

光石韦药材中芒果苷的定性定量分析方法研究*

Qualitative and Quantitative Analysis of Mangiferin in *Pyrrosia hclavata* (Bak.) Ching

李文琪^{1,2}, 陈明生^{1,2}, 温幼敏³, 马军花³, 陈露^{1,2}, 黄艳^{1,2}, 刘布鸣^{1,2**}

LI Wen-qi^{1,2}, CHEN Ming-sheng^{1,2}, WEN You-min³, MA Jun-hua³, CHEN Lu^{1,2}, HUANG Yan^{1,2}, LIU Bu-ming^{1,2}

(1. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022; 2. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 3. 广西万通制药有限公司, 广西南宁 530003)

(1. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. Wantong Pharmaceutical Co., Ltd., Guangxi, Nanning, Guangxi, 530003, China)

摘要: 为了研究光石韦药材中的芒果苷, 建立定性定量分析方法, 采用薄层色谱定性鉴别, 高效液相色谱测定芒果苷含量。结果表明, 薄层色谱鉴别方法的重现性好, 芒果苷在 0.0605~0.3632 μg 范围内呈良好线性关系 ($r = 0.9996$), 平均回收率为 101.3%, RSD 为 2.13% ($n = 9$)。方法简便、准确, 专属性强, 重现性和回收率好, 可以为光石韦药材的质量标准制定提供分析方法和依据。

关键词: 芒果苷 薄层色谱 高效液相色谱 光石韦

中图分类号: O657.72, R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2012)01-0077-03

Abstract: TLC and HPLC were adopted to establish qualitative and quantitative determination of mangiferin in *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching. The results showed that the qualitative method was repeatable, the calibration curve of mangiferin was linear within the range of 0.0605~0.3632 μg, $r = 0.9996$. Average recovery was 101.3% and RSD was 2.13% ($n = 6$). This method is accuracy, sensitive and simple, and can be adopted as a standard for the quality control of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching.

Key words: mangiferin, TLC, HPLC, *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching

光石韦为水龙骨科植物 *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching 的干燥叶, 为广西习用药材, 具有利尿通淋, 清热止血的功效, 用于热淋, 血淋, 石淋, 小便不通, 淋漓涩痛, 吐血, 衄血, 尿血, 崩漏, 肺热喘咳^[1]。光石韦中含有芒果苷等黄酮类化合物^[2,3], 为主要有效成分, 药理实验表明芒果苷具有免疫调节、抗病毒、抗菌及镇痛解热、抗炎、抗肿瘤等药理作用^[4]。目前

光石韦中芒果苷的分析测试方法未见有文献报道。《广西中药材标准》中光石韦药材质量标准亦无鉴别与含量测定项^[1]。本研究采用薄层色谱法和高效液相色谱法, 对光石韦中的芒果苷进行定性定量分析方法研究, 为光石韦药材质量标准的提高和进一步开发利用提供研究基础和依据。

1 实验仪器与试剂

美国 Water 515 高效液相色谱仪, 2487 可变波长检测器, 威玛龙色谱工作站, Agilent Syr. LC 50 μl FN 微量进样器, KQ5200B 型超声清洗器。

芒果苷对照品由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 111607-200402, 纯度大于 98%。HPLC 所用试剂均为色谱纯, 其他试剂试剂均为分析纯。硅胶 G 由青岛海洋化工厂生产。

收稿日期: 2012-01-31

修回日期: 2012-02-11

作者简介: 李文琪(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究。

* 广西科技攻关项目(桂科攻 1099062-4)和南宁技术创新项目(2009-2-15)资助。

** 通讯作者, 刘布鸣(1956-), 男, 研究员, 主要从中药和天然药化学成分分析研究。

光石韦药材采自广西等地,原植物标本经广西中医药研究院何开家主任药师鉴定为 *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching,植物标本保存在广西中医药研究院标本馆(GXMD)。

2 实验方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

取本品粉末 0.1 g,置入具塞锥形瓶中,加 50%乙醇 20 ml,超声处理 1 h,取出,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取光石韦对照药材 0.1 g,同法制成对照药材溶液。再取芒果苷对照品药材溶液,加甲醇制成每 1 ml 含 0.1 mg 的溶液,制成对照品溶液。按照薄层色谱法(中国药典 2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 1~2 μ l,分别点于同一含羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(10:1:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1%三氯化铝乙醇溶液,晾干,在 105 $^{\circ}$ C 加热约 5 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同的颜色的荧光斑点(见图 1)。经多批样品试验,薄层色谱的重现性好,可以作为光石韦药材的定性鉴别方法。

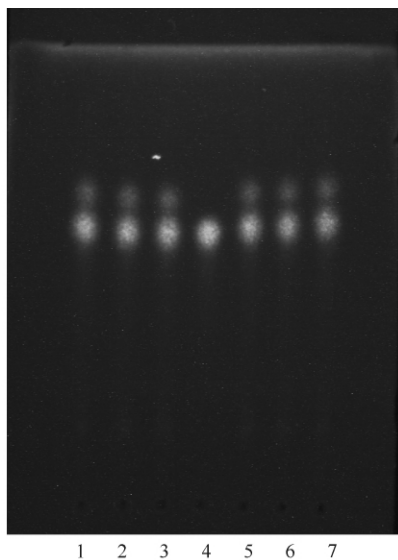


图 1 光石韦薄层色谱

Fig. 1 TLC of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching

1,2,3,6,7. 光石韦药材,4. 芒果苷对照品,5. 光石韦药材对照品。1,2,3,6,7 Sample of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching, 4. Mangiferin, 5. Material reference of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching.

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱为大连依力特 C_{18} 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m)。流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液(13:87)。

检测波长 318 nm,柱温为室温,进样量 10 μ l,理论塔板数按芒果苷计算不低于 5000。芒果苷对照品和光石韦供试品溶液 HPLC 图谱如图 2 所示。

2.2.2 提取条件选择

芒果苷难溶于水,易溶于醇,分别比较 50%乙醇和 50%甲醇两种溶液的提取率的结果表明,50%乙醇溶液的提取含量高,故选择 50%乙醇溶液为提取溶剂。

比较超声时间的实验结果显示,超声 60 min 的提取含量与超声 90 min、120 min 的提取率相当(见表 1),说明超声 60 min 基本可以将样品中的芒果苷提取完全。为了缩短分析时间,本实验选择超声时间为 60 min。

表 1 不同超声提取时间药材中芒果苷测定结果

Table 1 Extraction of mangiferin in different extracting time

时间 Time(min)	含量 Content(mg/g)
30	30.42
60	32.15
90	32.38
120	32.39

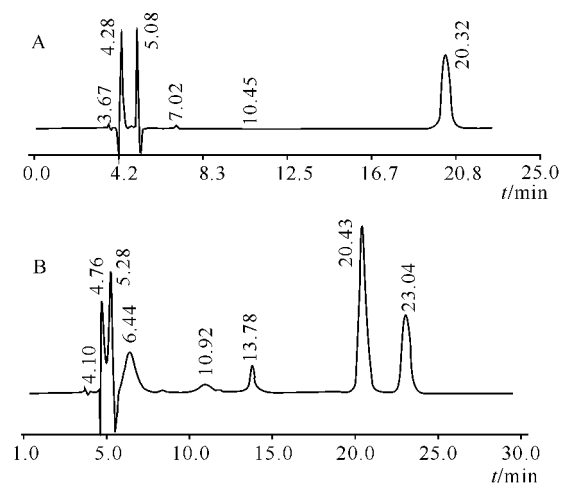


图 2 光石韦的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching

A. 芒果苷对照品, B. 光石韦药材。

A. Reference substance of mangiferin, B. Sample of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching.

2.2.3 对照品溶液及供试品溶液制备

精密称取芒果苷对照品适量,加 50%乙醇制成 20 μ g/ml 的对照品溶液,即得对照品溶液。

精密称取光石韦药材粉末 0.1 g,置入 50 ml 的量瓶中,精密加入 50%乙醇 40 ml,超声处理(功率 320 W,频率 80 KHz)1 h,用 50%乙醇溶液定容,精密量取此溶液 10 ml 至入 25 ml 容量瓶,加 50%乙醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察

精密称取芒果苷对照品 10 mg, 置入 100 ml 容量瓶中, 加 50% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 0.6 ml、1.2 ml、1.8 ml、2.4 ml、3.0 ml、3.6 ml, 分别置入 10 ml 量瓶中, 用 50% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得系列浓度对照品溶液, 按上述色谱条件进行测定。以对照品进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 2221052X - 16483$, $R = 0.9996$ ($n = 6$), 表明芒果苷进样量在 0.0605~0.3632 μg 范围呈良好线性关系。

2.2.5 精密度、稳定性和重现性试验

取同一对照品溶液连续重复进样 6 次, 测得芒果苷峰面积平均值为 393372.8, $RSD = 1.30\%$ 。取同一供试品溶液, 连续重复进样 6 次, 测得芒果苷峰面积平均值为 564728.7, $RSD = 1.03\%$ 。实验的精密度良好。

取同一供试品溶液, 每隔 2h 进样, 进行到 10h 考察, 结果芒果苷峰面积平均值为 603264.2, $RSD = 1.26\%$ 。实验的稳定性好。

精密称取同一批光石韦药材样品各 6 份, 按上述供试品溶液制备方法和色谱条件测定峰面积并计算。结果芒果苷平均含量为 33.58 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $RSD = 1.84\%$ ($n = 6$)。实验的重现性良好。

2.2.6 加样回收率试验

称取已测知含量(芒果苷平均含量为 33.58 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)光石韦药材粉末, 共 9 份, 每份 0.05 g, 精密称定。置入锥形瓶中, 编号为 1~9 号, 精密加入芒果苷含量为 260.2 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液, 1~3 号 5 ml, 4~6 号 6.5 ml, 7~9 号 8 ml。混匀后按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 每份取 10 μl 进样, 按上述色谱条件测定芒果苷含量, 计算回收率。结果(表 2)平均回收率为 101.3%, $RSD = 2.13\%$ 。

表 2 光石韦药材回收率试验结果

Table 2 Recovery results of *Pyrrhosia clavata* (Bak.) Ching

编号 No.	供试品 取重量 Weight (g)	供试品 中芒果 苷含量 Content of mang- iferin (mg)	加入 芒果 苷的量 Dosage (mg)	测得值 Mess- ured value (mg)	回收率 Reco- very (%)	平均 回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	0.0502	1.6857	1.301	2.9634	98.21	101.33	2.13
2	0.0504	1.6924	1.301	2.9952	100.14		
3	0.0506	1.6991	1.301	3.0198	101.51		
4	0.0509	1.7092	1.691	3.3758	98.56		
5	0.0499	1.6756	1.691	3.3942	101.63		
6	0.0511	1.7159	1.691	3.4198	100.76		
7	0.0503	1.6891	2.082	3.8350	103.07		
8	0.0509	1.7092	2.082	3.8672	103.65		
9	0.0505	1.6958	2.082	3.8700	104.43		

2.2.7 样品含量测定

分别取不同产地和批号的光石韦药材, 按上述供试品溶液制备方法和色谱条件依次测定芒果苷含量的结果(表 3)显示, 16 批光石韦样品中芒果苷的最高含量为 7.32%, 最低含量为 2.58%。

表 3 光石韦样品中芒果苷含量测定结果($n = 3$)

Table 3 Results of *Pyrrhosia clavata* (Bak.) Ching from different region

序号 Entry	产地 Region	批号 Batch number	芒果苷的含量 The content of mangiferin(%)
1	广西上思 Shangsi Guangxi	091208	5.63
2	广西上思 Shangsi Guangxi	081203	3.20
3	广西上思 Shangsi Guangxi	081017	3.94
4	广西上思 Shangsi Guangxi	090615	5.28
5	广西上思 Shangsi Guangxi	081113	2.58
6	广西靖西 Jingxi Guangxi	091201	3.42
7	广西靖西 Jingxi Guangxi	081230	3.27
8	广西靖西 Jingxi Guangxi	090514	5.24
9	广西靖西 Jingxi Guangxi	080513	3.17
10	广西靖西 Jingxi Guangxi	100902	4.52
11	广西靖西 Jingxi Guangxi	091022	4.77
12	广西靖西 Jingxi Guangxi	100701	6.08
13	广西武鸣 Wuming Guangxi	100422	7.32
14	广西武鸣 Wuming Guangxi	100315	4.48
15	广西武鸣 Wuming Guangxi	101012	4.73
16	广西武鸣 Wuming Guangxi	080908	3.04

3 结论

本研究采用薄层色谱定性鉴别和高效液相色谱测定芒果苷含量。薄层色谱鉴别方法的重现性好, 芒果苷在 0.0605~0.3632 μg 范围内呈良好线性关系 ($r = 0.9996$), 平均回收率为 101.3%, RSD 为 2.13% ($n = 9$)。方法简便、准确, 专属性强, 重现性和回收率好, 可以作为光石韦药材中芒果苷的定性定量分析方法, 为光石韦药材的质量控制, 完善和提高药材质量标准提供了实验基础和科学依据。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1992:43-44.
- [2] 包文芳, 席晓红. 光石韦的两个黄酮类化合物[J]. 西北药学杂志, 1989, 4(1):16-17.
- [3] 郑兴, 许云龙, 徐军. 光石韦化学成分的研究[J]. 中草药, 1999, 30(4):253-254.
- [4] 邓家刚, 覃骊兰. 芒果苷近 5 年研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2008, 24(4):463-464.

(责任编辑: 邓大玉)