

绵萆薢药材质量控制的实验研究*

The Experiment Study for Quality Control of *Dioscorea septemloba* Thunb

陈勇, 王勤, 李立, 李兵, 潘丽娜, 王智勇

CHEN Yong, WANG Qin, LI Li, LI Bing, PAN Li-na, WANG Zhi-yong

(广西中医学院药学院, 广西南宁 530001)

(Guangxi TCM University, Nanning, Guangxi, 530001, China)

摘要: 以薯蓣皂苷元为对照品, 采用三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)为展开剂, 对绵萆薢药材进行薄层色谱鉴别; 采用 Hypersil ODS C₁₈ 柱(5 μ m, 4.6mm \times 250mm), 乙腈-水(90:10)为流动相, 203nm为检测波长, 测定绵萆薢药材中薯蓣皂苷元的含量。绵萆薢药材薄层色谱鉴别中, 薯蓣皂苷元与其他成分分离良好, 能较好的鉴别出薯蓣皂苷元; HPLC定量分析中, 薯蓣皂苷元进样量2.16~19.44 μ g范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为100.92%, RSD为1.30%。本方法简便, 结果准确, 重现性好, 可以用于绵萆薢药材的质量控制。

关键词: 薄层色谱法 高效液相色谱法 薯蓣皂苷元 绵萆薢

中图分类号: O657.7, R282.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2008)02-0178-03

Abstract *Dioscorea septemloba* Thunb were identified by TLC respectively; using diosgenin as reference substances, and (10:1) as mobile phases. Diosgenin contents were determined by HPLC using the ODS reversed-phase column of Hypersil C₁₈ (5 μ m, 4.6mm \times 250mm), the mobile phase was a combination of acetonitrile and water(90:10), and the eluate was monitored with UV absorption at 203nm. Diosgenin was well-separated by TLC. The diosgenin contents in *D. septemloba* Thunb by HPLC, in the linear range of 2.16 to 19.44 μ g and the recoveries of 100.92% (RSD = 1.30%). The established methods are simple, feasible and reproducible. It is also proposed to be used for the quality control of the *D. septemloba* Thunb.

Key words TLC, HPLC, Diosgenin, *Dioscorea septemloba* Thunb

绵萆薢是薯蓣科植物绵萆薢 (*Dioscorea septemloba* Thunb)或福州薯蓣 (*D. futschauensis* Uline ex R. Kunth)的块茎^[1]。主要含有薯蓣皂苷等甾体皂苷类成分, 具有祛风、利湿之功, 临床上作为利水渗湿药应用, 用于治疗风湿顽痹、腰膝疼痛、小便不利、淋浊、遗精、湿热疮毒等。绵萆薢具有抗心肌缺血、抗肿瘤、降血脂、预防动脉粥样硬化等作用, 其有效成分主要为甾体皂苷类^[2]。目前对于该药材质量控制方面研究报道较少。为了有效控制该药材的质量, 本实验建立绵萆薢药材的薄层鉴别和含量测定方法。

1 材料 仪器与试剂

收稿日期: 2007-11-14

修回日期: 2007-12-16

作者简介: 陈勇(1961-), 男, 教授, 主要从事中药质量控制研究。

* 广西高校人才小高地建设创新团队资助计划项目资助。

1.1 材料

绵萆薢药材购于南宁医药有限公司, 经我院蔡毅教授鉴定为薯蓣科植物绵萆薢 (*Dioscorea septemloba* Thunb)的干燥块茎。薯蓣皂苷元对照品由中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号: 1539-200001。

1.2 仪器与试剂

美国安捷伦科技公司 Agilent 1100 高效液相色谱仪(含在线真空脱气机, 高压四元梯度泵, 标准自动进样器, 智能化柱温箱, 可变波长检测器, Agilent 1100 series 色谱工作站); CG-16W 高速微量离心机(北京医用离心机厂生产); SB3200-T 超声波提取器(上海必能信超声有限公司出品); Millipore Simplicity-185 超纯水器(美国密里博公司出品); BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯公司出品); 939 薄层制板器(重庆南岸贝尔德仪器技术厂出品); 乙腈(色谱纯), 其他

试剂均为分析纯

2 TLC鉴别

称取本品 2g,加乙醇 50ml,超声 0.5h,滤过,滤液加盐酸 5ml,加热回流 2h,放冷,用石油醚振摇提取 4次,每次 40ml,合并石油醚液,挥干,残渣加三氯甲烷 1ml使溶解,作为供试品溶液。另取薯蓣皂苷元对照品,加乙腈制成浓度为 1mg/ml的对照品溶液。吸取上述两种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)为展开剂,展距 10cm,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇试液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。色谱图见图 1

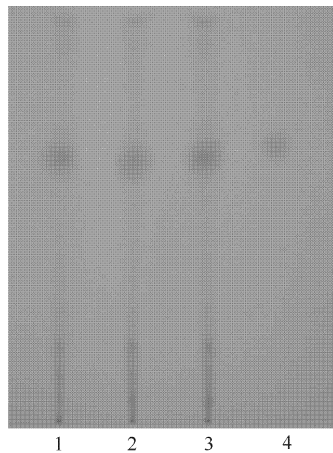


图 1 绵萆薢药材 TLC鉴别色谱

Fig. 1 TLC distinction chromatogram of *D. septemloba*

1~ 3 绵萆薢, 4 对照品。1~ 3 *D. septemloba*, 4 Diosgenin.

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil, ODS \times C $_{18}$ 柱(5 μ m, 4.6mm \times 250mm,大连依利特分析仪器有限公司出品),流动相:乙腈-水(90:10),检测波长 203nm,柱温 25 $^{\circ}$ C,流速,1ml/min,进样量 10 μ l,理论塔板数以薯蓣皂苷元色谱峰计算应不低于 8000 色谱图见图 2和图 3

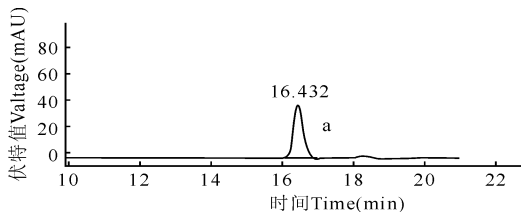


图 2 薯蓣皂苷元对照品 HPLC色谱

Fig. 2 HPLC chromatogram of diosgenin

a 薯蓣皂苷元。a Diosgenin.

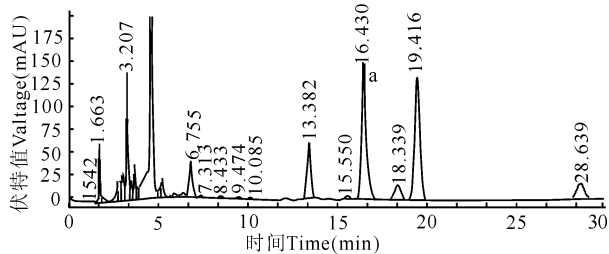


图 3 绵萆薢药材 HPLC色谱

Fig. 3 HPLC chromatogram of *D. septemloba*

a 薯蓣皂苷元。a Diosgenin.

3.2 对照品溶液制备

精密称取薯蓣皂苷元对照品适量(5.41mg),置 50ml量瓶中,用适量乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得浓度为 0.108mg/ml的对照品溶液

3.3 供试品溶液制备

取本品粉末(过 2号筛)约 8g,精密称定,置圆底烧瓶中,加乙醇 100ml,置水浴锅中加热回流 2h,放冷,滤过,滤液加盐酸 16ml,加热回流水解 2h,回收溶剂至约 50ml,冷却,用石油醚(60~ 90 $^{\circ}$ C)振摇提取 4次,每次 40ml,合并提取液,回收溶剂至干,残渣加乙腈溶解,并定量转移至 10ml容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。

3.4 方法学考察

3.4.1 标准曲线制备

分别配制浓度(mg/ml)为 0.216 0.648 1.080 1.512 1.944的对照品溶液,精密吸取上述对照品溶液各 10 μ l,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积值。以峰面积为纵坐标,对照品进样量(μ g)为横坐标,绘制标准曲线,并求出回归方程为: $Y = 9.8056X - 2.7150$, $r = 0.9998$ 。结果表明,薯蓣皂苷元对照品进样量在 2.16~ 19.44 μ g间呈现良好的线性关系。

3.4.2 精密度试验

吸取薯蓣皂苷元对照品溶液(浓度为 1.080mg/ml) 10 μ l,注入高效液相色谱仪,重复进样 6次,测定薯蓣皂苷元对照品峰面积,计算平均峰面积值为 1042.4, $RSD = 1.14\%$ 。

3.4.3 稳定性实验

取同一供试品溶液,每隔 4h,分别进样 10 μ l,测定薯蓣皂苷元峰面积值,计算平均峰面积值为 1215.41, $RSD = 4.87\%$,表明供试品在 24h内保持稳定。

3.4.4 重复性试验

精密称取同一批供试品,共 6份,按样品测定项下的方法进行测定,计算平均含量为 0.046%, $RSD = 3.03\%$ 。

3.4.5 加样回收率试验

取已测知薯蓣皂苷元含量的绵萆薢药材约 4.0g,精密称定,分别精密加入一定量的薯蓣皂苷元对照品溶液(2.05mg/ml),按供试品溶液制备方法制备待测溶液,按上述色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表 1

表 1 加样回收率试验结果

Table 1 Determination results of recovery

序号 No.	原有量 Original (mg)	加入量 Added (mg)	测得量 Found (mg)	回收率 Recovery (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
1	1.825	2.05	3.905	101.45	100.92	1.30
2	1.597	2.05	3.616	98.48		
3	1.735	2.05	3.793	100.38		
4	2.053	2.05	4.140	101.79		
5	1.956	2.05	4.042	101.76		
6	2.008	2.05	4.092	101.69		

3.5 样品测定

分别取不同批次的绵萆薢药材约 8g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备,注入高效液相色谱仪,测定峰面积值,以外标一点法计算供试品中薯蓣皂苷元的含量,结果见表 2

表 2 绵萆薢药材薯蓣皂苷元含量 (n= 3)

Table 2 The diosgenin contents in *D. septemloba* (n= 3)

批次 No.	含量 Content(%)	RSD (%)
1	0.049	
2	0.046	0.005
3	0.047	

4 结论

在薯蓣皂苷元的薄层鉴别实验中,曾试用过环己烷-乙酸乙酯(4:1)、三氯甲烷-丙酮(9:1)、三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)等展开剂,通过比较,采用本实验所用的三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)效果较好,斑点清晰,圆整

在薯蓣皂苷元的 HPLC 含量测定中,在制备供试品溶液时,分别用三氯甲烷-石油醚及醋酸乙酯进行萃取,结果表明以石油醚(60~90°C)40ml 直接萃取 4 次的效果最优。本品薯蓣皂苷元的含量测定在供试品溶液制备时需进行水解,然后用石油醚进行多次萃取,萃取过程中的步骤较多,会影响方法的重复性

分别考察不同比例乙腈-水、乙腈-磷酸溶液等流动相,结果发现以乙腈-水(90:10)作流动相时,色谱峰形及分离度较好。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典 2005 版一部 [M].北京:化学工业出版社,2005:232.
- [2] 李雪征,金光沫.萆薢的研究进展 [J].中国野生植物资源,2002,21(5): A-10

(责任编辑:邓大玉)

(上接第 177 页 Continue from page 177)

- [3] 余雄英,任启生,宋新容.山海螺的研究进展 [J].江西中医药,2004,35(3): 60.
- [4] Chang Y K, Kim S Y, Han B H. Chemical studies on the alkaloidal constituents of *codonopsis lanceolata* [J]. *Yakhak Hoechi*, 1986, 30(1): 1.
- [5] Aladina N G, Elkin Y N, Chezian E A. Structure of codonoside B [J]. *Khim Prir Soedin*, 1989, 28(3): 368.
- [6] 宋彦梅,尹秋响,王静康.甘氨酸的应用及生产技术 [J].

氨基酸和生物资源,2003,25(2): 55-60.

- [7] 徐琪寿.氨基酸的药理研究进展 [J].氨基酸和生物资源,1996,18(1): 30-32.
- [8] 周忠信,张龙娟,黄晓卉.胃肠外营养添加精氨酸对肝癌术后患者免疫功能的影响 [J].南方医科大学学报,2007,27(7): 1094-1096.

(责任编辑:邓大玉)