

# 苦玄参药材中苦玄参苷 I A 和 I B 的含量分析

方宏, 梁小燕, 宁德生, 陈海珊

(广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006)  
中国科学院

**摘要:** 采用 HPLC 法对不同产地的苦玄参药材主成分苦玄参苷 I A 和 I B 的含量进行分析, 发现苦玄参苷 I B 含量高于苦玄参苷 I A; 色谱条件: Waters C18 (4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相: 乙腈: 水 = 36 : 64 (体积比), 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 264 nm。苦玄参苷 I A、I B 分别在 0.05~0.50 mg/mL 和 0.072~0.720 mg/mL 与峰面积有良好的线性关系。苦玄参苷 I A 的线性回归方程  $Y = 13\,658X - 92.72$  ( $r = 0.999\,3$ ), 平均回收率为 100.58% ( $n = 5$ ), 相对标准偏差 (RSD) 为 1.86%; 苦玄参苷 I B 的线性回归方程  $Y = 5\,258.9X - 41.01$  ( $r = 0.999\,4$ ), 平均回收率为 101.15% ( $n = 5$ ), 相对标准偏差 (RSD) 为 1.31%。该研究为制定苦玄参药材质量检测标准提供了简便、快速、准确的方法。

**关键词:** 高效液相色谱法; 苦玄参; 苦玄参苷 I A; 苦玄参苷 I B

中图分类号: Q946.83 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)05-0708-03

## Analysis of picfeltarraenins I A and I B in *Picria fel-tarrae*

FANG Hong, LIANG Xiao-Yan, NING De-Sheng, CHEN Hai-Shan

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

**Abstract:** The content of picfeltarraenins I A and I B in *Picria fel-tarrae* from different regions were analyzed by HPLC, the results showed that the content of picfeltarraenins I B was higher than picfeltarraenins I A.

The chromatography conditions were as follows: Waters C18 column (4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-water (36 : 64, volume ratio) as mobile phase. The flow rate was 0.8 mL/min, and the detection wavelength was set at 264 nm. The operating curves of I A and I B were found to be linear over the ranges of 0.05–0.50 mg/mL ( $r = 0.999\,3$ ) and 0.072–0.720 mg/mL ( $r = 0.999\,4$ ). The average recoveries were 100.58% and 101.15%. The method is simple, accurate and can be used as a standard for the *Picria fel-tarrae* medicine material quality detected.

**Key words:** HPLC; *Picria fel-tarrae*; picfeltarraenin I A; picfeltarraenin I B

苦玄参 (*Picria fel-tarrae*) 系玄参科 (Scrophulariaceae) 苦玄参属植物, 主要分布于我国广西、广东、贵州和云南南部地区。其性寒味苦, 具有抗菌消炎, 清热解毒、凉血消肿的功效 (钟树权等, 1979)。民间用以治疗高热、咽喉肿痛, 蛇伤和痈疔。

苦玄参苷 (picfeltarraenin) I A 和 I B 是苦玄参中两个主要的苷类成分, 最先从苦玄参具有抑菌

和抗癌活性部分中分离得到 (成桂仁等, 1985), 结构式见图 1。药理实验表明, 苦玄参苷 I A 和 I B 具有抗补体作用 (Huang 等, 1998); 苦玄参干浸膏有明显的抗炎及镇痛作用 (周芳等, 2006)。因此进行苦玄参有效成分含量测定, 建立其质量检测标准非常必要。邹节明等 (2005) 采用 TLCS (薄层扫描法) 检测苦玄参苷 I A 和 I B, 但较烦琐的样品制备过

收稿日期: 2007-01-11 修回日期: 2007-04-19

基金项目: 广西自然科学基金 (0339079) [Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (0339079)]

作者简介: 方宏 (1958-), 女, 浙江黄岩人, 实验师, 从事植物化学成分分析。

程可能导致部分样品流失, 从而影响含量检测的准确性。本文采用高效液相色谱法, 建立苦玄参中苦玄参苷 I A 和 I B 含量同时检测的分析方法, 该方法简便, 快速, 准确。分析了不同产地苦玄参药材中苦玄参苷 I A 和 I B 的含量, 为鉴别苦玄参药材质量, 制定质量标准提供科学的参考依据。

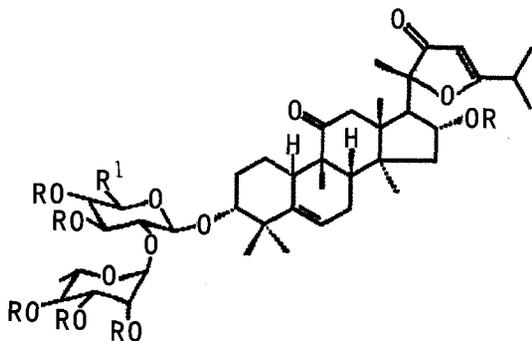


图 1 苦玄参苷 I A 和 I B 结构

Fig. 1 Structures of picfeltarraenins I A and I B

I A:  $R=R^1=H$ ; I B:  $R=H, R^1=CH_2OH$ .

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪[包括: 四元低压梯度泵, 二极管阵列检测器(DVD), HP 化学工作站(Agilent)]; Rheodyne 7725i 进样阀, 10  $\mu$ L 定量环; 超纯水仪(Millipore 公司)。试剂: 乙腈(色谱试剂), 甲醇(分析纯试剂), 水(超纯水, 自制)。

### 1.2 对照品与药材

苦玄参苷 I A 和 I B 对照品均为自制无色针晶, 薄层层析检查为单一斑点。经波谱分析(IR, UV, H-NMR)及熔点测定, 与成桂仁等(1985)的一致, HPLC 检测均为单峰, 归一化法计算纯度 I A 为 98.2%, I B 为 97.1%。苦玄参药材: 购于广西南宁、梧州、宁明、横县、龙州和越南, 经鉴定为玄参科植物苦玄参的干燥全草。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Waters C18 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈(V): 水(V) = 36: 64。流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 264 nm。

### 2.2 标准溶液的配制

精密称取苦玄参苷 I A 对照品 5.0 mg, 苦玄参苷 I B 对照品 7.2 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 制成混合标准溶液。

### 2.3 样品溶液的配制

取苦玄参全草粉末(过 40 目筛) 2.0 g, 精密称定, 置于 100 mL 锥形瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 称重(带盖), 于 80  $^{\circ}$ C 水浴中加热回流 2 h, 取出冷却至室温, 再称重, 滴加少许甲醇使前后重量一致。过滤, 取中间滤液过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 作为供试品溶液。

### 2.4 方法学考察

2.4.1 色谱条件的选择 选用 RP-C18 柱, 以不同比例的甲醇-水为流动相, 色谱分离差, 峰形宽且拖尾; 改用乙腈-水为流动相, 色谱峰形较窄, 分离有较明显改善。经试验, 流动相用乙腈-水(36: 64) 时, I A 和 I B 达到基线分离, 分离效果最佳。

2.4.2 线性关系考察 精密吸取 2.2 配制的标准溶液 0.50、1.20、2.40、3.60、5.00 mL, 分别置于 5 mL 容量瓶中, 甲醇定容到刻度, 制成系列标准溶液, 按照 2.1 条件检测, 以峰面积 Y 为纵坐标, 苦玄参苷浓度 X 为横坐标绘制标准曲线, 回归方程: I A:  $Y=13\ 658X-92.72, r=0.999\ 3$ ; I B:  $Y=5\ 258.9X-41.01, r=0.999\ 4$ 。结果 I A、I B 分别在 0.05~0.50 mg/mL 和 0.072~0.720 mg/mL 与峰面积有良好的线性关系。最低检测线: 在信噪比  $S/N \geq 3$  时, I A 为 0.008 mg/mL, I B 为 0.01 mg/mL。

2.4.3 精密度试验 取同一供试品溶液连续进样 5 次, 测得苦玄参苷 I A 的  $RSD=1.81\%$  ( $n=5$ ), I B 的  $RSD=1.96\%$  ( $n=5$ )。表明精密度较好。

2.4.4 稳定性试验 按 2.3 制备一份样品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定峰面积值, 结果苦玄参苷 I A 的  $RSD=1.72\%$ ; I B 的  $RSD=2.13\%$ , 表明样品在 24 h 内检测是稳定的。

2.4.5 重复性试验 精密称取同一药材试样 5 份, 按 2.3 制备样品进行测定, 测得苦玄参苷 I A 的  $RSD=1.12\%$  ( $n=5$ ); I B 的  $RSD=1.31\%$  ( $n=5$ )。结果表明方法的重现性良好。

2.4.6 加样回收试验 取一已知含量的样品, 精密称取 5 份, 每份 250 mg, 分别加入一定量的苦玄参苷 I A、I B 对照品, 加入 20 mL 甲醇, 于 80  $^{\circ}$ C 水浴中加热回流 2 h, 过滤到 25 mL 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 依法检测。得 I A 的平均回收率为 100.58%,  $RSD=1.86\%$  ( $n=5$ ); I B 的平均回收率

为 101.14%, RSD=1.31% (n=5)。表明本方法回收率较好。

2.4.7 含量测定 取不同产地的苦玄参药材,按 2.3 制备样品,以选定的色谱条件进行测定并计算含量,结果见表 1 和图 2。

### 3 讨论

(1) 含量测定结果显示,以苦玄参全草为样本,苦

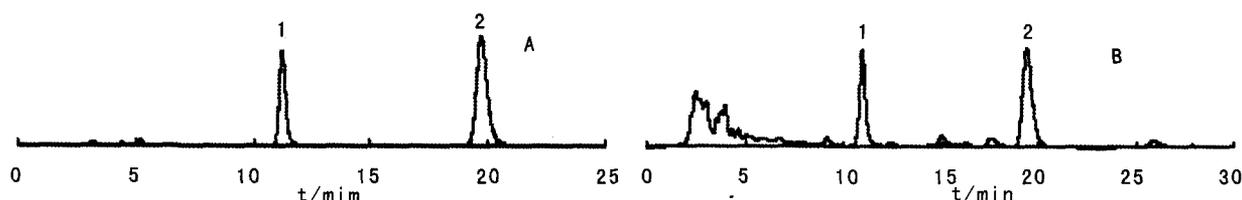


图 2 对照品(A)和供试品(B)HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of control (A) and sample (B)

峰 1: 苦玄参苷 picfeltarraenins I B; 峰 2: 苦玄参苷 picfeltarraenins I A.

表 1 样品测定结果 (n=3)  
Table 1 Determination result

采集地点 Locality	I A (%)	I B (%)
广西梧州 Wuzhou, Guangxi	0.41	0.67
广西南明 Ningming, Guangxi	0.57	0.88
广西横县 Hengxian, Guangxi	0.62	0.94
广西龙州 Longzhou, Guangxi	0.39	0.67
越南 Vietnam	0.46	0.86
广西南宁 Nanning, Guangxi	0.34	0.58

范化种植,对提升该药材质量至关重要。

(3) 提取条件考查:以同一个样品,分别采用甲醇浸泡 12 h,超声 0.5 h 和回流 2 h 的方式提取,检测样品中苦玄参苷 I A 和 I B 含量,结果回流提取测得的含量较高,其次为超声提取,浸泡提取含量最低。

(4) 陈勇等(2006)和郑成远等(2006)报道了苦玄参苷 I A 的含量测定,但未进行苦玄参苷 I B 的检测。本文对苦玄参苷类的这两个主要成分同时进行了分析检测,为较全面地评价苦玄参药材质量,制定其质量检测标准提供了科学的、可行的检测方法,有益于对苦玄参这一民间良药进行深入的研究。

### 参考文献:

Cheng GR(成桂仁), Jin JL(金静兰), Wen YX(文永新), et al. 1985. Studies on the constituents of *Picria fel-tarrae* VII. The structure of picfeltarraenin IA and IB(苦玄参化学成分的研究

玄参苷 I B 含量高于苦玄参苷 I A。表明苦玄参苷 I B 不仅是苦玄参苷类的主要成分之一,而且其含量还相当高,在制定苦玄参质量标准时不容忽视。此外,苦玄参苷 I B 的药理作用也值得进一步研究。

(2) 不同产地的苦玄参药材,其苦玄参苷 I A、I B 的含量有明显差异,揭示出苦玄参药材质量与其来源、地域及采收季节等因素相关。开展苦玄参生长特性与有效成分积累规律的研究,考察民间传统的采收时间和药物中活性成分的相关性,建立规

VI-苦玄参苷 IA 和 IB 的结构[J]. *Acta Chim Sin*(化学学报), 43(6):374-379

Chen Y(陈勇), Zhen HS(甄汉深), Liu J(刘婧), et al. 2006. Measurement of picfeltarraenin IA in *Picria fel-tarrae* by HPLC (HPLC 法测定苦玄参中苦玄参苷 IA 的含量)[J]. *World Sci Tech/Modern Trad Chin Med Mat Med*(世界科学技术-中医药现代化·基础研究), 8(2):28-31

Huang Y, Tess D, Sandma A, et al. 1998. Complement-inhibiting cucurbitacin glycoacidea from *fel-tarrae*[J]. *J Nat Prod*, 61(6): 757-761

Liang XY(梁小燕), Fang H(方宏), Ning DS(宁德生), et al. 2007. RP-HPLC fingerprint of *Picria fel-tarrae* from South Guangxi[J]. *Guihaia*(广西植物), 27(6):948-951

Zheng CY(郑成远), Zhong H(钟宏). 2006. Determination picfeltarraenin IA in *Picria fel-tarrae* by HPLC(高效液相色谱法测定不同产地苦玄参中苦玄参苷 IA 含量)[J]. *Chem Engineer*(化学工程师), 125(2):37-39

Zhong SQ(钟树权), Zhang BN(张本能), Huang FX(黄福祥). 1979. Tumor inhibiting herb — *Picria fel-tarrae* (抗肿瘤草药——苦草)[J]. *Lett Chin Trad Herb Med*(中草药通讯), 10(3):46

Zhou F(周芳), Li P(李萍), Chen Y(陈勇), et al. 2006. Experimental study on analgesic and anti-inflammatory effects of *Picria fel-tarrae* dry extract(苦玄参干浸膏抗炎镇痛作用的实验研究)[J]. *Chin J Trad Med Sci Tech*(中国中医药科技), 13(4): 244-245

Zou JM(邹节明), Wang LS(王力生), Yan H(严海), et al. 2005. Determination of picfeltarraenin IA and IB in *Picria fel-tarrae* with TLCS(TLCS 法测定苦玄参中苦玄参苷 IA 和 IB 的含量)[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 25(6):654-656