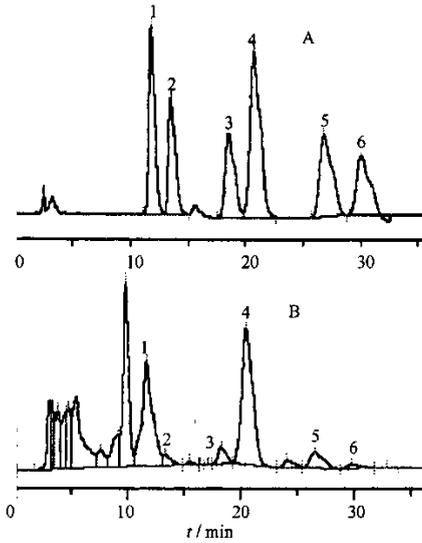


项下操作,由回归方程计算样品中各对照品的量,鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苳及 1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮的平均回收率($n=6$)分别为 95.9、97.0、101.6、96.0、97.2、94.0, RSD 分别为 2.54%、1.86%、2.30%、1.62%、1.87%、1.65%。

2.9 样品测定:按色谱条件,以鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苳和 1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮为对照品,考察不同采收时间的鼓槌石斛中各成分变化($n=3$),结果见图 1,表 1。



1-毛兰菲 2-1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮 3-鼓槌石斛素
4-毛兰素 5-鼓槌菲 6-鼓槌联苳
1-confusarin 2-dendroflorin 3-chrysotoxine 4-erianin
5-chrysotokene 6-chrysotobibenzyl

图 1 对照品(A)和样品(B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substances (A) and sample (B)

3 讨论

流动相的选择:由于石斛中的组分相当复杂,各组分达到理想分离较为困难,经过多次实验优选,本

表 1 不同采收期鼓槌石斛中酚类化合物的测定 ($n=3$)
Table 1 Determination of phenols in *D. chrysotoxum* collected in different time ($n=3$)

编号	采收时间	毛兰菲/%	1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮/%	鼓槌石斛素/%	毛兰素/%	鼓槌菲/%	鼓槌联苳/%	总量/%
1	2001-01	0.025	0.009	0.019	0.244	0.008	0.005	0.310
2	2001-02	0.020	0.009	0.013	0.058	0.001	0.002	0.103
3	2001-03	0.005	0.002	0.001	0.017	0.001	0.000	0.026
4	2001-04	0.012	0.005	0.005	0.124	0.004	0.001	0.151
5	2001-05	0.012	0.013	0.011	0.100	0.002	0.002	0.140
6	2001-06	0.032	0.010	0.021	0.349	0.004	0.010	0.426
7	2001-07	0.066	0.008	0.012	0.211	0.011	0.004	0.312
8	2001-08	0.101	0.009	0.017	0.315	0.012	0.008	0.462
9	2001-09	0.081	0.015	0.027	0.356	0.010	0.028	0.598
10	2001-10	0.035	0.016	0.010	0.162	0.008	0.003	0.234
11	2001-11	0.058	0.022	0.024	0.566	0.007	0.022	0.699
12	2001-12	0.024	0.006	0.013	0.243	0.008	0.010	0.304

实验选用甲醇-水(58 : 42)为流动相进行分离,取得较好效果。

检测波长的选择:联苳、菲及茛酮类化合物的最大吸收波长在 210、270 及 257 nm 左右,在 237 nm 处各化合物均有较强的吸收,经综合考察并结合参考文献选择 237 nm 为检测波长。

从表 1 可以看出不同采收期的样品各成分总量有明显差异,3 月时量最低,从 4 月开始各成分量逐渐增高,以后分别在 6 月、9 月及 11 月达到 3 个高峰,其中 11 月量达到最高。从总体上讲这几种对照品在春季 2~4 月量最低,秋冬季量相对较高,由此可以看出传统上石斛药材的采收时间定于秋冬季是有科学道理的。

References:

[1] Yang H, Gong Y Q, Chou G X, et al. Studies on the chemical constituents of *Dendrobium chrysotoxum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 11, 972-974.
[2] Yang H, Wang Z T, Chou G X, et al. Studies on the chemical constituents of *Dendrobium chrysotoxum* II [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 5, 367-369.
[3] Ma G X, Xu G J, Xu L S, et al. A new hibenzyl derivative, chrysotoxine from *Dendrobium chrysotoxum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1996, 31 (3): 222-225.

胡黄连质量评价方法的研究

邬国庆,张小茜

(北京市药品检验所,北京 100035)

胡黄连为我国传统中药,为玄参科植物印度胡黄连 *Picrorhiza kurooa non* Royle ex Benth. 的干燥

根茎,一向依赖进口。20 世纪 60 年代,在西藏和云南西北部发现同属植物西藏胡黄连 *P.*

scrophulariiflora Pennell, 并栽培作为印度胡黄连的代用品^[1]。本研究对象是《中国药典》2005 年版收载的胡黄连, 为国产西藏胡黄连。其性寒, 味苦。具清湿热, 除骨蒸, 消痞热的功效。用于湿热带痢, 黄疸, 痔疾, 骨蒸潮热, 小儿疳热。现代研究证明胡黄连具有清热利湿、保肝利胆, 降酶的作用。

据文献报道, 胡黄连中的主要活性成分为环烯醚萜苷类, 以胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、胡黄连苷 III 为主^[2]。本研究采用薄层色谱法与高效液相色谱法分别对胡黄连苷 I、胡黄连苷 II 进行鉴别和定量测定。建立了科学、可行的质量控制方法。

1 仪器、试剂与样品

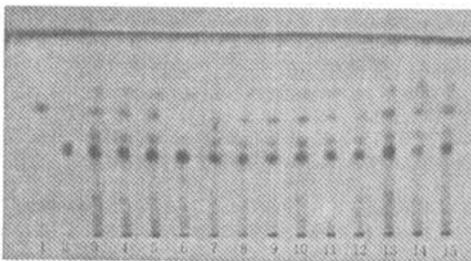
仪器: 岛津 10A 高效液相色谱仪, 试剂: 甲醇为色谱纯; 磷酸为优级纯; 其他试剂均为分析纯。对照品: 胡黄连苷 I、胡黄连苷 II, 由北大世佳研究中心提供(质量分数均大于 98%)。

硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(烟台化学工业研究所)。

胡黄连产地分别为西藏(5 份)、四川(3 份)、云南(2 份)、广西(1 份), 另有 2 份为市售品, 共计 13 份, 经本所赵惠萍主任药师鉴定为胡黄连 *P. scrophulariiflora* Pennell。

2 薄层色谱鉴别

取本品粉末 0.2 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 另取胡黄连苷 I、胡黄连苷 II 对照品, 分别加甲醇制成各含 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以水饱和醋酸乙酯为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 再以氯仿-甲醇-醋酸乙酯(7:3:5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)下检视。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。见图 1。



1-胡黄连苷 I 2-胡黄连苷 II 3~15-样品
1-pricoside I 2-pricoside II 3-15-samples

图 1 胡黄连样品的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC chromatograms of *P. scrophulariiflora*

3 HPLC 法测定

3.1 色谱条件: 色谱柱: Alltech C₁₈ 柱(250 mm ×

4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水-磷酸(35:65:0.1)。体积流量: 1.0 mL/min。检测波长: 275 nm。柱温: 40 °C。色谱柱的理论板数按胡黄连苷 II 峰计算应不低于 3 000。分离度: 大于 1.5。见图 2。

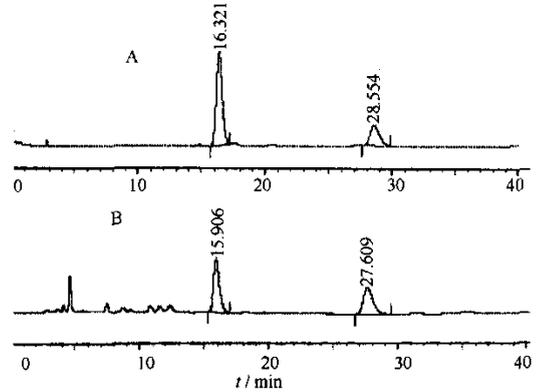


图 2 胡黄连苷 I、胡黄连苷 II 对照品溶液(A)和样品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference substances solutions (A) and sample (B) of pricoside I and pricoside II

3.2 对照品溶液的制备: 精密称取胡黄连苷 I、胡黄连苷 II 对照品各 10 mg, 置同一 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。

3.3 供试品溶液的制备: 取本品粉末(过三号筛) 0.1 g, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 用甲醇补足质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得。

3.4 线性关系考察: 精密称取胡黄连苷 I 对照品 4.55 μg, 胡黄连苷 II 对照品 6.18 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 分别置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 再精密量取对照品溶液(胡黄连苷 I 4.85 mg → 50 mL, 胡黄连苷 II 6.18 mg → 50 mL) 15 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明胡黄连苷 I 在 0.097~1.455 μg 线性关系良好, 其回归方程为: $Y = -60.4573 + 5737.8307X$, $r = 0.9999$; 胡黄连苷 II 在 0.1236~1.8540 μg 线性关系良好, 其回归方程为: $Y = 94.7922 + 11601.9337X$, $r = 0.99997$ 。

3.5 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液(西藏 1) 10 μL, 分别于配制后 0、1、3、7、11、20 h 依法测

定,结果表明,供试品溶液在 20 h 内基本稳定,胡黄连苷 I 峰面积的 RSD 1.77%,胡黄连苷 II 为 RSD 1.42%。

3.6 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液(西藏 1),进样 10 μL,重复进样 5 次,结果胡黄连苷 I 峰面积的 RSD 1.86%,胡黄连苷 II 为 RSD1.42%。

3.7 重现性试验:取同一批样品(西藏 1) 5 份,按样品方法制备、测定,结果含胡黄连苷 I 为 11.21%,RSD 1.27%;含胡黄连苷 II 为 8.31%,RSD 1.18%。

3.8 回收率试验:精密称取已知量的同一批样品(西藏 1,胡黄连苷 I 11.21%,胡黄连苷 II 8.31%)约 0.05 g,分别精密加入对照品溶液(胡黄连苷 I 1.860 8 mg/mL,胡黄连苷 II 1.503 2 mg/mL) 3 mL 与甲醇 47 mL,按供试品溶液的制备方法制备并测定,计算回收率,结果胡黄连苷 I 平均回收率为 100.90%,RSD 为 1.32%,胡黄连苷 II 平均回收率为 99.85%,RSD 为 1.74%。

3.9 样品测定:按上述方法,共测定 13 批胡黄连药材,结果见表 1。

表 1 样品测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of samples (n=2)

编号	产地	胡黄连苷 I / %	胡黄连苷 II / %	编号	产地	胡黄连苷 I / %	胡黄连苷 II / %
1	西藏 1	12.28	9.10	8	四川 3	8.33	6.95
2	西藏 2	10.98	6.40	9	云南 1	0.55	12.15
3	西藏 3	13.11	6.67	10	云南 2	3.42	6.34
4	西藏 4	11.02	7.32	11	广西	11.86	7.15
5	西藏 5	10.46	7.21	12	购自安国	4.78	5.61
6	四川 1	8.14	10.18	13	购自湖北	9.39	8.96
7	四川 2	6.78	6.22				

4 讨论

4.1 曾采用①甲醇-水-36%醋酸(45:55:1)、②甲醇-水-36%醋酸(40:60:1)、③甲醇-水(35:65)为流动相,结果①、②不能同时测定两个成分,③的分离效果不理想,故最终采用甲醇-水-磷酸(35:65:0.1)为流动相,可同时测定胡黄连苷 I 与胡黄连苷 II,且分离良好。

4.2 检测波长的确定:取胡黄连苷 I 与胡黄连苷 II 对照品的甲醇溶液,分别在 200~400 nm 波长进行扫描,记录其吸收光谱,结果胡黄连苷 I 在 275 nm 处有最大吸收,胡黄连苷 II 在 263.5 与 292.5 nm 处有最大吸收,经比较上述 3 个测定波长,在 275 nm 处胡黄连苷 I 有最大吸收,胡黄连苷 II 有较大吸收,可同时测定两个成分。故采用 275 nm 作为检测波长。

4.3 实验条件的选择

4.3.1 提取溶剂的选择:以不同浓度的甲醇、乙醇为溶剂,采用超声提取的方法,测定同批样品,结果表明,采用甲醇为溶剂,提取较完全。

4.3.2 超声处理与加热回流的比较:以甲醇为溶剂,采用超声处理与加热回流的方法,测定同批样品,结果表明,采用超声处理 30 min,提取较完全。

4.3.3 提取时间的选择:以甲醇为溶剂,分别超声处理 15、30、45 min,测定同批样品,结果表明,采用甲醇为溶剂,超声处理 30 min 可提取完全。

4.4 从多数样品的测定结果看,胡黄连苷 I 与胡黄连苷 II 的量大体相当,但个别样品的胡黄连苷 I 量较低。

4.5 水分、总灰分、酸不溶性灰分的测定:为更好地控制药材质量,还采用烘干法测定了药材中的水分,并按照《中国药典》2005 年版中的灰分测定法测定了 13 批样品的总灰分与酸不溶性灰分。见表 2。

表 2 水分、总灰分、酸不溶性灰分和浸出物测定结果
Table 2 Determination of water content, total ash, acid-insoluble ash, and extracts

编号	产地	水分 / %	总灰分 / %	酸不溶性灰分 / %	浸出物 / %
1	西藏 1	8.68	3.08	1.05	42.93
2	西藏 2	8.43	3.89	1.44	38.86
3	西藏 3	8.00	3.79	1.29	49.66
4	西藏 4	7.68	3.18	0.71	45.22
5	西藏 5	8.38	2.70	0.60	46.44
6	四川 1	7.85	2.52	0.36	48.85
7	四川 2	10.08	6.51	1.09	41.49
8	四川 3	7.76	2.92	0.38	43.96
9	云南 1	8.63	3.53	1.11	41.92
10	云南 2	8.77	4.50	1.41	36.75
11	广西	9.10	2.95	0.58	41.83
12	购自安国	8.72	3.19	0.19	36.33
13	购自湖北	6.30	2.84	0.56	47.82

4.6 浸出物测定:本品主含环烯醚萜苷类成分,在乙醇中有较好的溶解度,因此认为用醇溶性浸出物能够起到控制胡黄连质量的目的。采用热浸法,以乙醇为溶剂,测定了 13 批样品的浸出物,其中最高值为 49.66%,最低值 36.33%。见表 2。

References:

[1] Qian S H, Pu S B. Survey on studies of Huhuaglian [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 1997, 16 (2): 11-14.

[2] Ji W L, Zhang Z H. Proceeding study on Huhuaglian [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29 (1): 54-56.

[3] Wang J, Zhang Z H, Dai Y J, et al. Determination of picroside-I contained in *Picrorhiza scrophulariiflora* by HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报) 2000, 31 (5): 368-370.

[4] Chao Z M, Ni M Y. Advances in studies on active constituents of Huhuaglian [J]. *Foreign Med Sci: Tradit Chin Med* (国外医学:中医中药分册), 1993, 15 (2): 1-3.

[5] Wang D Q, He Z D, Feng B S, et al. Chemical constituents from *Picrorhiza scrophulariiflora* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1993, 15 (1): 83-88.