

酸和齐墩果酸的含量[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23 (5): 50-51.

[4] 唐丽琴, 刘圣, 李鑫, 等. 高效液相色谱法测定枇杷叶提取物中齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 725-726.

[5] 鞠建华, 周亮, 郑瑞霞, 等. 高效液相色谱法测定中药枇杷叶中熊果酸的含量[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(9): 657-659.

广西不同产地玉郎伞根茎叶中水黄皮素的含量测定*

符传武, 黄筱珏, 韦于慢, 覃华亮, 洪薇, 蒋秋香, 覃子龙, 李隽永, 李玲, 刘永逸

(广西壮族自治区柳州食品药品检验所, 柳州 545006)

摘要 目的 对广西不同产地壮药玉郎伞根、茎、叶中水黄皮素进行测定, 探讨玉郎伞习用药用部位为根的科学性及为其种植基地的选择提供检测数据。方法 采用高效液相色谱法测定广西不同产地壮药玉郎伞药材根、茎、叶中水黄皮素的含量。色谱条件: Symmetry C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以乙腈-含 0.005 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (40:60) 为流动相; 柱温: 30 ℃; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 217 nm; 进样量 10 μL。结果 水黄皮素进样量在 12.23 ~ 122.3 μg·mL⁻¹ 间有良好的线性关系。根、茎、叶中水黄皮素的回收率分别为 98.86%, 98.36%, 101.04%; RSD 分别为 0.36%, 0.74%, 0.54%。水黄皮素在玉郎伞的根部含量最高, 茎次之, 在叶中几乎不含, 广西不同产地壮药玉郎伞根、茎中水黄皮素含量也有一定差异。结论 该实验证实玉郎伞习用药用部位为根的科学性, 其检测数据也可用于壮药玉郎伞种植基地的选择。

关键词 玉郎伞; 壮药; 水黄皮素; 色谱法, 高效液相

中图分类号 R284.1

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2017)06-0676-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.06.019

玉郎伞 *Milletia pulchra Kurz uar. laxior* (Dunn) Z. Wei, 又名: 龙眼参; 为多年生木本。其分布范围仅局限于中国西南部海拔 1 500 ~ 1 800 m, 北纬 25.5° 附近的狭窄地带, 包括广西的部分市县。玉郎伞是广西特色药材, 现已收载在《广西壮族自治区壮药质量标准 (第一卷)》(2008 年版), 民间用于治疗小儿疳积、血虚头晕、失眠、跌打肿痛、骨折、中风性偏瘫等疾病^[1]。有研究表明^[2-7], 玉郎伞具有抗炎、抗肿瘤、降低血压、抑制心肌收缩力、保肝及清除自由基及对局灶性脑缺血再灌注损伤有保护作用。为了满足国内玉郎伞药材市场的需要和资源的可持续开发和应用, 笔者对不同栽培地区玉郎伞药材根、茎、叶中水黄皮素的含量进行测定, 报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 美国 Waters2695 高效液相色谱仪, 紫外检测器; GR202 型电子分析天平 (日本 A&D 公司, 感

量: 0.1/0.01 mg); 元素 820a 型摩尔实验室超纯水器 (上海摩勒生物技术有限公司); AS7240BT 型超声清洗器 (天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

1.2 试剂 水黄皮素对照品 (批号: 114-00471, 含量: 95%), 购于日本和光纯药工业株式会社; 玉郎伞样品具体信息见表 1, 所有药材均经过广西柳州食品药品检验所李玲主任中药师鉴定; 水为 I 级纯化水; 其余试剂均为分析纯。

表 1 玉郎伞样品信息

样品 编号	采集来源地 或购买地	采集时间 或购买时间	采集 部位
1	鹿寨县铁道口菜园边	2015 年 7 月	根、茎、叶
2	柳州市三棉宿舍	2015 年 7 月	根、茎、叶
3	北流市塘岸镇利民村龙眼园	2015 年 7 月	根、茎、叶
4	玉林市仁厚镇荔枝村种植园	2015 年 7 月	根、茎、叶
5	玉林市药材批发市场	2015 年 7 月	根、茎、叶
6	柳州市花红药业种植基地	2015 年 8 月	根、茎、叶
7	百色市东增路	2015 年 8 月	根、茎、叶
8	柳州市城站路药材市场	2015 年 8 月	根、茎、叶
9	来宾市忻城县遂意乡	2015 年 8 月	根、茎、叶
10	玉林药材市场	2015 年 8 月	根、茎、叶
11	陆川县沙坡镇	2015 年 8 月	根、茎、叶

收稿日期 2016-03-24 修回日期 2016-05-16

基金项目 * 广西柳州市“科技攻关与新产品试剂”课题 (2014CD0201 自)

作者简介 符传武 (1981-), 男, 海南文昌人, 主管药师, 学士, 主要研究方向: 食品药品检验、质量标准研究。电话: 0772-2819757, E-mail: 38526408@qq.com。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Symmetry C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以乙腈-含 0.005 mol·L⁻¹庚烷磺酸钠 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (40:60) 为流动相; 柱温: 30 ℃; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 217 nm; 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 取水黄皮素对照品 6 mg, 精密称定, 加无水乙醇 100 mL, 制成每毫升含水黄皮素 60 μg 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品根、茎、叶细粉[过孔径 (355 ± 13) μm (三号) 筛] 约 0.6 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加乙醇 50 mL, 称定质量, 水浴加热回流 2 h, 冷却至室温, 称定质量, 用乙醇补足损失质量, 滤过。精密吸取续滤液 20 mL, 蒸干, 残渣用三氯甲烷分 5 次溶解, 并转移到 25 mL 量瓶中, 定容, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 蒸干, 残渣用无水乙醇溶解, 并转移至 5 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 用微孔滤膜 (孔径 0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 系统适应性实验 取对照品溶液和供试品溶液, 按照“2.1”项色谱条件进样分析, 记录色谱图, 结果见图 1。

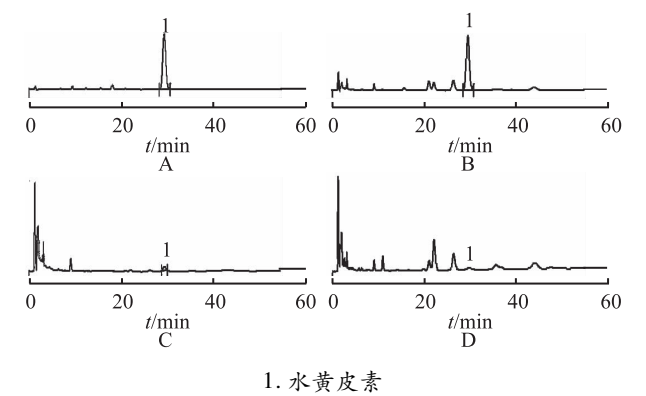


图 1 对照品溶液 (A)、根供试品溶液 (B)、茎供试品溶液 (C) 和叶供试品溶液 (D) HPLC 色谱图

2.5 线性关系考察 按“2.2”项下制备每毫升含水黄皮素为 12, 30, 60, 90, 120 μg 的对照品溶液, 取上述不同浓度对照品溶液分别进样, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 对照品浓度 (X, μg·mL⁻¹) 为横坐标, 绘制标准曲线, 水黄皮素的回归方程为: $Y = 5.49 \times 10^3 X - 5.38 \times 10^4$ ($r = 0.9998$)。结果表明, 水黄皮素进样量在 12 ~ 120 μg·mL⁻¹ 间有良好的线性关系。

2.6 检测限 在“2.1”项色谱条件下, 测定水黄皮素的最低检测限 (信噪比 3:1) 为 0.19 ng; 最低定量限 (信噪比 10:1) 为 0.64 ng。

2.7 精密度实验 分别精密吸取“2.2”项对照品溶液注入液相色谱仪, 按“2.1”项色谱条件连续测定 6 次, 每次 10 μL, 记录水黄皮素的峰面积, 计算其 RSD 为 0.54%, 结果表明仪器精密度良好。

2.8 重复性实验 取同一编号 (样品编号 1) 的玉郎伞根、茎、叶细粉 (过三号筛) 6 份, 各约 0.6 g, 按“2.3”项方法平行制备供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件, 测定 6 份供试品溶液中水黄皮素的含量的 RSD 分别为 1.51%, 2.13%, 0.00%。

2.9 加样回收率实验 精密称取已知含量同一批样品 (样品编号 1, 根、茎、叶中水黄皮素的含量分别为 2.513, 0.049, 0 mg·g⁻¹) 的根、茎、叶细粉 (过三号筛) 各 6 份, 每份约 0.3 g, 加入水黄皮素对照品适量, 照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件进行测定, 计算得其根、茎、叶中水黄皮素的回收率分别为 98.86, 98.36, 101.04%; RSD 分别为 0.36, 0.74, 0.54%。结果见表 2。

表 2 水黄皮素加样回收率实验结果

测定部位	取样量/ g	原有量 mg	加入量 mg	测得量 mg	回收率/ %
根	0.301 2	0.756 9	0.630 1	1.376 4	98.32
	0.298 6	0.750 4	0.630 1	1.372 0	98.65
	0.301 7	0.758 2	0.787 6	1.540 4	99.31
	0.302 3	0.759 7	0.787 6	1.540 8	98.95
	0.314 5	0.790 3	0.945 1	1.723 9	98.78
	0.301 4	0.757 4	0.945 1	1.692 5	98.94
茎	0.307 2	0.015 1	0.630 1	0.628 5	97.35
	0.318 6	0.015 6	0.630 1	0.631 5	97.75
	0.312 7	0.015 3	0.787 6	0.788 3	98.15
	0.321 3	0.015 8	0.787 6	0.793 2	98.70
	0.317 6	0.015 6	0.945 1	0.952 0	99.08
	0.343 4	0.016 9	0.945 1	0.953 8	99.13
叶	0.341 2	0	0.630 1	0.639 1	101.43
	0.297 6	0	0.630 1	0.639 6	101.51
	0.341 7	0	0.787 6	0.793 7	100.77
	0.387 3	0	0.787 6	0.788 5	100.11
	0.332 1	0	0.945 1	0.954 6	101.01
	0.323 7	0	0.945 1	0.958 6	101.43

2.10 稳定性实验 按照“2.3”项制备供试品溶液, 在室温下放置, 在 0, 3, 6, 12, 24 h 测定, 记录主峰面积, 结果表明峰面积无明显变化, 根、茎、叶 RSD 分别为 1.58%, 2.36%, 0.00%。

2.11 样品测定 取 11 批玉郎伞样品, 照“2.3”项方法制备供试品溶液; 按“2.1”项色谱条件测定水黄皮

素的峰面积,计算其含量,结果见表3。

表3 11批样品不同部位水黄皮素含量测定结果
%, $n=3$

编号	根	茎	叶
1	0.25	0.004 9	—
2	0.13	0.006 9	—
3	0.17	0.005 3	—
4	0.15	0.004 1	—
5	0.12	0.003 9	—
6	0.13	0.007 8	—
7	0.13	0.006 3	—
8	0.10	0.003 2	—
9	0.13	0.004 3	—
10	0.13	0.005 8	—
11	0.06	—	—

“—”表示未检出

3 讨论

3.1 对不同厂家对照品质量的考察 由于目前水黄皮素尚不是法定化学对照品,笔者在本实验对不同厂家生产的水黄皮素对照品质量进行考察,分别购买日本和光纯药工业株式会社、成都瑞芬思生物科技有限公司、上海源叶生物科技有限公司、南京森贝伽生物科技有限公司的四家水黄皮素对照品(CAS:521-88-0)配制成相近浓度进行紫外扫描,结果发现购买于日本的对照品与国内3个生产厂家生产的对照品光谱完全不一致,其原因有待考察。由于日本和光纯药工业株式会社生产的对照品光谱信息与文献[8]报道一致,故本次实验使用日本和光纯药工业株式会社生产的对照品进行实验。

3.2 测定波长的选择 经实验,发现在200~400 nm的紫外光谱中,水黄皮素对照品在217和260 nm处有最大吸收,其中217 nm处吸收比260 nm处大,可能是出于对紫外末端吸收的顾虑,现有文献[9]都是选择第二大吸收波长260 nm作为测定波长。本实验曾用217和260 nm波长处同时测定同一份供试品溶液,结果发现在217 nm波长下,供试品中的杂质及紫外末端吸收均未对检测产生干扰,由于在217 nm检测波长下,其灵敏度比260 nm高1.3倍,因此采用217 nm作为检测波长。

3.3 流动相的选择 李霄等^[9]报道,采用庚烷磺酸钠-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾(3:5)-乙腈(1:1)为流动相测定玉郎伞根中的水黄皮素效果满意,本实验在该研究的基础上,改变此流动相的配比,使得水黄皮素在

玉郎伞根、茎、叶中均有良好的分离度。

3.4 样品前处理方法的选择 选用乙醇作溶剂,考察比较超声2 h和加热回流2 h的提取效果,结果显示,加热回流提取效果优于超声提取,故选择加热回流提取法。

玉郎伞植物的地上部分具有较大的生物量,只用其根部而地上部分弃之不用,这不利于资源的充分利用,目前玉郎伞野生资源已近枯竭,研究和探索玉郎伞地上部分的利用途径,显然十分有必要,然而从查阅文献资料可知,还未见学者对其地上部分进行系统的研究。本文在前人研究的基础上,对玉郎伞根、茎、叶中水黄皮素的含量进行测定,旨在考察玉郎伞根、茎、叶中水黄皮素的含量,并建立HPLC法测定玉郎伞根、茎、叶中水黄皮素含量的方法,为其扩宽药用部位及质量控制提供实验依据。从测定结果可以看出,水黄皮素在玉郎伞的根含量最高,在茎次之,也验证广西习用玉郎伞根部的科学性。此外,本研究还可以为选择玉郎伞种植基地提供实验依据,单从水黄皮素含量方面考虑,鹿寨县采集的样品水黄皮素含量最高(根:0.25%),陆川县沙坡镇采集的样品水黄皮素含量最少(根:0.06%),其他地采集的样品水黄皮素含量在0.10%~0.17%(根)之间。

参考文献

- [1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准(第一卷)[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2008:72.
- [2] 曾嵘,黄建春,陈春霞,等. 玉郎伞提取物抗炎作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(11):1889-1892.
- [3] 欧灿纯,余术宜,黄建春,等. 玉郎伞提取物的抗肝癌作用研究[J]. 中国药房,2009,20(27):2087-2088.
- [4] 黄仁彬,焦杨,蒋伟哲,等. 玉郎伞提取物对心脏血流动力学和冠脉流量的影响[J]. 中国医院药学杂志,2003,23(6):321-322.
- [5] 焦杨,段小群,黄仁彬,等. 玉郎伞提取物对超氧阴离子自由基和羟自由基的抑制和清除作用[J]. 广西医科大学学报,2004,21(1):22-23.
- [6] 陈健,林兴,焦杨,等. 玉郎伞多糖对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制初探[J]. 中国新药杂志,2008,17(13):1118-1120.
- [7] 黄仁彬,段小群,焦杨,等. 玉郎伞提取物对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用及其机制的研究[J]. 广西医科大学学报,2003,20(6):874-877.
- [8] 戴斌,丘翠嫦,戴向东,等. 玉郎伞与水罗伞的生药学比较研究[J]. 中草药,2007,38(12):1889-1892.
- [9] 李霄,田辉,王露瑶,等. HPLC法测定玉郎伞中水黄皮素的含量[J]. 广西中医药大学学报,2013,16(2):76-78.