

虎耳草根、茎、叶中岩白菜素的含量研究

黄志金^{1,2}, 赵杨^{1,2}, 赵超^{1,2}, 周欣^{1,2*}, 杨占南²

(1. 贵州师范大学天然药物质量控制研究中心, 贵阳 550001;

2. 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001)

[摘要] **目的:**比较贵州不同地区虎耳草根、茎、叶中岩白菜素的含量差异,为其合理用药及质量控制提供科学依据。**方法:**采用高效液相色谱法对虎耳草不同部位的主要药效成分岩白菜素进行定量分析。**结果:**贵州不同产地虎耳草的同一药用部位中岩白菜素的含量具有一定差异;同一地区产的虎耳草不同部位岩白菜素的含量也不尽相同,叶子中岩白菜素含量高于茎中,根中的岩白菜素含量最低。**结论:**本研究建立了虎耳草根、茎、叶中岩白菜素的含量测定方法,该方法准确、简便、快速、稳定、重现性好,可以作为虎耳草全面质量评价的方法之一。

[关键词] 虎耳草; 岩白菜素; 不同部位; 定量分析; 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)02-0086-03

Study on the Content of Bergenin in Roots, Stems and Leaves of *Saxifraga stolonifera*

HUANG Zhi-jin^{1,2}, ZHAO Yang^{1,2}, ZHAO Chao^{1,2}, ZHOU Xin^{1,2*}, YANG Zhan-nan²

(1. The Research Center for Quality Control of Natural Medicine,
Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China;

2. Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and
Protection of Ecological Environment, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the differences of bergenin content in different parts of *S. stolonifera* from different regions in Guizhou province, and provides the scientific basis for reasonable medication and quality control of *S. stolonifera*. **Method:** The bergenin content in different parts of *S. stolonifera* was quantitative analyzed by HPLC. **Result:** The difference of bergenin content in identical part of *S. stolonifera* from the different regions was significant, and the bergenin content in the different parts of identical *S. stolonifera* was different too; and that in leaves was better than in stems, which in the roots was the lest. **Conclusion:** The method for determination of bergenin in the different parts of *S. stolonifera* was established, which was exact, simple, fast, stable and reproducible so that may be used as one of the methods for quality evaluation of *S. stolonifera*.

[Key words] *Saxifraga stolonifera*; bergenin; different parts; quantitative analysis; HPLC

虎耳草为虎耳草科虎耳草属植物虎耳草的新鲜叶等,主要分布于华东、中南和西南南部以及河南、或干燥全草,又名金丝荷叶、耳朵草、老虎草和石荷 陕西等地。虎耳草全草可入药,具有疏风清热、凉血

[收稿日期] 2011729(005)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合中药字[2010]5023号);贵州省科技创新人才团队建设项目[黔科合人才团队(2011)4008];贵阳市科学技术计划项目([2010]筑科合同字第1-中-23号);贵阳市科学技术计划项目([2010]筑科计合同字第3-重-1号)

[第一作者] 黄志金,硕士研究生,药用植物开发与利用,E-mail: lthy88888@sina.com

[通讯作者] *周欣,博士,教授,从事中药、民族药质量控制,中药指纹图谱以及中药新药研发,E-mail: alic9800@sina.com

解毒等功效;用于风热咳嗽、急性中耳炎、大泡性鼓膜炎、风疹瘙痒^[1]。目前,对虎耳草的质量控制研究,都是针对虎耳草全草中各成分的含量测定^[2-5]。由于植物中不同部位中的成分及其含量都存在一定差异,这关系到用药部位的选择和药效;而岩白菜素是虎耳草中的主要化学成分,具有抗炎镇痛^[6]和抗脂质过氧化^[7]等作用。所以,只有对其根、茎和叶中岩白菜素的含量进行明确的研究,才能实现对其质量的全面评价及分析。本研究采用高效液相色谱法测定贵州不同地区虎耳草的不同部位中主要药效成分岩白菜素的含量,为虎耳草的质量控制和进一步开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括四元泵,在线脱气机,自动进样器,二极管阵列检测器,柱温箱)、天平(梅特勒)。

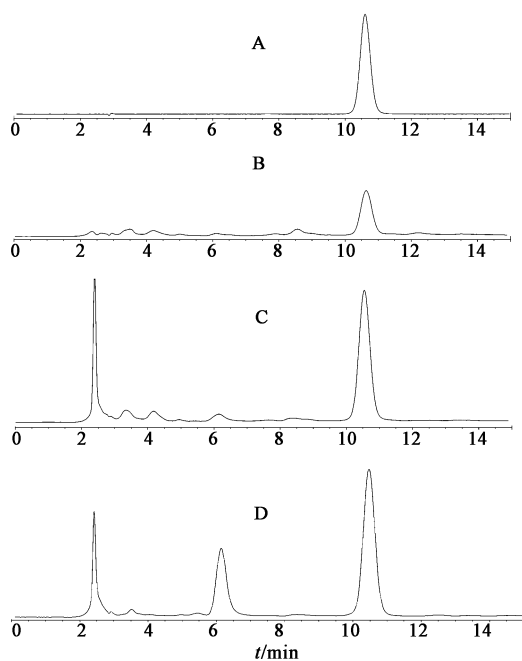
1.2 试药 虎耳草药材分别采集或收购于都匀、贵阳、遵义、铜仁和六盘水等地及药材市场,共 12 批样品,经鉴定为虎耳草科植物虎耳草 *Saxifraga stolonifera* (L.) Meerb. 的全草;岩白菜素对照品(111532-200202,供含量测定),由中国药品生物制品检定所提供;水为纯净水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),甲醇-水溶液(22:78)为流动相,柱温 30 ℃,检测波长 273 nm,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。理论板数按岩白菜素峰计算不低于 3 000。色谱峰达到较好的分离效果,见图 1。

2.2 供试品溶液制备 取虎耳草粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置 150 mL 具塞锥形瓶中,加入 70% 的甲醇 25 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)1 h,放冷,再称定质量,用 70% 甲醇补足所减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用 0.45 μm 滤膜过滤,即得。

2.3 对照品溶液制备及标准曲线 取岩白菜素对照品适量,精密称定,加甲醇配成 0.2 g·L⁻¹ 的对照品溶液,精密量取一定量的对照品溶液,加甲醇配制成含 39.84,79.68,119.52,159.36,199.2 mg·L⁻¹ 的岩白菜素对照品溶液,精密吸取 10 μL 对照品溶液进样,以对照品溶液质量浓度(mg·L⁻¹)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线, $Y = 12.857X + 18.407$ ($r = 0.9996$),线性范围为 0.3984 ~ 1.992 μg。



A. 岩白菜素对照品; B. 虎耳草根; C. 虎耳草茎; D. 虎耳草叶

图 1 虎耳草 HPLC

2.4 精密度试验 取同一虎耳草药材粉末,按 2.2 方法制备得供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次,每次 10 μL。结果岩白菜素峰面积的 RSD 0.73%,说明仪器的精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,放置 0,2,4,6,8,12 h 后分别进样 10 μL 测定。结果岩白菜素峰面积的 RSD 为 0.84%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一虎耳草样品,按 2.2 项下供试品溶液制备方法平行制备 6 份,并按照 2.1 项下色谱条件测定。结果岩白菜素的平均峰面积为 388.9, RSD 1.18%,表明该方法的重复性良好。

2.7 加样回收率试验 分别称取已知含量的虎耳草(叶)粉末(0.1431%)约 0.5 g,6 份,精密称定,分别加入岩白菜对照品溶液(0.1992 g·L⁻¹) 1 mL,按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,利用高效液相色谱法进行含量测定,计算平均回收率。结果测得岩白菜素的加样平均回收率为 99.27%, RSD 1.46%,见表 1。

2.8 样品测定 取不同产地的虎耳草药材,按 2.2 项下方法操作,并按 2.1 项下色谱条件测定,采用外标一点法计算岩白菜素的含量,结果见表 2。

3 讨论

3.1 提取溶剂考察 分别以 30% 甲醇,50% 甲醇,

表 1 虎耳草中岩白菜素加样回收率测定

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 /%
0.499 9	0.715 4	0.199 2	0.912 3	98.89		
0.501 6	0.717 8	0.199 2	0.913 3	98.15		
0.501 8	0.718 1	0.199 2	0.913 1	97.91	99.27	1.46
0.501 1	0.717 1	0.199 2	0.914 1	98.90		
0.501 3	0.717 4	0.199 2	0.920 3	101.86		
0.500 5	0.716 2	0.199 2	0.915 2	99.91		

表 2 不同产地虎耳草药材含量测定 (n = 3) %

No.	药材来源	岩白菜素含量		
		根	茎	叶
1	都匀 1	0.206	0.406	0.453
2	都匀 2	0.134	0.466	0.475
3	修文县 1	0.130	0.181	0.161
4	修文县 2	0.080	0.137	0.143
5	贵阳	0.145	0.421	0.473
6	六盘水	0.023	0.019	0.022
7	遵义	0.212	0.238	0.302
8	铜仁	0.242	0.511	0.423
9	情人谷	0.013	0.015	0.011
10	省植物园	0.116	0.395	0.468
11	花果园药市	0.151	0.170	0.187
12	花鸟市场	0.101	0.111	0.231

70% 甲醇, 甲醇以及水为溶剂进行超声提取, 结果发现以 70% 甲醇为提取溶剂, 岩白菜素的提取率最高。故选择 70% 甲醇为提取溶剂。

3.2 色谱条件选择 以不同比例甲醇-水作为流动相进行试验, 结果发现以甲醇-水 (18: 82) 作为流动相进行洗脱, 岩白菜素峰分离度好, 但保留时间比较滞后, 分析时间长; 而以甲醇-水 (25: 75) 为流动相进行洗脱, 部分样品中的岩白菜素峰与干扰峰未得到较好分离; 所以最终我们选择甲醇-水 (22: 78) 作为

流动相进行等度洗脱, 分离效果最佳, 保留时间也相对提前, 缩短了分析时间。

药材的来源不同, 岩白菜素的含量存在差异。除了修文县 1、铜仁和情人谷的虎耳草药材以茎中的岩白菜素含量高于根和叶外, 其余各地区虎耳草以叶中岩白菜素含量最高; 虎耳草根中岩白菜素含量相对较低。

本实验建立了高效液相色谱法测定虎耳草根、茎、叶中岩白菜素的含量, 该准确、简便、快速、稳定、重复性好, 可以作为虎耳草不同药用部位岩白菜素含量测定的依据, 是虎耳草全面质量评价的方法之一。本研究能够为虎耳草单方或复方制剂的开发利用、药材来源的选择以及合理用药提供一定的依据, 为贵州虎耳草的质量控制提供实验依据, 具有重要的意义。

[参考文献]

[1] 贵州省食品药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 235.
 [2] 丁家欣, 张秋海, 张玲, 等. HPLC 法测定不同产地与采收期虎耳草中岩白菜素的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (10): 792.
 [3] 郑一敏, 杨艳红, 胥秀英, 等. 高效液相色谱法测定虎耳草中槲皮苷的含量[J]. 中国药房, 2005, 16 (18): 1418.
 [4] 霍昕, 刘文炜, 杨迺嘉, 等. HPLC 测定不同产地虎耳草中丹皮酚的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 428.
 [5] 丁家欣, 张秋海, 李淑莉, 等. HPLC 测定虎耳草中没食子酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (3): 19.
 [6] 黄丽萍, 吴素芬, 张甦, 等. 岩白菜素镇痛抗炎作用研究[J]. 中药药理与临床杂志, 2009, 25(3): 24.
 [7] 蒲含林. 岩白菜素清除小鼠脑组织自由基及抗脂质过氧化作用[J]. 暨南大学学报: 医学版, 2006, 27 (2): 239.

[责任编辑 蔡仲德]