

## 薄层扫描法测定广西匙羹藤中牛弥菜醇 A 的含量

丘琴<sup>1,2</sup>, 甄汉深<sup>1\*</sup>, 肖聪<sup>3</sup>, 黄小秋<sup>1</sup>

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

3. 广西桂林药检所, 广西 桂林 541000)

[摘要] 目的: 采用薄层扫描法测定广西匙羹藤 *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult 中牛弥菜醇 A 的含量。方法: 使用硅胶 H 板, 展开剂为苯-乙酸乙酯-甲醇(10 3 5), 5% 香草醛硫酸溶液显色, 于 105 加热至斑点清晰, 在 200 nm ~800 nm 范围内进行扫描, 检测波长 538 nm, 参比波长 700 nm。结果: 牛弥菜醇 A 的线性范围为 1.025 ~6.150  $\mu\text{g}$ , 平均加样回收率为 98.84%, RSD = 2.02% ( $n=6$ ), 匙羹藤中牛弥菜醇 A 的含量为 2.08%。结论: 该法简便、灵敏、准确性高, 重复性好, 可为匙羹藤药材的定性鉴别和含量测定提供科学依据。

[关键词] 匙羹藤; 牛弥菜醇 A; 薄层扫描法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0054-03

### Determination of Conduriol A in Guangxi *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult by TLCS

QIU Qin<sup>1,2</sup>, ZHEN Han-shen<sup>1\*</sup>, XIAO Cong<sup>3</sup>, HUANG Xiao-qiu<sup>1</sup>

(1. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;

2. Chengdou University of Tradition Chinese Medicine, Sichuang, Chengdou 611137, China;

3. Guilin, Guangxi Institute for Drug Control, Guilin 541000, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of conduriol A in Guangxi *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult by TLCS. **Method:** Silica H thin layer plate was used; the developer reagent was benzene: ethyl acetate: methanol (10 3 5), the color reagent was 5% vanillin sulfate solution. The plate was at heating on 105, when the spot was clear; the detection wavelength was 538 nm and the reference wavelength was at 700 nm. **Result:** The conduriol

[收稿日期] 2009-11-12

[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); 广西高校人才小高地建设创新团队资助计划[桂教人(2005)80号]

[通讯作者] \* 甄汉深, Tel: (0771) 2918239; E-mail: 8zhen@163.com

胞损伤有保护作用, 能减轻大鼠肝细胞的病理变化<sup>[3]</sup>, 还可提高及改善小鼠细胞免疫和非特异性免疫功能的作用, 对环磷酰胺所造成的小鼠免疫功能损害有明显的恢复和保护作用<sup>[4]</sup>, 这与齐墩果酸的药效作用基本一致, 笔者认为可能是蒲公英中齐墩果酸起到的作用, 其结果有待进一步药理研究证实。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北

京: 化学工业出版社, 2005, 244.

[2] 王奇, 芦柏震. 齐墩果酸的研究进展[J]. 中国药房, 2008, 19(9): 711.

[3] 金政, 金美善, 李相伍, 等. 蒲公英对四氯化碳损伤原代培养大鼠肝细胞的保护作用[J]. 延边大学医学学报, 2001, 24(2): 94.

[4] 俞红, 李锦兰. 蒲公英对小鼠免疫功能的影响[J]. 贵阳医学院学报, 1997, 22(2): 137.

A was linear in range of 1.025 ~6.150  $\mu\text{g}$ ; the average recovery was 98.84%, RSD = 2.02% ( $n=6$ ). The average content of conduriol A was 2.08% in was simple, sensitive, accurate and had good reproducibility. **Conclusion:** The method can be used the identification and determination method of Guangxi *Gymnema Sylvestre*( Retz. ) Schult and qualitatively.

**[ Key words ]** *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult; conduriol A; TLCS

匙羹藤 *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult 又名武靴藤、羊角藤、金刚藤<sup>[1]</sup>, 为萝藦科匙羹藤属植物, 分布于印度、印尼、非洲、越南和我国广西、广东、福建、台湾和云南等省区<sup>[2]</sup>。广西匙羹藤茎 95% 乙醇提取物对四氧性糖尿病小鼠及肾上腺素性高血糖小鼠有明显的降血糖作用, 并且能增强正常小鼠的葡萄糖耐受量<sup>[3]</sup>。牛弥菜醇 A 是匙羹藤降血糖作用的主要有效成分之一, 能明显降低四氧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<sup>[4-5]</sup>。目前还没有文献对这方面的含量测定进行公开报道, 本文首次以牛弥菜醇 A 为指标, 采用薄层扫描法对广西匙羹藤药材中的牛弥菜醇 A 进行了含量测定。

### 1 材料

CAMAG SCANNER 薄层扫描仪 ( 瑞士 CAMAG ); Linomat 5 半自动点样仪 ( 瑞士 CAMAG ); BP211D 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 ); 匙羹藤采自南宁郊区, 经广西中医学药学院药用植物教研室刘寿养副教授鉴定为萝藦科匙羹藤属植物匙羹藤 *Gymnema sylvestre*( Retz. ) Schult 的地上部分。

牛弥菜醇 A ( 广西中医学院药物分析室制, 纯度 98% ), 硅胶 H ( 青岛海洋化工厂 ); 羧甲基纤维素钠 ( 沈阳化学试剂厂 ), 甲醇、苯、乙酸乙酯 ( 北京化工厂, 分析纯 ), 其余试剂均为分析纯, 水为去离子水。

### 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取牛弥菜醇 A 对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 1.025 mg 的溶液。

**2.2 供试品溶液的制备** 取匙羹藤药材粗粉 0.5 g 精密称定, 加甲醇 25 mL, 超声 15 min, 放冷, 称重, 用甲醇补足损失重量, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.3 薄层色谱分析条件** 硅胶 H 薄层板, 精密吸取供试品溶液 4  $\mu\text{L}$ , 对照品溶液 1  $\mu\text{L}$ , 3  $\mu\text{L}$ , 交叉点于同一硅胶 H 薄层板上, 展开剂苯-乙酸乙酯-甲醇

( 10 3 5 ), 展开, 展距约 12 cm, 晾干, 喷 5% 香草醛硫酸溶液显色, 晾干, 105 加热至斑点清晰, 对照品与供试品在相同位置上均呈紫红色斑点, 见图 1。对上述的斑点进行薄层光谱扫描, 结果供试品溶液与对照品溶液的最大吸收波长均为 538 nm, 而在 700 nm 处吸收较小, 因此选择双波长  $\lambda_s = 538 \text{ nm}$ ,  $\lambda_R = 700 \text{ nm}$  进行测定, 见图 2。

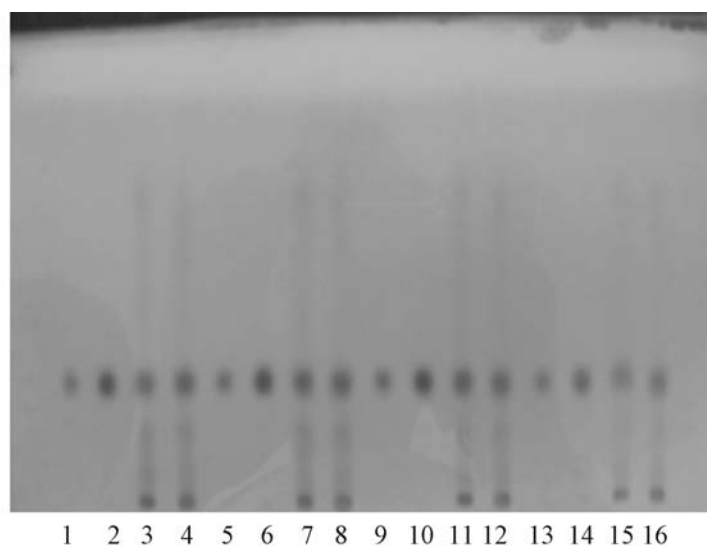


图 1 匙羹藤和牛弥菜醇 A 薄层色谱图  
1、2、5、6、9、10、13、14 牛弥菜醇 A  
3、4、7、8、11、12、15、16 匙羹藤样品

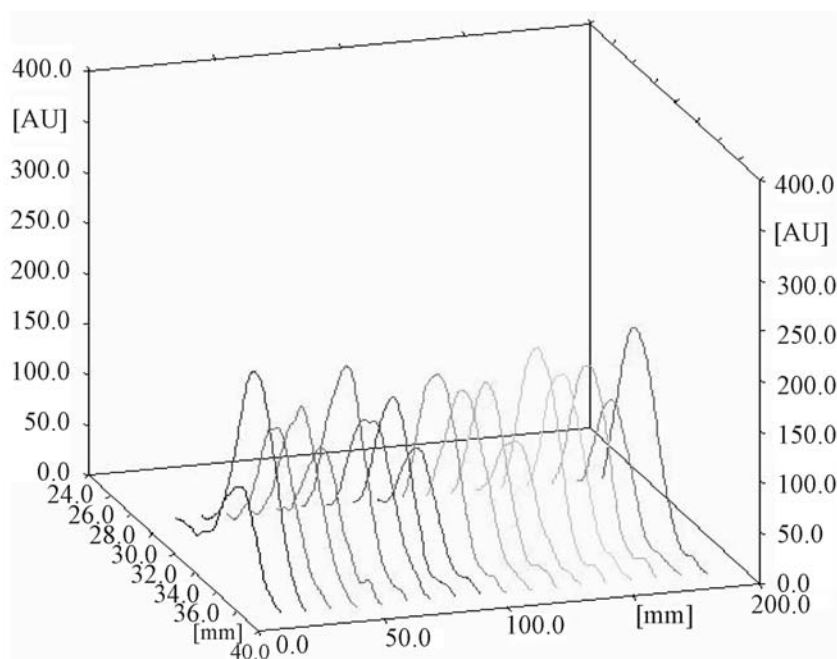


图 2 匙羹藤和牛弥菜醇 A 薄层扫描图

**2.4 线性关系的考察** 精密吸取牛弥菜醇 A 对照品溶液 ( 1.025  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ) 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 H 薄层板上, 按薄层色谱分析条件进行测定, 以峰面积为纵坐标 ( Y ), 对照品量为横坐标 ( X ), 计算回归方程为:  $Y = 1.97 \times 10^3 X +$

$4.39 \times 10^2$ ,  $r = 0.9968$ 。结果表明,牛弥菜醇 A 在 1.025 ~ 6.150  $\mu\text{g}$  呈良好的线性关系。

**2.5 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 3  $\mu\text{L}$  (批号 200703), 点于硅胶 H 薄层板上, 按薄层色谱分析条件展开, 取出晾干, 显色, 按薄层色谱分析条件扫描测定, 每隔 30 min 扫描测定 1 次,  $\text{RSD} = 1.41\%$  ( $n = 5$ )。结果表明, 牛弥菜醇 A 于 2 h 内稳定。

**2.6 同板精密度试验** 精密吸取对照品溶液 3  $\mu\text{L}$ , 分别于同一硅胶 H 薄层板上点 5 个点, 依法测定其峰面积,  $\text{RSD} = 1.40\%$  ( $n = 5$ )。结果表明, 同板精密度良好。

**2.7 异板精密度试验** 精密吸取对照品溶液 3  $\mu\text{L}$ , 分别点于 5 块不同的硅胶 H 薄层板上, 依法测定其峰面积,  $\text{RSD} = 1.69\%$  ( $n = 5$ )。结果表明, 异板精密度良好。

**2.8 加样回收率试验** 称取已知含量的广西匙羹藤药材 0.25 g, 精密称定, 精密加入牛弥菜醇 A 对照品 5.12 mg, 按供试品溶液制备方法处理, 依法测定, 平均回收率为 98.84%,  $\text{RSD} = 2.02\%$  ( $n = 6$ )。结果表明, 本方法回收率良好, 结果见表 1。

表 1 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	0.2246	5.26	5.12	10.28	98.14	98.84	2.02
2	0.2253	5.27	5.12	10.51	102.05		
3	0.2251	5.27	5.12	10.22	96.76		
4	0.2249	5.26	5.12	10.40	100.42		
5	0.2244	5.25	5.12	10.24	97.51		
6	0.2247	5.26	5.12	10.28	98.13		

**2.9 重复性试验** 取同一批号 (200703) 的样品 0.5 g, 精密称定, 共 6 份, 按 2.2 项下供试品溶液制备方法处理。分别吸取供试品溶液 2  $\mu\text{L}$ , 对照品溶液 1  $\mu\text{L}$  和 3  $\mu\text{L}$ , 交叉点于同一块硅胶 H 薄层板上, 依法展开, 显色, 扫描测定, 样品平均质量分数为 2.08%,  $\text{RSD}$  为 2.37% ( $n = 6$ )。结果表明, 方法重复性良好。

**2.10 样品质量分数测定** 取 6 个批次广西匙羹藤药材粉末 6 份, 约 0.5 g, 精密称定, 按照供试品溶液制备方法制备, 吸取供试品溶液 4  $\mu\text{L}$ , 对照品溶液

1  $\mu\text{L}$ , 3  $\mu\text{L}$ , 交叉点于同一硅胶 H 薄层板上, 展开, 显色, 扫描测定。结果见表 2 和图 1, 图 2。

表 2 广西匙羹藤质量分数 %

No.	质量分数			平均质量分数	RSD
200701	2.72	2.71	2.74	2.72	0.56
200702	2.73	2.76	2.71	2.73	0.92
200703	2.32	2.35	2.34	2.34	0.65
200704	2.16	2.20	2.19	2.18	0.95
200705	1.41	1.45	1.42	1.43	1.46
200706	1.37	1.36	1.34	1.36	1.13

### 3 讨论

在本文所采用的色谱条件下, 匙羹藤药材在与对照品色谱图相应的位置上显紫红色的斑点,  $R_f = 0.32$ , 斑点清晰圆整。

用 5% 香草醛硫酸显色时, 105  $^{\circ}\text{C}$  加热 10 min 左右即可, 加热要注意受热均匀, 用加热板加热时待斑点出现即可关掉电源, 用余热显色至斑点清晰, 该试液不稳定, 须临用前配制。

牛弥菜醇 A 是匙羹藤药材降血糖的有效成分, 目前还没有文献对这方面的含量测定进行公开报道。本文首次采用薄层扫描法测定广西匙羹藤药材中牛弥菜醇 A 的含量。实验表明, 该法操作简便, 灵敏, 准确, 重复性好, 可为匙羹藤药材的质量控制提供科学依据。

### [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2461.
- [2] 黄泰康, 丁志遵, 赵守训, 等. 现代本草纲目 [M]. 上卷. 北京: 中国医药出版社, 2001: 1437.
- [3] 甄汉深, 梁洁, 周芳. 广西匙羹藤茎 95% 乙醇提取物降血糖作用及其机制的初步研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1): 32.
- [4] 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.
- [5] 夏玉凤, 刘欣, 余国奠. 匙羹藤的开发研究 [J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(3): 1.