

HPLC测定安痛藤中岩白菜素的含量

谢一辉¹, 张叶青², 邓鹏¹, 余无双¹ (1. 江西中医学院, 南昌 330006 2. 华北煤炭医学院, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 建立安痛藤中有效成分岩白菜素含量的方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Inertsil ODS-3 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇:水 (23:77); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 275 nm; 柱温为 30 °C。结果 岩白菜素在 0.0875~1.40 μg 内有良好线性关系, $r=0.9998$ 平均回收率为 101.3%, RSD 为 1.9%。结论 该方法准确、稳定、简便、可行。

关键词: 高效液相色谱; 安痛藤; 岩白菜素

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)04-0319-02

Determination of Bergenin in *Cissus assamica* by HPLC

XIE Yihui¹, ZHANG Yeqing², DENG Peng¹, YU Wushuang¹ (1. Jiangxi College of TCM, Nanchang 330006 China; 2. North China Coal Medical College, Tangshan 063000 China)

ABSTRACT: OBJECTIVE An HPLC method for the determination of bergenin in *Cissus assamica* (Laws) was established. **METHODS** HPLC method was carried out through Inertsil ODS-3 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) chromatography column with a mobile phase of methanol:water (23:77) and flow velocity of 1.0 mL·min⁻¹ and detection wavelength of 275 nm, temperature was 30 °C. **RESULTS** The standard curves of bergenin showed good linearity within the range of 0.0875~1.40 μg $r=0.9998$. The average recovery was 101.3%, RSD was 1.9%. **CONCLUSION** The method was quick, simple, accurate and reliable for the determination of bergenin in *Cissus assamica* (Laws).

KEY WORDS HPLC; *Cissus assamica* (Laws); bergenin

安痛藤为葡萄科白粉藤属植物苦朗藤 *Cissus assamica* (Laws) 的藤茎, 具有祛风除湿, 散瘀, 拔毒作用, 主治风湿痹痛, 跌打扭伤, 疔疽肿毒, 为江西等地治疗类风湿性关节炎的习用药材。它主要分布在中南、西南及江西、福建、西藏等地^[1]。目前国内外关于对安痛藤质量控制方面的报道几乎是个空白。研究表明, 安痛藤有较强的抗类风湿性关节炎的作用^[2]。作者在安痛藤活性成分研究中已分离得到多个化合物单体, 并已通过光谱鉴定, 其中岩白菜素的含量最高, 为安痛藤的主要活性成分之一。故将岩白菜素作为安痛藤质控成分, 为安痛藤进一步生理活性研究以及资源深度开发和合理利用提供科学依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪, KQ3200 型超声仪。岩白菜素对照品 (1532-200202 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所)。甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。安痛藤药材采于江西赣南地区, 由江西中医学院刘庆华老师鉴定为葡萄科植物苦朗藤 *Cissus assamica* (Laws)。

2 实验方法与分析结果

2.1 色谱分析条件

色谱柱为 Inertsil ODS-3 (250 mm × 4.5 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (23:77), 柱温为 30 °C, 流速为 1 mL·min⁻¹, 检测波长为 275 nm, 进样量 10 μL, 在上述色谱条件下, 岩白菜素与其他成分分离良好, 理论塔板数以岩白菜素峰计算不低于 5000, 分离度大于 1.5, 结果见图 1、2。

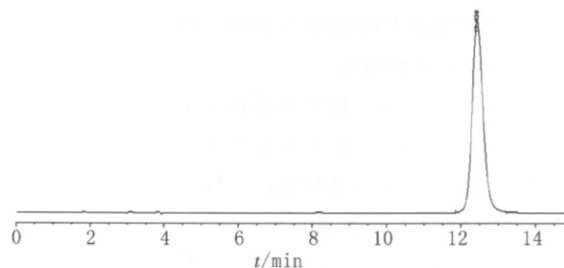


图 1 岩白菜素对照品 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of bergenin reference substance

基金项目: 2006年江西省教育厅科技项目: 赣教技字 [2006] 226号

作者简介: 谢一辉, 男, 教授 Tel (0791) 7118913 E-mail xieyh6152003@yahoo.com.cn

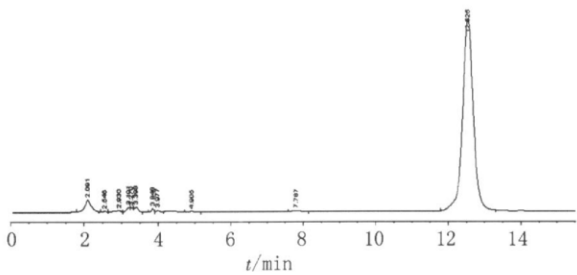


图 2 安痛藤供试品 HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram of *Cissus assamica* (Laws) sample

2.2 对照品溶液的制备

精密称取岩白菜素对照品适量,加水适量,超声溶解,转置 25 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀即得 ($0.175 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.3 供试品溶液的制备

取安痛藤粉末(过 60 目)约 0.15 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水 25 mL,称定重量,超声 20 min,称定重量,用水补足减失的重量,摇匀,滤膜滤过,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 mL 置于 10 mL 量瓶中,加水至刻度,制成浓度为 8, 7.5, 17.5, 35, 70, 105, 140 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 岩白菜素对照品溶液,分别进样 10 μL 。以岩白菜素的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,回归方程为: $Y = 11.524X + 4.5695$, $r = 0.9998$ 结果表明:岩白菜素在 0.0875~1.40 μg 内有良好线性关系。

2.4.2 稳定性试验 取安痛藤 0.15 g 精密称定,按供试液制备项制备供试液,每次进样 10 μL ,共 6 次,时间间隔为 0, 4, 6, 8, 10, 12 h,记录峰面积值。计算结果显示:6 次岩白菜素含量测定结果基本不变,平均值为 1.217%, $\text{RSD} = 0.85\%$,结果表明供试液至少在 12 h 内稳定。

2.4.3 重复进样精密度试验 精密吸取安痛藤供试液,连续进样 6 次,每次 10 μL ,6 次进样测得岩白菜素含量平均结果为 1.217%, $\text{RSD} = 0.52\%$,表明本试验方法精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取安痛藤粉末 6 份,约 0.15 g 精密称定,按供试液制备项制备供试液,进样,记录峰面积值。6 份样品岩白菜素含量平均值为 1.215%, $\text{RSD} = 2.0\%$,结果表明本试验方法重复性良好。

2.4.5 加样回收试验 取安痛藤粉末 9 份,各约 0.12 g 精密称定,按低、中、高三个浓度分别加入适量岩白菜素对照品溶液,按供试液制备项制备供试液。每次进样 10 μL ,每份供试品溶液进样 5 次,计算加收率。结果平均加样回收率为 101.3%, $\text{RSD} = 1.9\%$ ($n = 9$)

2.4.6 样品测定 取不同产地及不同采购时间的安痛藤样品按“2.3”项下方法制成供试液,精密量取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,按上述色谱条件测定,计算安痛藤中岩白

菜素百分含量,结果见表 1。

表 1 样品中岩白菜素含量测定结果 ($n = 3$)

Tab 1 Determination of bergenin in samples ($n = 3$)

样品来源	样品采购时间	岩白菜素含量 %	RSD %
采于江西赣南	2004- 4	0.9698	0.93
购于江西樟树	2004- 10	1.221	1.9
购于广西南宁	2005- 10	0.9156	2.5
采于江西赣南	2005- 11	1.216	2.0
购于江西南昌	2006- 10	0.9745	2.3

3 讨论

3.1 检测波长的确定

将岩白菜素对照品液在 190~400 nm 波长范围内扫描,岩白菜素在 220 nm 和 275 nm 处有最大吸收。因 275 nm 波长处岩白菜素吸收峰灵敏度较高、稳定,且供试液中其他成分干扰较小,故选用 275 nm 作为检测波长。

3.2 供试品提取方法的选择

岩白菜素溶于水、甲醇和乙醇,故采用水、乙醇、甲醇三种溶剂以及超声和回流两种提取方法进行提取条件比较实验,同时考察了不同超声提取时间(10, 20, 30, 40, 50, 60 min)和不同粒度的药材粉末(20, 40, 60, 80, 100, 120 目)对提取效果的影响。试验结果表明:过 60 目药材粉末,用水超声提取 20 min 较为适宜。

3.3 分离条件的选择

用不同流动相系统:甲醇-水(不同比例);乙腈-水(不同比例)进行系统适用性试验。结果表明以甲醇-水(23:77)为流动相,流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,检测波长 275 nm,供试品中岩白菜素得到较好分离。

选择了三种色谱柱:Inertsil ODS-3(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 特纳公司)色谱柱、Hypersil ODS2(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 大连依利特)色谱柱和 DiamonsilTM(钻石)HPLC C_{18} (200 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 迪马公司)色谱柱,按本法测定安痛藤药材中岩白菜素的含量,测定结果基本一致。表明本法适应性较好。

REFERENCES

- [1] Editorial Board of China Herbal State Administration of Traditional Chinese Medicine. China Herbal(中华本草)[M]. Vol 5. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1999: 286-287.
- [2] HUANG L P, XIE Y H, XIAO B Q, et al. The effects of *Cissus assamica* on adjuvant arthritis in rats[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2006(17)11: 2139-2140.

收稿日期: 2007-11-29