

南重楼中纤细薯蓣皂苷的鉴别及含量测定[△]

彭玲芳*, 张晓南, 冯莉萍, 崔涛[#](云南省药物研究所, 昆明 650111)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0384-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.30

摘要 目的:建立南重楼药材中纤细薯蓣皂苷的定性鉴别及含量测定方法。方法:采用薄层色谱法定性鉴别南重楼药材中的纤细薯蓣皂苷,并采用高效液相色谱法测定纤细薯蓣皂苷的含量。色谱柱为 Waters XTerra RP₁₈,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 203 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μl。结果:纤细薯蓣皂苷的 TLC 斑点清晰、分离度好。纤细薯蓣皂苷的进样量在 0.22~11.10 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2%;平均加样回收率为 100.81%,RSD 为 1.83%($n=3$)。结论:本方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于南重楼中纤细薯蓣皂苷的定性鉴别及含量测定。

关键词 南重楼;纤细薯蓣皂苷;薄层色谱法;高效液相色谱法;鉴别;含量测定

Identification and Content Determination of Gracillin in *Paris vietnamensis*

PENG Ling-fang, ZHANG Xiao-nan, FENG Li-ping, CUI Tao (Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To set up the method for TLC identification and content determination of gracillin in *Paris vietnamensis*. METHODS: The gracillin in *P. vietnamensis* was identified qualitatively by using TLC; HPLC method was adopted to determine the content of gracillin. The determination was performed on Waters XTerra RP₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 203 nm, and the column temperature was 30 ℃, the sample size was 10 μl. RESULTS: TLC spots of gracillin were clear and well-separated. The linear range of gracillin was 0.22-11.10 μg($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 100.81% (RSD=1.83%, $n=3$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the qualitative identification and content determination of *P. vietnamensis*.

KEYWORDS *Paris vietnamensis*; Gracillin; TLC; HPLC; Identification; Content determination

南重楼 *Paris vietnamensis* (Takht.) H.Li 为百合科重楼属多年生草本植物。我国共有约 16 种重楼属植物,其中,除北重楼不作重楼药用外,其他种的根状茎在民间均作药用^[1]。2010 年版《中国药典》(一部)记载重楼为百合科植物云南重楼 *P. polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch) 或七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch) Hara 的干燥根茎^[2]。《云南天然药物图鉴》^[3]、《云南植物志》^[4]、《重楼属植物》^[5]、《药用植物辞典》^[6]均记载了南重楼。其为云南习用药材,别称七枝莲、独角莲^[4]、七叶一枝花、重楼^[7]等,性苦,微寒,有小毒,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊的功效,可用于治疗疔疮痈肿、咽喉肿痛、蛇虫咬伤、跌扑伤痛、惊风抽搐等症。

2010 年版《中国药典》(一部)记载重楼的“含量测定”项采用高效液相色谱(HPLC)法测定重楼皂苷 I、II、VI、VII 的含量。南重楼根状茎中含有多种甾体皂苷,包括重楼皂苷 I、II、VI、VII 及纤细薯蓣皂苷^[8]。笔者前期的研究也表明,南重楼根状茎中纤细薯蓣皂苷含量较高,重楼皂苷 I、II、VI、VII 含量较低。为此,本研究拟建立南重楼中纤细薯蓣皂苷的薄层色谱(TLC)鉴别方法及含量测定方法,以期在南重楼药材的真伪

鉴别及质量控制提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

1100 型 HPLC 仪,包括在线脱气、自动进样、光电二极管阵列检测器、Chemstation 色谱工作站(美国 Agilent 公司); AG285 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

纤细薯蓣皂苷对照品由中国科学院昆明植物研究所制备(批号:20100801,纯度:99.43%);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

1.3 药材

南重楼药材样品均于 2010 年 8 月分别采自金平县余同厂乡(批号:20101032、20101105,家种)、绿春县大兴镇(批号:20100066、20100058、20100051,家种)、澜沧县竹塘乡(批号:20100017、20100049,家种)、勐腊尚勇镇(批号:20100013、20100078、20100088,家种),经中国科学院昆明植物研究所李恒研究员鉴定均为百合科植物南重楼 *P. vietnamensis* (Takht.) H.Li。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

取本品粉末 0.5 g,加乙醇 10 ml,水浴加热回流 30 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取纤细薯蓣皂苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照 TLC

[△] 基金项目:云南省科技计划项目(No.2011CG012)

* 高级工程师,硕士。研究方向:天然药物研发。E-mail: peng-lf428@126.com

[#] 通信作者:高级工程师,硕士。研究方向:天然药物研发。E-mail: Ctao-10@163.com

法[2010年版《中国药典》(一部)附录VI_B]试验,吸取上述两种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(15:5:1, V/V/V)的下层溶液^[9]为展开剂展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105℃加热至斑点显色清晰。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。TLC图见图1。

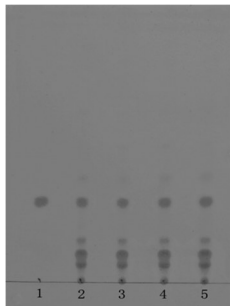


图1 薄层色谱图

1. 纤细薯蓣皂苷; 2~5. 供试品(批号: 20100088)

Fig 1 TLC chromatograms

1. gracillin; 2-5. test samples (lot No. 20100088)

2.2 含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 取纤细薯蓣皂苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含0.4 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品粉末(过3号筛)约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙醇25 ml,称定质量,水浴加热回流30 min,放冷,再次精密称定,用乙醇补足减少的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱: Waters XTerra RP₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~30 min, 35%→75% A); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 203 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μl。在上述色谱条件下, 纤细薯蓣皂苷对照品的保留时间约为16.7 min, 分离度>1.5; 理论板数按纤细薯蓣皂苷色谱峰计不低于5 000。色谱见图2。

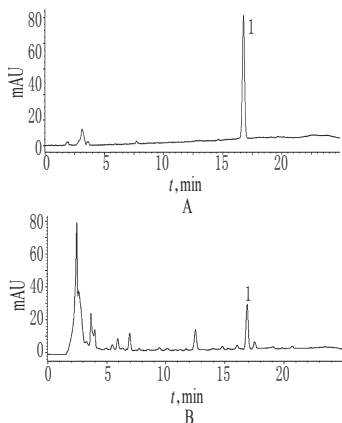


图2 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 纤细薯蓣皂苷

Fig 2 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test samples; 1. gracillin

2.2.4 线性关系考察 精密称取纤细薯蓣皂苷对照品适量,按“2.2.1”项下方法制成质量浓度分别为0.044、0.111、0.444、1.110、1.554、2.220 mg/ml的系列对照品溶液。分别精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.2.3”项下色谱条件进样测

定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、进样量(x, μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=369.49x-5.2725$ ($r=0.9999$)。结果表明,纤细薯蓣皂苷的进样量在0.44~22.20 μg范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl,按“2.2.3”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果RSD=0.63%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液10 μl,分别于0、2、4、8、16、24 h时,按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果RSD=1.30%,表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品(批号: 20100088)共6份,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量。结果,纤细薯蓣皂苷的含量为1.16%, RSD=1.10%,表明本法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知质量分数(1.16%)的同一批样品(批号: 20100088)约0.25 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再分别精密加入“2.2.1”项下对照品溶液(质量浓度为1.11 mg/ml)1.7、3.5、5.0 ml,各3份,自然挥干甲醇后进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=3)

Tab 1 Results of recovery tests(n=3)

称样量,mg	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
254.2	2.959	1.887	4.87	101.53		
249.5	2.904	1.887	4.81	100.77		
251.3	2.925	1.887	4.86	102.55		
241.3	2.809	3.885	6.60	97.67	100.81	1.83
249.5	2.904	3.885	6.89	102.51		
257.4	2.965	3.885	6.98	103.27		
254.5	2.962	5.550	8.54	100.55		
247.3	2.879	5.550	8.32	98.00		
252.4	2.938	5.550	8.56	101.24		

2.2.9 样品含量测定 取批号为20101032、20101105、20100066、20100058、20100051、20100017、20100078、20100088、20100013、20100049的样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品中纤细薯蓣皂苷的质量分数。结果,样品中纤细薯蓣皂苷的质量分数分别为1.609%、1.013%、2.045%、1.363%、1.528%、1.544%、1.085%、1.169%、1.209%、0.836%。

3 讨论

按2010年版《中国药典》(一部)中重楼的含量测定方法,选用不同比例的乙腈-水流动相系统进行考察。结果表明,采用上述流动相时纤细薯蓣皂苷不能达到有效的分离,因此笔者对乙腈-水的流动相系统进行了优化,最终选择了本研究的梯度洗脱条件,使纤细薯蓣皂苷达到了有效分离。

笔者还考察了不同的提取溶剂(稀乙醇、乙醇、甲醇或50%甲醇)、提取方式(加热回流、超声)及提取时间(30、50 min)对样品溶出结果的影响。结果表明,提取溶剂为乙醇、提取方式为水浴加热回流,提取时间为30 min时可达到较好的提取效果,且纤细薯蓣皂苷在第1次加热回流提取时就已基本提取完全。

综上所述,本方法操作简单、结果准确、重复性好,可用于南重楼中纤细薯蓣皂苷的定性鉴别及含量测定方法。

郁李仁配方颗粒的质量标准研究^Δ

晏小云*(江阴天江药业有限公司,江苏 江阴 214434)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0386-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.31

摘要 目的:建立郁李仁配方颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对郁李仁配方颗粒中的苦杏仁苷进行定性分析,采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中苦杏仁苷的含量。色谱柱为GP-Phenyl,流动相为乙腈-水(10:90, V/V),流速为0.8 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μl。结果:苦杏仁苷的TLC图斑点清晰、分离较好,阴性对照无干扰。苦杏仁苷质量浓度在50.92~611.04 μg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 8$);精密度的RSD<2%,稳定性、重复性试验的RSD<3%;平均加样回收率为101.07%,RSD为0.64%($n=6$)。结论:该方法操作简单、灵敏、专属性强、重复性好,可作为郁李仁配方颗粒的质量控制方法。

关键词 郁李仁配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;苦杏仁苷;质量标准

Quality Standard of Pruni Semen Formula Granules

YAN Xiao-yun(Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Jiangyin 214434, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Pruni Semen formula granules. METHODS: Pruni Semen formula granules were identified by TLC. The content of amygdalin was determined by HPLC. The determination was performed on GP-Phenyl column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (10:90, V/V) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 5 μl. RESULTS: TLC spots of amygdalin were clear and well-separated without interference from negative control. The linear range of amygdalin was 50.92-611.04 μg/ml ($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 101.07% (RSD=0.64%, $n=6$). RSD of precision test was lower than 2%, and RSDs of stability and reproducibility tests were lower than 3%. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, specific and reproducible, and can be used for the quality control for Semen pruni formula granules.

KEYWORDS Pruni Semen formula granules; TLC; HPLC; Amygdalin; Quality standard

郁李仁为蔷薇科植物欧李 *Prunus humilis* Bge.、郁李 *P. japonica* Thunb.或长柄扁桃 *P. pedunculata* Maxim.的干燥成熟种子,具有润燥滑肠、下气、利水之功效^[1]。郁李仁中含有的苦杏仁苷为其主要药效成分,是临床常用的祛痰止咳剂和辅助性抗癌药物^[2-4]。为有效控制郁李仁配方颗粒的质量,笔者参考原国家食品药品监督管理局《中药配方颗粒管理暂行规定》的相关要求,采用高效液相色谱(HPLC)法对郁李仁配方颗粒的质量标准进行了研究。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪(美国Agilent公司);REPROSTAR 3型薄层自动成像仪(瑞士CAMAG公司);BS110S型万分之一天平(德国赛多利斯公司);十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-250B型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);硅胶G薄层板(20 cm×10 cm,青岛海洋化工厂)。

1.2 药品与试剂

郁李仁配方颗粒(江阴天江药业有限公司,批号:1210008、1207085、1202037、1110100、1107095、1101086、1009031、1003112、0907216);苦杏仁苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:1108020-201305,纯度>98%);其余试剂均为分

参考文献

- [1] 边洪容,李小娜,王会敏,等.重楼的研究及应用进展[J].中药材,2002,25(3):218.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:243.
- [3] 云南省药物研究所.云南天然药物图鉴:第四卷[M].昆明:云南科技出版社,2007:298.
- [4] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志:第八卷[M].北京:科学出版社,1997:654.
- [5] 李恒.重楼属植物[M].北京:科学出版社,1998:27.
- [6] 江纪武.药用植物辞典[M].天津:天津科学技术出版社,2005:571.
- [7] 中国中医研究院中药研究所.全国中草药名鉴:上册[M].北京:人民卫生出版社,1996:987.
- [8] 黄芸,崔力剑,王强,等.南重楼 *Paris vietnamensis* 活性物质的分离与鉴定[J].药学学报,2006,41(4):361.
- [9] 高群,呼梅,徐陆平,等.丹重搽剂质量标准研究[J].中国药房,2008,19(12):924.

^Δ 基金项目:上海市中药标准化研究项目(No. ZYSNXD-CC-BZH)

* 研究员,硕士。研究方向:中药质量标准。电话:0512-58451790。E-mail: 573960078@qq.com

(收稿日期:2013-12-27 修回日期:2014-03-06)

(编辑:孙冰)