column (4.6×150mm, 5μm), with the mobile phase acetonitrile-0.5% acid (32:68), determined by 264nm ultraviolet, 1ml/min flow rate, to quantify the main constituent Piefeltarraenin I A in the stems and leaves of *Picria fel-terrae* Lour., which were planted in Wuzhou, Dapo and Longsheng of Guangxi. The result showed that linearity of Piefeltarraenin I A was good in the range of 2.28~11.4μg, the recoveries of Piefeltarraenin I A were 101.1%, respectively with corresponding RSD=2.4% (n=5). The main constituent Piefeltarraenin I A in *Picria fel-terrae* Lour. in two places were 0.10%, 0.31%, 0.11%, 0.58%. The HPLC method has the characteristics of time saving, convenience, good repeatability which can be used for quantifying the main constituent Piefeltarraenin I A in *Picria fel-terrae* Lour.

Key words: high performance liquid chromatography, *Picria fel-terrae* Lour., Piefeltarraenin I A, content determination

苦玄参为广西地道药材,也是多种中成药的原料。来源于玄参科植物苦玄参(*Picria fel-terrae* Lour.)的干燥全草,产于我国广东、广西、云南和贵

州南部,在广西作药用历史已久。苦玄参性寒味苦,用于治疗高热、蛇伤及痈疖等,具有清热解毒,凉血消肿之功效^[1],市场需求量大。2000 版中国药典正文中尚未记载该品种,而有些以其为原料的中成药如妇炎净胶囊,已记载于中国药典中^[2]。苦玄参作为一种亚热带植物,广泛分布于我国南方各省区,是民间常用草药,并为多种广西特产中成药的原料。目前,对苦玄参的研究主要为苦玄参药材中化学成分

收稿日期:2006-03-18

作者简介:甄汉深(1956-),男,教授,主要从事中药、药学教学与科研工作。

* 国家中医药管理局课题民族项目(04-05ZM01);广西科技厅攻关项目(桂科攻 0235022-4);广西教育厅课题(桂教科研[2003]22 号)。

的分离分析^[3,4]及中成药中苦玄参苷 I A 含量的测定^[5~8],对药材质量的研究较少。本实验采用高效液相色谱(HPLC)法对广西梧州大坡苦玄参种植基地和广西龙州县种植的苦玄参药材茎和叶中苦玄参苷 I A 的含量进行研究,寻找一个简便、快速、重复性好的苦玄参苷 I A 含量测定方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent HP1100 高效液相色谱仪,(配置有 G1315B 紫外检测器, G1311A 四元梯度泵, G1322A 脱气机)(美国 Agilent 公司)。

苦玄参分别采于广西梧州大坡苦玄参种植基地和广西龙州县,经广西中医学院药学院刘寿养副教授鉴定为玄参科植物苦玄参(*Picria fel-terrae* Lour.)干燥的全草,分别取茎、叶两部分粉碎,过 100 目筛备用。苦玄参苷 I A 对照品由广西植物研究所提供,并经鉴定为单体纯品。

甲醇为优级纯,中国医药集团上海化学试剂公司出品;乙腈为色谱纯,天津市四友生物医学技术有限公司出品;其余实验试剂均为分析纯;水为超纯水,经过 0.45 μm 微孔滤膜滤过后使用。

1.2 色谱条件

Agilent ZORBAX Eclipse XDB C₈ 色谱柱(4.6 \times 150mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.5%醋酸(32:68);检测波长 264nm;流速 1ml \cdot min⁻¹。

1.3 对照品溶液制备

精密称取苦玄参苷 I A 57.0mg 置 50ml 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀得浓度为 1.14mg/ml 的对照品溶液。对照品的色谱图见图 1。

1.4 供试品溶液制备

采用正交试验所得最佳方法进行提取。精密称取约 1g 苦玄参药材粉末于 100ml 锥形瓶中,加入 45ml 75% 甲醇浸泡 10min,超声 20min,滤过,以少量 75% 甲醇洗涤药渣,合并滤液定容至 50ml 容量瓶,备用。取该样品溶液 1ml 于微型离心管,以 10000r/min 速度离心 10min,取上清液 10 μl ,进行 HPLC 分析。供试品的色谱图见图 2。

1.5 线性关系考察

精密吸取上述苦玄参苷 I A 对照品溶液 2ml、4ml、6ml、8ml、10ml 于 10ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别吸取 10 μl 进样测定。以峰面积为纵坐标,苦玄参苷 I A 含量为横坐标进行线性回归,得到方程 $Y = 612.872647X - 17.655185$, r

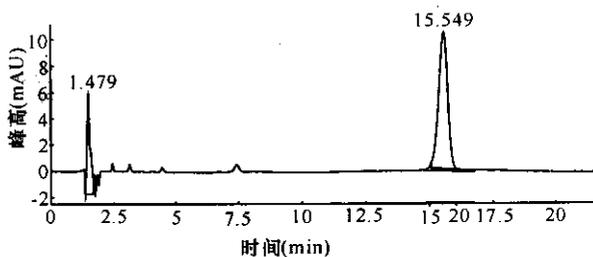


图 1 空白溶剂的 HPLC 色谱图

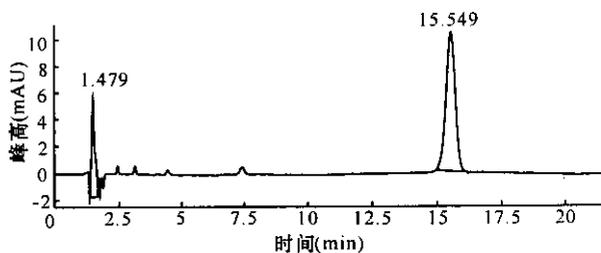


图 2 苦玄参苷 I A 的 HPLC 色谱图

$= 0.9995$, 线性范围为 2.28~11.4 μg 。

1.6 精密度试验

取同一供试品溶液,连续进样 5 次,计算得到苦玄参苷 I A 峰面积的 $RSD = 1.45\%$ 。

1.7 稳定性试验

取同一份供试品溶液,于配制后 0h、1h、2h、4h、6h、12h 依法测定苦玄参苷 I A 峰面积。 $RSD = 1.8\%$,说明样品溶液在 12h 内稳定。

1.8 回收率试验

精密称取已测得苦玄参苷 I A 含量的样品适量,共 5 份,分别精密加入苦玄参苷 I A 对照品溶液(1.14mg/ml)3ml,混匀,蒸干,按样品溶液制备方法制备待测溶液,按上述色谱条件测定,得平均加样回收率为 101.1% ($n = 5$), RSD 为 2.4%。详见表 1。

表 1 加样回收率($n = 5$)

编号	样品原含量(mg)	加入量(mg)	加样后测定值(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.822	3.42	7.25	100.1	101.1	2.4
2	3.802	3.42	7.25	100.4		
3	3.759	3.42	7.04	98.20		
4	3.791	3.42	7.54	104.6		
5	3.893	3.42	7.49	102.4		

2 样品测定

分别精密称取梧州苦玄参茎(1)、叶(2),龙州苦玄参茎(3)、叶(4)粉末约 1g,按上述方法制备成样品溶液,样品的色谱图见图 3,进样测定的结果见表 2。

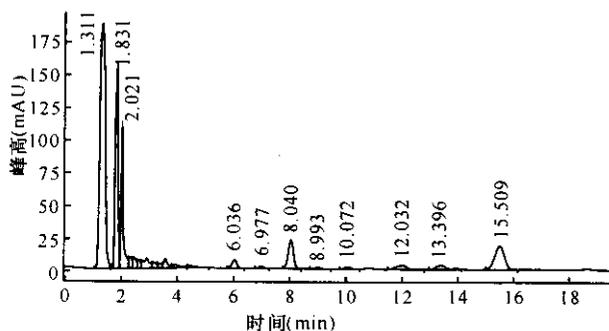


图3 苦玄参叶提取液的 HPLC 色谱图

表2 苦玄参苷 I A 含量测定结果 ($n=3$)

样品	试验号	峰面积				含量 (mg/ 100mg)	RSD (%)
		1	2	3	平均		
梧州	茎	112.246	109.404	106.292	109.314	0.1036	2.7
	叶	381.372	360.768	364.142	368.761	0.3123	3.0
龙州	茎	116.642	118.716	120.198	120.519	0.1111	1.5
	叶	700.352	690.866	702.388	697.869	0.5837	0.9

表2结果显示,两产地样品中苦玄参苷 I A 含量均较高,龙州县所产苦玄参中苦玄参苷 I A 含量高于梧州苦玄参中的苦玄参苷 I A 含量。

3 结束语

本实验以超声方法提取中药材苦玄参中有效成分苦玄参苷 I A,得到含量高,样品含量在 16h 内稳定,采用 HPLC 法作为苦玄参苷 I A 的含量测定方法的实验结果表明,本方法简便、快速、可靠。

两种不同产地的样品含量测定显示,龙州县所

产苦玄参中苦玄参苷 I A 含量较高,但由于两地苦玄参采收季节不完全相同,梧州稍微早于龙州,(梧州采收为春天,而龙州采收为夏秋成熟季节),这也可能是影响其含量的一个因素。今后还需要进一步对相同产地不同时间采收的苦玄参进行含量测定,以寻求最佳采收时间,得到有效成分含量更高的苦玄参药材。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区卫生厅编. 广西中药材标准[M]. 1990年版. 南宁:广西科学技术出版社,1992:225.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2000年版一部. 北京:化学工业出版社,2000:464.
- [3] LIN YOU-JUN, CHEN ZHONG-LIANG. New tetracyclic triperpene glycoside from *Picria fel-tarraf* Lour [J]. J Asian Nat Prod Res, 1998, 1(1): 21.
- [4] HUANG YING, DE BRUYNE TESS, APERS SANDRA, et al. Flavonoid glu-curonides from *Picria fel-tarraf* [J]. Phytochemistry, 1999, 52(8): 1701.
- [5] 蒋明廉. 苦玄参中苦玄参苷 I A 的含量测定[J]. 桂林医学院学报, 1997, 10(6): 698.
- [6] 陈勇. 几种含苦玄参的中成药定性定量研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2000, 17(2): 106.
- [7] 陈勇, 甄汉深, 黄衢. 炎肿化毒片的薄层鉴别及苦玄参苷 I A 的含量测定[J]. 中成药, 1997, 19(5): 14.
- [8] 陈勇, 甄汉深, 张延, 等. 炎见宁片的定性鉴别及其苦玄参苷 I A 的含量测定[J]. 中成药, 1997, 19(12): 12.

检测和评价体系缺位阻碍发展

目前,各种材料尤其是新材料,尽管测试了一些具体的理化数据,但如何将这些分散的测试数据加以汇总、分析、综合,建立材料全面评价体系,是目前亟待解决的问题。

以绿色环保材料为例,随着人们环保意识的增强,绿色环保材料近年来得到快速发展,应用日益广泛。但在绿色环保材料生态评价方面,仍缺乏标准和统一的测试方法及相应的指标体系。目前我国环保材料方面存在3种严重问题。一是,标准不适用性,即绿色环保材料的性能超出现有标准的适用范围,评价的结果存在明显的偏差,无法准确反映绿色环保材料的性能指标;二是,对于同一性能,不同行业根据绿色环保材料的不同应用,参考不同的标准进行评价,所获结果无法进行有效比较,无法评价和分辨出绿色环保材料的优劣;三是,对于绿色环保材料而言,相应的评价标准是滞后的,而且各个评价和检测机构难以获得一致公认的评价标准。我国绿色环保材料的研究尚处于初级阶段,新的功能材料不断涌现,而缺乏科学的材料性能评价体系,不仅造成了行业间以及行业内部的紊乱,而且造成了巨大的资源浪费。我国应该尽快建立评价体系,加快分析测试产业发展。