

中药白薇中白薇正苷 A 含量测定

王宏洁, 司 南, 边宝林

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 目的: 通过高效液相色谱法建立了道地药材直立白薇中有效成分白薇正苷 A (Cynanchumside A) 的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法测定。结果: 对不同产地的药材进行了白薇正苷 A 的含量测定。结论: 为道地药材直立白薇质量控制标准的建立奠定了基础。

关键词: 直立白薇; 白薇正苷 A; 含量测定

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)01-0005-02

白薇为萝藦科植物白薇 *Cynanchum atratum* Bge. 或蔓生白薇 *Cynanchum versicolor* Bge. 的干燥根及根茎。我们采集药材经本所何希荣老师鉴定为萝藦科植物白薇。白薇为临床常用中药之一, 具有清热凉血、利尿通淋、解毒疗疮之功效。中国药典从 63 年至 2000 年版均有记载。有关白薇临床、药理、化学成分研究报道很多^[1~5], 但白薇质量标准的研究很少, 药典质量评价标准也仅限于药材传统的鉴别方法。其主要原因在于, 白薇中的主要活性成分复杂, 以 C₂₁ 甾甙为主的数十种活性成分, 含量低, 大量分离存在困难。我们曾从直立白薇中分离得到多种 C₂₁ 甾甙, 本文对直立白薇中含量较高的有效成分白薇正苷 A (Cynanchumside A) 进行了含量测定方法学研究。从而建立了白薇药材中直立白薇的含量测定标准。

1 仪器 试剂

1.1 仪器 安捷伦 HP-1100 液相色谱仪。

1.2 试剂 甲醇: 色谱级, 北京化工厂。水: 重蒸水。柱层析硅胶: 青岛海洋化工厂 160~200 目。白薇正苷 A: 自制, 含量>98%。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件 色谱仪: 安捷伦 HP-1100; 流动相: 乙腈-水(26:74); 流速: 1mL/min; 波长: 206nm; 柱温: 35℃。

2.2 对照品纯度检查 对照品的纯度在 98% 以上, 符合含量测定要求。见图 1。

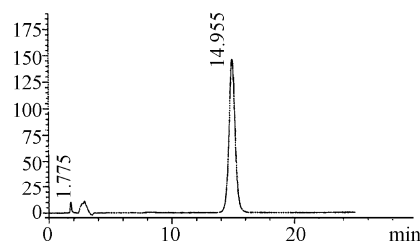


图 1 白薇正苷 A 对照品 HPLC 图谱

2.3 提取方法 我们比较了以甲醇作溶媒, 水浴回流 30、60、90min 三个时间点比较, 结果提取 60min 与提取 90min 测定结果近似, 故采用甲醇回流 60min 的方法。

2.4 提取条件 根据药材所含成分的特点及被测成分白薇正苷 A 的特性, 分别用萃取, D₁₀₁ SP₈₂₅ HP-20 大孔吸附树脂柱层析, 硅胶柱层析等方法除去杂质, 结果表明, 使用硅胶柱层析最佳, 可除去部分杂质且不影响被测成分的测定, 故而在测定中选用此方法, 见图 2~3。

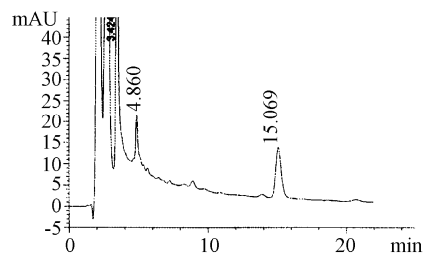


图 2 白薇药材 HPLC 图谱

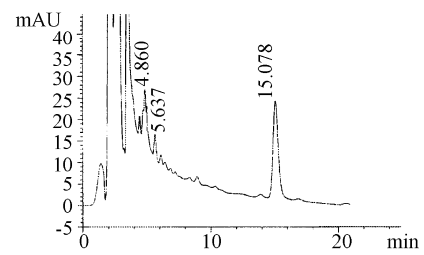


图 3 白薇药材加白薇正甘 A HPLC 图谱

2.5 供试品溶液的制备: 精密称取白薇粉末 1.0g, 加甲醇 50mL 水浴回流提取 60min, 放置室温, 滤过, 滤液浓缩至约 1mL 加到硅胶干层析柱中, 以氯仿洗脱 50mL ,10% 甲醇-氯仿洗脱 100mL 后, 收集 20% 甲醇-氯仿洗脱 50mL。滤过, 过 0.45μm 滤膜, 备用。

2.6 线性关系考察 精密称取白薇正甘 A 对照品 3.832mg, 制成浓度为 1.916mg/mL, 摇匀。精密量取对照品溶液 30、50、70、90、110μL 分别置干燥的量瓶中加甲醇至 1mL, 摇匀, 分别取 10μL 注入高效液相色谱仪, 测定, 以对照品峰面积的积分值为纵坐标, 以对照品进样量为横坐标绘制工作曲线图为一通过原点的直线。

回归方程: $Y = 6.448474976 + 323.9581159X$, $r = 0.9997$ 。线性范围 0.5~ 2.1μg。

2.7 重复性试验 按供试品溶液的制备, 平行试验 5 份进行测定, 结果白薇正甘 A 平均含量 0.04%, RSD 为 1.887%。该方法有良好的重复性。

2.8 精密度试验 取样品 1.0g, 按重复性试验的含量测定方法, 进行精密度试验。结果, RSD 为 0.118%。

2.9 稳定性试验 取样品, 按重复性试验含量测定方法制备供试品溶液, 室温下自然放置, 每间隔一定时间测定一次含量, 测至 8h, 结果 RSD 为 1.568%, 可见样品溶液中白薇正甘的含量至少在 8h 内稳定性良好。

2.10 回收率 试验取白薇正甘 A 浓度 3.498mg/10mL 甲醇溶液, 精密吸取 1mL, 分别加入到白薇样品中, 按含量测定方法制备供试品溶液。测定, 计算回收率。平均回收率为 99.32%, RSD 为 3.64%, 结果见表 1。

2.11 药材的测定 于不同产地购买市售药材, 将药材粉碎, 按含量测定方法进行含量测定, 结果见表 2。

表 1 回收率测定结果

序号	取样量 (mg)	样品中白薇 正甘 A 量 (mg)	添加白薇 正甘 A 量 (mg)	测出白薇 正甘 A 量 (mg)	回收率 (%)
1	1021.5	0.4086	0.3498	0.7396	94.63
2	1010.1	0.4040	0.3498	0.7469	98.03
3	1025.2	0.4101	0.3498	0.7490	96.90
4	1006.3	0.4025	0.3498	0.7626	102.93
5	1072.4	0.4290	0.3498	0.7932	104.14

表 2 不同产地购买市售药材含量测定结果

序号	样品产地	白薇正甘 A 含量 (%)
1	安徽滁县(直立白薇)	0.04000
2	甘肃兰州	—
3	山东莱芜	0.004915
4	安国药市	0.004869
5	青海西宁	—
6	四川成都	—
7	河南南阳	0.007849
8	陕西西安	—
9	吉林	—
10	北京	—

3 小结

由于白薇的品种混乱, 市售药材的鉴别很困难, 目前市场流通的品种除药典收载的直立白薇和蔓生白薇二个品种之外, 全国各地白薇习用品涉及有 8 个科, 20 多个种, 本文测定结果也同样显示, 白薇药材流通市场上, 不含白薇正甘 A(或含量很低)的药材很多。本方法的建立, 为道地药材直立白薇品种的鉴别以及质量控制, 规范流通领域药材品种, 提供了可靠的实验结果。

参考文献:

[1] 谢宗万. 中药材品种论述[M]. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1990, 279.

[2] Zhang ZX, Jun Zhou, The Structure of Cynatratoside-F from Chinese Drug “Pai-Wei” Dried Root of Cynanchum atratum Bunge, Chem[J]. Pharm Bull. 1985, 33(10) : 4188.

[3] Zhang Zhuang-xin, Atratroside A、B、C and D from Cynanchum atratum Bunge[J]. Phytochemistry, 1988, 27: 2935.

[4] Qiu Sheng-Xiang Zhang Zhuang-xin, Yong lin, Two New Glycoside from the roots of Cynanchum versicolor[J]. Planta Med. 1991, 57: 454.

[5] 薛宝云, 梁爱华, 杨庆, 等. 直立白薇退热抗炎作用研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(12) : 751.