

高效液相色谱法测定垂盆草药材中小麦黄素苷的含量

张思巨^{1*}, 王跃生¹, 刘 丽¹, 魏太明², 闫玉凝²

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立反相高效液相色谱法测定垂盆草药材中小麦黄素苷的含量。方法: 采用 YMC-J' Sphere ODS-H80(4 μ m, 150 mm \times 4.6 mm) 等色谱柱; 以异丙醇-水-冰醋酸(15: 8: 2) 为流动相; 检测波长 350 nm。结果: 小麦黄素苷在 0.099~ 0.99 μ g 范围内峰面积与进样量呈良好的线性关系, 相关系数 $r = 0.999 8$; 平均回收率为 97.04%。结论: 该法简便可行, 结果准确可靠, 适用于药材质量控制的定量方法。

[关键词] 垂盆草; 小麦黄素苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)04-0004-02

RP-HPLC Determination of Tricin-7-O- β -D-glucoside in Herba Sedi

ZHANG Si-ju^{1*}, WANG Yue-sheng¹, LIU Li¹, WEI Tai-ming², YAN Yu-ning²

(1. Institute of Chinese Material Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;

2. Beijing University of Traditional Chinese Medicing, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a RP-HPLC method for determination of tricin-7-O- β -D-glucoside in Herba sedi. **Methods:** YMC-J' Sphere ODS-H80(150 mm \times 4.6 mm, 4 μ m) and YMC-pack ODS-A column(250 mm \times 4.6mm, 5 μ m) were adopted. The mobile phase consisted of (CH₃)₂CHOH-H₂O-HAC(15: 8: 2), the detection wavelength was 350 nm. **Results:** tricin-7-O- β -D-glucoside and other components in herba sedi can be separated, the calibration curve was linear in the range of 0.099~ 0.99 μ g with correlation coefficient 0.999 9. The average recovery was 97.04% with RSD 0.81% ($n = 5$). **Conclusion:** The method is simple, rapid, reliable. It can be used as quantitative determination for quality control of Herba sedi.

[Key words] Herba sedi; tricin-7- σ - β -D-glucoside; RP-HPLC

垂盆草为景天科植物垂盆草 *Sedum sarmentosum* Bunge 的新鲜或干燥全草^[1]。具有清利湿热, 解毒之功能; 临床用于湿热黄疸、小便不利、痈肿疮疡、急、慢性肝炎等。

文献报道^[2] 垂盆草苷为垂盆草的主要活性成分, 具有明显保肝作用。为了制定垂盆草药材的质量标准, 本课题曾针对垂盆草苷进行了提取分离, 结果发现由于商品药材均经过烫制后干燥的过程, 致使在商品药材中得不到性质不稳定的甙苷化合物;

提示目前临床应用的垂盆草及其制剂, 采用垂盆草苷作为质控标准的对照品值得商榷。

作者^[3]从垂盆草中共分离得到了 16 个化合物, 鉴定了其中 12 个, 包括: 黄酮类 7 个, 三萜类 1 个, 甾醇类 2 个, 无机盐 2 个, 其中小麦黄素苷含量相对较高; 药理实验^[4] 证明小麦黄素苷 (tricin-7-O- β -D-glucoside) 为垂盆草的活性成分, 能显著抑制小鼠脾脏 T、B 淋巴细胞转化增殖, 提示具有免疫抑制作用; 并具有明显的保肝作用, 与垂盆草的主治功能相吻合。该成分主要存在于禾本科、莎草科植物中, 双子叶植物较少见, 在常用中药材中仅个别药材中含有, 对于垂盆草具有一定的专属性, 选用小麦黄素苷为对照品建立垂盆草药材的质量控制方法是合理的。

[收稿日期] 2006-11-30

[基金项目] 国家重点科技项目改革计划(99-929-01-034)

[通讯作者] * 张思巨, Tel: (010) 64014411-2984

1 仪器与试剂

HEWLETT PACKARD 1100 型全自动 HPLC 仪; KQ-250E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 色谱纯异丙醇(MERCK)和 N,N-二甲基甲酰胺; 高纯水为中药所自制; 其它试剂均为分析纯。小麦黄素苷对照品自制, 纯度大于 98%; 药材经北京中医药大学阎玉凝教授鉴定为景天科植物垂盆草 *Sedum sarmentosum* Bunge. 的新鲜或干燥全草。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱: YMC J' Sphere ODS-H80 (150 mm × 4.6 mm, 4 μm) 和 YMC-pack ODS-A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 异丙醇-水-冰醋酸(15:80:2); 检测波长: 350 nm; 柱温: 30~35 °C, 流量: 0.5~0.8 mL/min, 理论板数按小麦黄素苷峰计算应不低于1 500。

2.2 试验溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取小麦黄素苷对照品适量, 加甲醇-N,N-二甲基甲酰胺(9:1)混合液制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 6 号筛)约 2 g, 同时另取本品粉末测定水分^[1], 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加石油醚(60~90 °C) 50 mL, 超声处理 30 min, 离心, 弃去上清液, 沉淀经石油醚洗涤后, 挥尽溶剂。药渣中精密加甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定重量, 浸泡 10 min, 超声处理 40 min(功率 250 W, 频率 40 KHz), 取出, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 离心, 精密吸取上清液 25 mL, 减压回收至近 4 mL, 加适量 N,N-二甲基甲酰胺定容至 5 mL, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL, 按正文中拟定的色谱条件测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标(X), 峰面积值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线并计算回归方程, 方程式为: $Y = 2\,278.787X + 17.089$, ($r = 0.999\,8$), 小麦黄素苷在 0.099~0.99 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验 精密吸取 3 号药材的供试品溶液, 重复进样 5 次, 小麦黄素苷峰面积的相对标准偏差为 0.857%。

2.3.3 重现性试验 取 5 号药材粉末(过 100 目筛), 精密称定, 按正文方法制备成 5 份供试品溶液;

在拟定的色谱条件下, 测定峰面积; 结果显示 RSD 为 2.65%。

2.3.4 稳定性试验 选用 4 号药材的供试品溶液, 按拟订的时间间隔进样, 考察 16 h, 结果显示 RSD 为 2.20%。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取 5 份已测知含量的样品, 精密加入相应量的小麦黄素苷对照品溶液, 按上述制备供试品液方法操作, 并测定含量, 平均回收率为 97.04%, RSD 为 0.8%。

3 样品测定

按 2.2.2 项下操作, 制备了 16 种不同产地的商品药材溶液, 分别精密吸取对照品溶液 3~8 μL 与供试品溶液 10~20 μL, 按上述色谱条件测定, 计算含量。结果见下表。

4 讨论

垂盆草为全草入药, 含叶绿素较多, 色泽干扰较大, 供试品溶液制备中采用石油醚除去叶绿素的方法, 小麦黄素苷在石油醚中不溶解, 达到了除杂质又不丢失测定成分的目的。比较了回流提取和超声处理两种方法; 比较了乙醇、甲醇、乙酸乙酯数种溶剂的提取率, 确定采用正文方法。

表 1 16 种药材小麦黄素苷含量测定结果

编号	药材产地或购置地	小麦黄素苷含量 (干品)%	编号	药材产地或购置地	小麦黄素苷含量 (干品)%
1	四川峨嵋山	0.030 3	9	河北 7 月购置(烫)	0.008 4
2	四川峨嵋山(烫)	0.011 8	10	河北 7 月购置 (60 °C 加热)	0.003 4
3	天津蓟县	0.030 5	11	河北 8 月购置(鲜)	0.010 1
4	北京香山	0.051 3	12	河北 8 月购置(烫)	0.001 8
5	河北安国	0.012 3	13	北京	0.023 8
6	北京昌平	0.011 4	14	天津	0.005 2
7	北京东四同仁堂	0.008 4	15	河北安国	0.038 1
8	北京王府井永安堂	0.013 7	16	河北	0.028 3

注: 未注明者为自然干燥, 购置药材均为烫(95 °C)后晒干

[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. 148, 附录 IXH.
- [2] 方圣鼎, 严修球, 李静芳, 等. 垂盆草化学成分的研究. IV. 垂盆草甙及异垂盆草甙的结构[J]. 化学学报, 1982, 40(3): 273.
- [3] 魏太明, 闫玉凝, 关昕璐, 等. 垂盆草的化学成分研究(I)[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(4): 59.
- [4] 熊玉兰, 王彦礼, 孙建辉, 等. 垂盆草小麦黄素苷体外对正常小鼠淋巴细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10): 29-31.