

·实验研究·

HPLC 法比较组培与野生穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元的含量

林 喆¹, 王秦福², 张 辉¹, 王 丹¹

(1. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117; 2. 四平市药品检验所, 吉林 四平 136000)

摘要:目的:建立用高效液相色谱法测定薯蓣皂苷元含量的方法,比较两种穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元含量。方法:采用 Agilent ZORBAX Extend-C-18 反相色谱柱,流动相为乙腈-水(90:10),检测波长为 206nm,流速为 1ml/min。结果:薯蓣皂苷元在 0~6 μ g 范围内,其峰面积与浓度呈良好的线形关系($r=0.9999$),平均回收率为 101.00%,RSD 为 2.08%($n=5$)。结论:两种穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元的含量无显著差异($P>0.05$)。

关键词:高效液相色谱法;薯蓣皂苷元;含量测定

中图分类号:R285.5

文献标识码:B

文章编号:1003-5699(2007)05-0051-02

穿龙薯蓣为薯蓣科植物薯蓣 (*Dioscorea opposita*) 的干燥根茎。具有补脾养胃,生津益肺,补肾涩精的功效,用于治疗脾虚食少,久泻不止,肺虚喘咳,虚热消渴等症,其主要有效成分是薯蓣皂苷元。本文用高效液相色谱法,对组织培养快繁育苗的栽培品种与野生穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元的含量进行测定,比较两种药材的内在品质,为穿龙薯蓣组培品种的推广应用提供依据。

1 仪器与试药

Agilent1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦牌); N-2000 色谱工作站(浙江大学提供); 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司产品); Sartorius 十万分之一电子天平(德国 Sartorius); 薯蓣皂苷元对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所提供); 穿龙薯蓣(经鉴定为正品); 所用甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果^[1,2]

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX Extend-C-18 反相色谱柱; 柱温: 室温; 流动相: 乙腈-水(90:10); 流速: 1ml/min; 检测波长: 206nm。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取薯蓣皂苷元对照品适量,加甲醇溶解,摇匀,制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取药材粗粉(20目) 3g,精密称定,置 150ml 圆底烧瓶中,加硫酸(1mol/ml) 40%乙醇溶液 50ml,置沸水浴中回流 4h,放冷,加水 100ml,摇匀,滤过,沉淀,用水洗至滤液不显

酸性,沉淀烘干,分 3 次加三氯甲烷(每次 10ml),超声清洗 3 次,每次 30min,氯仿液蒸干,残渣转移至 10ml 量瓶中,甲醇溶解,并稀释至刻度,用微孔滤膜滤过,取滤液为供试品溶液。

2.4 线形关系考察 取薯蓣皂苷元对照品适量,精密称定,加甲醇,使溶解稀释成 0.3mg/ml 的溶液,分别精密吸取 0、5、10、15、20 μ l,注入液相色谱仪,以薯蓣皂苷元峰面积积分值为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X),进行线形回归,得回归方程: $Y = 771273.88 + 43208.23X$, $r = 0.9999$ 。结果表明,薯蓣皂苷元在 0~6 μ g 范围内其峰面积与进样量呈良好的线形关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 5 μ l,按相同色谱条件重复进样 5 次,测定其峰面积为 374841.594、396140.813、394531.188、392483.188、387750.406,平均峰面积为 389150, RSD = 2.21%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一对照品溶液,分别在 0、2、4、8、24h 精密吸取 5 μ l 进样测定,记录峰面积,结果表明对照品溶液在 24h 内稳定, RSD = 2.31%。

2.7 重现性试验 取同一批样品 5 份,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,分别进样 5 μ l,测得含量为 3.958mg/g、3.863mg/g、4.030mg/g、3.752mg/g、3.900mg/g、平均值为 3.901mg/g, RSD = 2.67%,表明本法重现性良好。

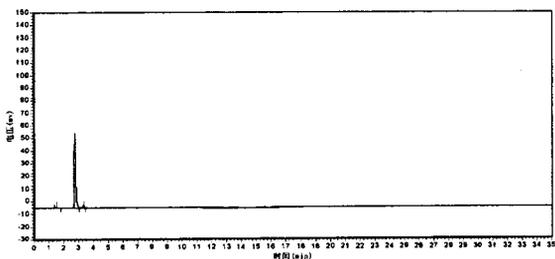
2.8 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液与各供试品溶液 5 μ l,注入高效液相色谱仪,依薯蓣皂苷

基金项目:吉林省中医药管理局中医药科研课题(课题号:吉中医 0204)

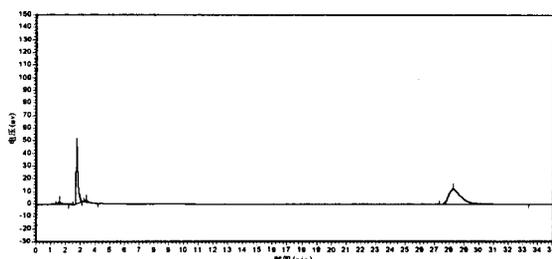
作者简介:林 喆(1966~),吉林长春人,大学本科,副教授。研究方向:中药有效成份筛选及中药资源学。

元含量测定方法,对两种穿龙薯蓣中的薯蓣皂苷元

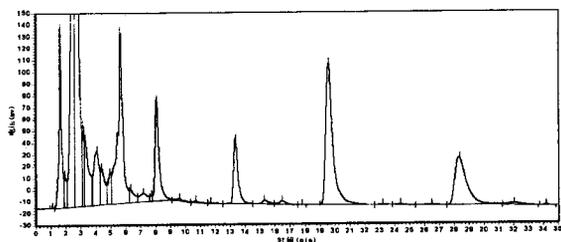
含量进行测定。结果见表1。色谱图见图A~D。



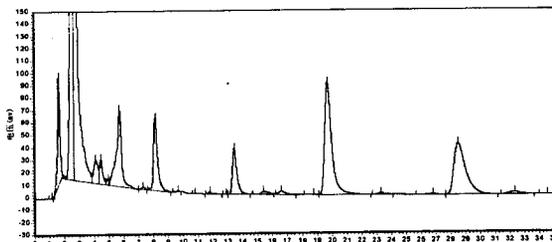
A



B



C



D

A. 溶剂色谱图 B. 薯蓣皂苷元对照品色谱图 C. 野生穿龙薯蓣色谱图 D. 组培穿龙薯蓣色谱图

表1 样品含量测定结果

| 样品名称 | 含量(mg/g) |
|--------|----------|
| 野生穿龙薯蓣 | 3.911 |
| 组培穿龙薯蓣 | 3.721 |

2.9 回收率试验 精密称取已知含量(3.721mg/g)的样品适量,分别精密加入薯蓣皂苷元对照品适量,按供试品溶液的制备项方法操作,依上述色谱条件进行测定,计算加样回收率,结果见表2。

表2 回收率试验

| 编号 | 取样量(g) | 加入对照品量(mg) | 实测值(mg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) | RSD(%) |
|----|--------|------------|---------|--------|----------|--------|
| 1 | 1.52 | 5.00 | 10.55 | 97.96 | | |
| 2 | 1.52 | 5.00 | 10.55 | 99.70 | | |
| 3 | 1.54 | 5.00 | 10.87 | 102.74 | 101.00 | 2.08 |
| 4 | 1.52 | 5.00 | 10.79 | 102.68 | | |
| 5 | 1.53 | 5.00 | 10.79 | 101.93 | | |

3 讨论

3.1 提取方法的选择 本实验曾用几种方法处理样品,结果以本文拟订的方法结果最好,且操作简便,故选用此法。

3.2 检测波长的选择^[3] 薯蓣皂苷元的分子光谱仅

在206nm处有一中等强度的吸收峰,故选择206nm为检测波长。

3.3 流动相的选择^[4] 先后试验了甲醇-水(84:16),乙腈-水(90:10),结果用乙腈-水(90:10)薯蓣皂苷元的分离效果最好,故本实验用乙腈-水(90:10)为流动相,流速为1ml/min。

结果表明,两种穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元的含量基本相近,组织培养快繁育苗的栽培品种与市场中的野生穿龙薯蓣内在品质相同,为穿龙薯蓣组培品种的推广应用提供依据。

参考文献:

[1]沙世炎.中草药成分分析[M].北京:人民卫生出版社,1991:533.
 [2]李忠琼,林瑞超.高效液相色谱法测定闭鞘姜属3中植物中总薯蓣皂苷元的含量[J].时珍国医国药,2001,12(4):312-313.
 [3]李惠芬,李军燕.高效液相色谱法和薄层色谱法测定重楼中薯蓣皂苷元的含量[J]中草药,2003,34(2):127-129.
 [4]韦建荣,董 汛.重楼中薯蓣皂苷元的反相高效液相色谱测定[J].色谱,1999,17(5):498-499.
 [5]张 琦,张大方.中药复方物质基础的研究[J].吉林中医药,2007,27(2):54-55.

(收稿日期:2007-03-19)