

# HPLC 测定广西产匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 含量

丘琴<sup>1,2</sup>, 甄汉深<sup>2\*</sup>, 黄小秋<sup>2</sup>, 黄培倩<sup>2</sup>, 石琳<sup>2</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 对广西产匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 的含量进行测定, 为科学评价及有效控制其质量提供依据。方法: 采用高效液相色谱法, 以氨基柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 为色谱柱, 流动相乙腈-水 (87:13), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 207 nm。结果: 牛弥菜醇 A 在 2.4~12 μg 与峰面积成良好的线性关系 ( $r=0.9997$ ), 平均回收率为 101.39%, RSD 0.74%。结论: 所建立的方法准确, 快速, 灵敏度高, 重复性好, 可作为广西产匙羹藤叶的质量控制方法。

**[关键词]** 匙羹藤叶; 牛弥菜醇 A; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0136-03

## Determination of Conduritol A in Leaf of *Gymnema sylvestre* by HPLC

QIU Qin<sup>1,2</sup>, ZHEN Han-shen<sup>2\*</sup>, HUANG Xiao-qi<sup>2</sup>, HUANG Pei-qian<sup>2</sup>, SHI Lin<sup>2</sup>

(1. Chengdow University of Tradition Chinese Medicine, Chengdow 611137, China;

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

**[Abstract]** **Objective:** To determine the content of conduritol A in the leaf of *Gymnema sylvestre*. **Method:** HPLC was adopted, the separation was performed on a Thermo NH<sub>2</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), acetonitrile-water (87:13) was used as the mobile phase, the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at 207 nm. **Result:** The liner range of conduritol A was 2.4-12 μg ( $r=0.9997$ ), the average recovery rate was 101.39%, RSD was 0.74%. **Conclusion:** The method was accurate, sensitive, quick and simple. It can be used as the quality control method of the leaf of *G. sylvestre*.

**[Key words]** *Gymnema sylvestre*; conduritol A; HPLC

匙羹藤又名金刚藤、武靴藤、羊角藤, 为广西民间用药, 具有清热解毒、祛风止痛功效, 用于风湿关节痛、痈疔肿毒、毒蛇咬伤<sup>[1-2]</sup>。牛弥菜醇 A 是匙羹藤降血糖的主要有效成分之一。韦建华等<sup>[5]</sup>研究表明牛弥菜醇 A 能明显降低四氧嘧啶性糖尿病小

鼠的血糖值, 增强正常小鼠的负荷糖耐量, 对抗肾上腺素引起的小鼠血糖升高。目前采用 HPLC 测定匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 的含量未见有公开报道, 本实验采用 HPLC 对广西产匙羹藤叶中的牛弥菜醇 A 进行了含量测定, 为广西匙羹藤叶质量控制方法的建立提供了科学依据。

### 1 材料

**1.1 仪器** Agilent 1100 高效液相色谱仪, 含在线真空脱气机, 高压四元梯度泵, 标准自动进样器, 智能化柱温箱, 可变波长检测器, HP1100 色谱工作站; BP211D 型电子分析天平 (德国赛多利斯), KQ-200VDB 型双频数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), Millipore Simlicity-185 超纯水器 (美国密里博公司)。

**1.2 试药** 匙羹藤叶采于广西南宁地区 (安吉、邕

**[收稿日期]** 2011-12-16

**[基金项目]** 广西自然科学基金项目 (桂科自 0229044); 广西教育厅科研项目 (桂教科 2001); 广西中医学院重点科研项目 (ZD2004010)

**[第一作者]** 丘琴, 博士研究生, 从事药学和中药学的教学和科研工作, Tel: 0771-3124407, E-mail: qiuqin1239@163.com

**[通讯作者]** \* 甄汉深, 教授, 博士生导师, 从事药学和中药学的教学和科研工作, Tel: 0771-2918239, E-mail: 8zhen@163.com

宁、武鸣、隆安、崇左、扶绥),经广西中医学院梁子宁副教授鉴定为萝藦科植物匙羹藤 *Gymnema sylvestre* (Retz.) Schult 的干燥叶;牛弥菜醇 A 对照品(自制,纯度大于 98%);甲醇,乙腈为色谱纯,水为高纯水,其余试剂为分析纯。

## 2 对照品牛弥菜醇 A 的纯度测定

mp:139 ~ 141 °C。牛弥菜醇 A 的 IR 见图 1。可见-紫外光谱见图 2。

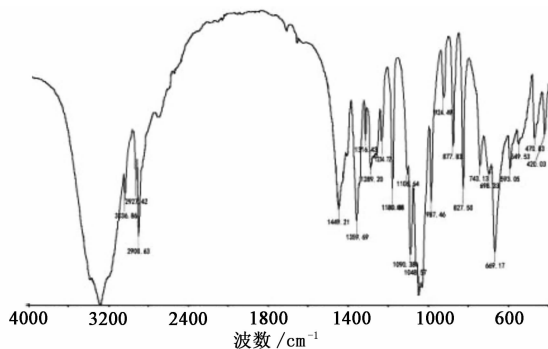


图 1 牛弥菜醇 A 的 IR (测定条件:KBr 压片)

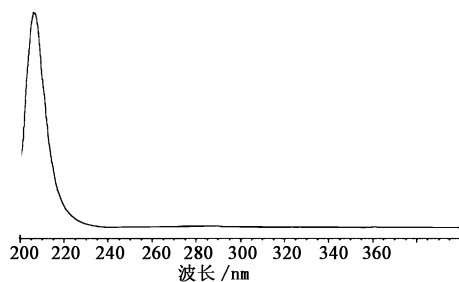


图 2 牛弥菜醇 A 可见-紫外光谱

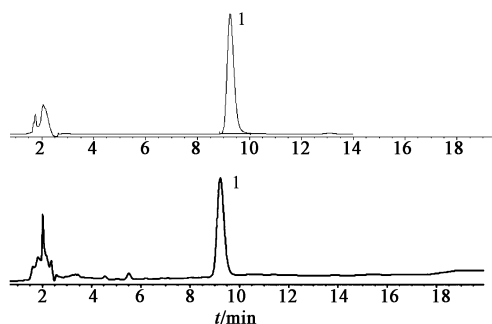
在薄层色谱中,用 3 个展开系统,6 个不同浓度的梯度点样,对牛弥菜醇 A ( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 进行纯度检查,均为单一斑点,未见杂质斑点;在 HPLC 中,用两种不同的流动相系统乙腈-水(90:10);甲醇-水(88:12)对牛弥菜醇 A ( $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 进行纯度检查,结果测定对照品质量分数分别为 99.04%, 98.84%,符合化学对照品要求。

## 3 方法与结果

**3.1 色谱条件** 色谱柱为氨基柱(汉邦公司,  $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ ),流动相乙腈-水(87:13),流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,检测波长 207 nm,进样量  $10 \mu\text{L}$ 。在此色谱条件下,样品在与对照品相对应的保留时间出现相同的色谱峰,且分离度良好,见图 3。

**3.2 对照品溶液的制备** 精密称取牛弥菜醇 A 对照品 15.00 mg,加 50% 甲醇溶解,并定容至 25 mL 量瓶中,即得(每 1 mL 含牛弥菜醇 A 0.6 mg)。

**3.3 供试品溶液的制备** 取匙羹藤叶粉末约 0.5 g,精密称定,精密加入 25.00 mL 50% 甲醇,称重,超



1. 牛弥菜醇 A

图 3 牛弥菜醇 A 对照品(A)及匙羹藤叶供试品(B) HPLC 声提取 30 min,放冷,补重,滤过,滤液进行离心,取上清液即得。

**3.4 线性关系的考察** 分别精密吸取 3.2 项下牛弥菜醇 A 对照品溶液( $0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1, 2, 3, 4, 5 mL,置 5 mL 量瓶中,并分别用甲醇稀释至刻度,精密吸取  $20 \mu\text{L}$  进样。以牛弥菜醇 A 峰面积为纵坐标(Y),以牛弥菜醇 A 质量为横坐标(X),进行线性回归,绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 318.73X + 72.98$  ( $r = 0.9997$ )。结果表明牛弥菜醇 A 在 2.4 ~ 12  $\mu\text{g}$  呈良好的线性关系。

**3.5 精密度试验** 取对照品溶液,连续进样 5 次,每次进样  $10 \mu\text{L}$ ,对峰面积进行考察,峰面积的 RSD 0.37%,结果表明仪器精密度良好。

**3.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 h 进样分析,记录色谱图,对峰面积进行考察,计算峰面积的 RSD 0.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**3.7 重复性试验** 取样品 6 份,分别按 3.3 项下供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按 3.1 项下的色谱条件进行测定,并计算其牛弥菜醇 A 含量,结果牛弥菜醇 A 的平均含量为  $42.59 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 0.61%,该方法重复性良好。

**3.8 加样回收率试验** 取约 0.25 g 匙羹藤叶(牛弥菜醇 A 含量为  $42.59 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 粉末 6 份,精密称定,分别精密加入牛弥菜醇 A 对照品适量,按供试品溶液制备方法制备,并按上述色谱条件进行测定,计算牛弥菜醇 A 加样回收率。结果牛弥菜醇 A 的平均回收率为 101.39%, RSD 0.74%,见表 1。

**3.9 样品含量测定** 样品按不同地点(广西南宁地区:安吉、邕宁、武鸣、隆安、崇左、扶绥)取样。分别取匙羹藤叶粉末 6 份,按 3.3 项下供试品溶液制备方法制备,并按上述色谱条件进行测定,结果见表 2。

表 1 牛弥菜醇 A 的加样回收率试验

No.	称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.2486	10.69	10.52	21.35	101.32		
2	0.2585	11.01	10.52	21.65	101.14		
3	0.2555	10.88	10.52	21.61	101.10	101.39	0.74
4	0.2510	10.69	10.52	21.46	102.32		
5	0.2508	10.68	10.52	21.43	102.18		
6	0.2576	10.97	10.52	21.52	100.29		

表 2 匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 含量测定 (n = 3)

样品	称样量/g	样品含量/mg·g <sup>-1</sup>	RSD/%
安吉	0.5009	44.09	1.58
邕宁	0.5007	41.97	0.71
武鸣	0.5003	42.58	0.94
隆安	0.5006	42.59	0.16
崇左	0.5010	42.97	0.84
扶绥	0.5004	43.34	0.26

#### 4 讨论

通过全波长扫描得到牛弥菜醇 A 在 207 nm 有最大吸收,因此选择 207 nm 为检测波长。

对于牛弥菜醇 A 的 HPLC 测定,曾采用乙腈-水和甲醇-水流动相系统,经对比试验表明,乙腈-水(87:13)分离效果好,适于本品的含量测定;曾采用超声提取法,回流提取法和索氏提取法考察牛弥菜

醇 A 最优的提取方法,结果表明超声提取法提取的效率最高,且简便快速。

#### [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海人民出版社,1977:2461.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1978:573.
- [3] Porchezian E, Dobriyal R M. An overview on the advances of *Gymnema sylvestre*: chemistry, pharmacology and patents[J]. Pharmazie, 2003, 58(1): 5.
- [4] 甄汉深,梁洁,吴怀恩,等. 匙羹藤的研究进展[J]. 广西中医学院学报, 2004,7(1):63.
- [5] 韦建华,甄汉深,丘琴,等. 匙羹藤有效成分牛弥菜醇 A 降血糖作用研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(24):2961.

[责任编辑 蔡仲德]