

4 SPSS 13.0 相关分析

将以上数据输入 SPSS 13.0 进行相关分析,得到 Pearson Correlation 值见表 2。体现牛蒡种质质量的指标中千粒质量、粒数百分比、质量百分比、发芽势与发芽率与体现牛蒡子药材质量的指标牛蒡苷量、牛蒡苷元量有显著或极显著的相关性,成正相关或负相关。

表 2 各指标间的相关系数 P 值

Table 2 Correlation coefficient P value during various statistical targets

指标名称	千粒质量	粒数百分比	质量百分比	发芽势	发芽率	牛蒡苷	牛蒡苷元
千粒质量	1	.602**	.592**	.396*	.428*	.696**	-.350**
粒数百分比	.602**	1	.907**	.335	.362*	.455**	-.367**
质量百分比	.592**	.907**	1	.398*	.407*	.519**	-.405**
发芽势	.396*	.335	.398*	1	.958**	.511**	-.578**
发芽率	.428*	.362*	.407*	.958**	1	.547**	-.647**
牛蒡苷	.696**	.455**	.519**	.511**	.547**	1	-.461**
牛蒡苷元	-.350**	-.367**	-.405**	-.578**	-.647**	-.461**	1

* 显著相关

* Correlation is significant at 0.05 level (2-tailed)

** 极显著相关

** Correlation is very significant at 0.01 level (2-tailed)

5 结论与讨论

测定了 34 个不同采集地的 7 个指标,千粒质量平均值为 8.86 g,牛蒡苷量平均值为 6.33%,其中体现种质质量的指标千粒质量、粒数百分比、质量

百分比、发芽势、发芽率与牛蒡子药材的评价指标牛蒡苷的量成正相关。千粒质量、粒数百分比和质量百分比 3 者之间成极显著正相关,这 3 者指标越高说明牛蒡种子越成熟饱满、粒大,牛蒡苷是牛蒡子药材的检测评价指标,《中国药典》2005 年版规定不低于 5%,这 3 者指标越高牛蒡苷量越高,说明了牛蒡子药材的质量、成熟饱满的种子所占的数量比、质量比越高牛蒡苷的量也越高。这与传统牛蒡子药材质量评价以粒大、饱满者为佳相一致。发芽势和发芽率是评价种质质量、种子成熟饱满度、生长力的指标,与牛蒡苷量成极显著正相关。牛蒡子药材中的牛蒡苷量和苷元量成极显著负相关,说明药材中牛蒡苷的量越高牛蒡苷元的量越低,这也为牛蒡子药材的质量评价提供参考。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005
[2] 王璐,赵烽,刘珂.牛蒡子苷及牛蒡子苷元的药理作用研究进展[J].中草药,2008,39(3):467-470
[3] 许亮,吕智,刘森,等.中国牛蒡种质资源植物被调查与采集[J].现代中药研究与实践,2008,22(6):22-24
[4] 许亮,冀德强,王冰,等.中国牛蒡属染色体分析[J].中药材,2009,32(3):337-339
[5] 王劲,沙明,杨洪武,等.HPLC 法对不同地区商品牛蒡子中牛蒡苷元的定量分析[J].中草药,2003,34(5):467-468
[6] 张涛.牛蒡子不同炮制品中牛蒡苷含量的 HPLC 测定[J].中草药,2004,35(4):406-407

HPLC 法测定市售胡黄连中胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II

周菲¹,倪健²

(1 中国医药研究开发中心有限公司,北京 102206; 2 北京中医药大学,北京 100029)

摘要:目的 建立胡黄连药材中胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的 HPLC 定量测定方法。方法 采用 Dikma Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水-冰醋酸 (20: 80: 0.5) 为流动相, 体积流量: 1.0 mL/min, 检测波长: 275 nm, 柱温: 25 ℃。结果 胡黄连苷 I 对照品在 0.09~1.88 μg 进样量与峰面积间呈良好的线性关系, r = 0.999 8, 平均加样回收率为 99.2%, RSD 为 1.50% (n = 6); 胡黄连苷 II 对照品在 0.16~3.2 μg 进样量与峰面积间呈良好的线性关系, r = 0.999 9, 平均加样回收率为 98.9%, RSD 为 1.81% (n = 6)。结论 该方法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可用于胡黄连药材的定量测定。

关键词: 胡黄连; 胡黄连苷 I; 胡黄连苷 II; 高效液相色谱

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)04-0658-03

胡黄连味苦,性寒。归肝、胃、大肠经。有清湿热,除骨蒸,消痞热之功效,用于治疗湿热泻痢,黄

疸,痔疾,骨蒸潮热,小儿疳热。现代药理表明,胡黄连具有保肝利胆,拮抗平滑肌痉挛等作用^[1]。目前

①收稿日期: 2009-07-22

基金项目: 北京市科技计划项目 (课题编号: D07080201330705, 项目编号: D0206001000091)

作者简介: 周菲 (1981-), 女, 江苏徐州人, 工程师, 从事中药新药研究开发工作。Tel: (010) 80717086 E-mail: niphz@126.com

对胡黄连质量评价有报道^[2], 2005 年版《中国药典》中规定, 胡黄连是玄参科植物胡黄连 *Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell 的干燥根茎, 在“定量测定”项下明确了胡黄连中含胡黄连苷 I ($C_{24}H_{28}O_{11}$) 和胡黄连苷 II ($C_{23}H_{28}O_{13}$) 的总量不得少于 9.0%^[3]。而在工作中发现, 从不同的药店, 不同的饮片厂购买的胡黄连, 质量分数差别较大。

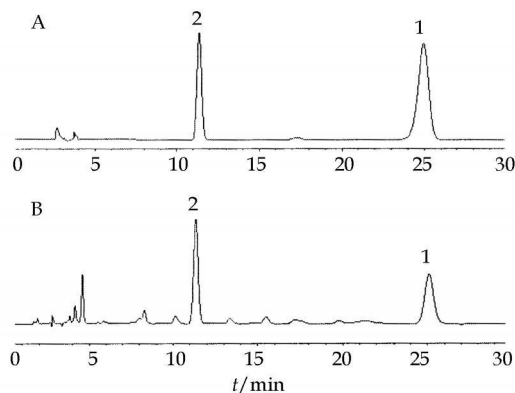
1 仪器与试药

1.1 仪器: Agilent 1100 液相色谱仪 (美国惠普公司); Mettler Toledo XS105 DualRange 电子天平; KQ-250 DE 型数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药: 胡黄连苷 I 对照品 (批号: 111727-200501)、胡黄连苷 II 对照品 (批号: 111596-200301), 均购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 其余试剂均为分析纯。13 批市售胡黄连药材中 2 批购自不同的医院药房、4 批购自不同的药店、2 批购自安国饮片厂, 5 批购自云南药材公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Dikma Diamonsil C_{18} 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈-水-冰醋酸 (20: 80: 0.5), 体积流量: 1.0 mL/min, 柱温: 25 $^{\circ}$ C, 检测波长: 275 nm。理论板数按胡黄连苷 II 峰计算应不低于 3 000。见图 1。



1-胡黄连苷 I 2-胡黄连苷 II
1-picroside-I 2-picroside-II

图 1 胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的混合对照品 (A)、胡黄连药材 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of picroside-I and picroside-II mixed reference substance (A) and *Rhizoma Picrorhizae* (B)

2.2 对照品溶液的制备: 取胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 对照品适量, 精密称定, 加流动相制成含胡黄连苷

I 0.05 mg/mL 和胡黄连苷 II 0.1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取胡黄连粉末 (过三号筛) 约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 放置 24 h, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密称取胡黄连苷 I 对照品 23.44 mg 和胡黄连苷 II 对照品 40.72 mg, 置于同一 100 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 分别精密量取 2、5、10、15、20、40 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述混合对照品溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。以进样量 (X) 与对应的峰面积 (Y) 作回归处理, 得到 2 条标准曲线。胡黄连苷 I 的回归方程为: $Y = 2242.1X - 38.334$ ($r = 0.9998$, $n = 6$); 胡黄连苷 II 的回归方程为: $Y = 996.57X + 2.1375$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明, 胡黄连苷 I 在 0.09~1.88 μ g, 胡黄连苷 II 在 0.16~3.26 μ g, 进样量与峰面积间均呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一混合对照品溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积值, 重复进样 6 次。结果胡黄连苷 I 的 RSD 为 0.40% ($n = 6$), 胡黄连苷 II 的 RSD 为 0.21% ($n = 6$)。表明本法精密度良好。

2.6 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 分别精密吸取 20 μ L, 测定峰面积值, 结果胡黄连苷 I 的 RSD 为 0.98% ($n = 6$), 胡黄连苷 II 的 RSD 为 1.04% ($n = 6$)。可见供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.7 重现性试验: 取同一批胡黄连粉末 6 份, 按 2.3 项下方法, 制备供试液, 分别精密吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 进行定量测定, 结果胡黄连苷 I 质量分数 RSD 为 1.81% ($n = 6$); 胡黄连苷 II 质量分数 RSD 为 1.43% ($n = 6$)。表明本法重现性良好。

2.8 加样回收率试验: 取已测定 (胡黄连苷 I 2.98%, 胡黄连苷 II 8.14%) 的同一批号胡黄连粉末 (过三号筛) 6 份, 每份约 0.05 g, 均精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入混合对照品溶液 (胡黄连苷 I 0.2117 mg/mL, 胡黄连苷 II 0.5234 mg/mL) 7 mL, 按 2.3 项下方法, 制备加样回收供

试品。分别精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 进行定量测定, 计算加样回收率。结果胡黄连苷 I 的平均加样回收率为 99.23%, RSD 为 1.50% ($n=6$); 胡黄连苷 II 的平均加样回收率为 98.94%, RSD 为 1.81% ($n=6$)。

2.9 样品测定: 分别取上述市售胡黄连药材样品, 按 2.3 项下方法, 制备供试液, 分别精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件, 分别测定各样品中胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的量, 测定结果见表 1。

表 1 市售胡黄连药材的量测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of picroside-I and picroside-II in *Rhizoma Picrorhizae* of market ($n=3$)

编号	胡黄连苷 I / %	胡黄连苷 II / %	胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 总量 / %
1	0.26	1.19	1.45
2	2.61	6.63	9.24
3	1.62	5.94	7.56
4	0.32	1.27	1.59
5	1.35	5.41	6.76
6	0.88	4.64	5.52
7	2.68	8.21	10.89
8	2.49	5.48	7.97
9	0.39	11.52	11.91
10	0.86	11.73	12.59
11	0.62	10.72	11.34
12	0.58	9.32	9.90
13	0.51	9.18	9.69

1, 2 号样品分别购自不同的医院药房; 3~6 号样品分别购自不同的药店; 7, 8 号样品购自安国饮片厂, 其中, 7 号产地为西藏、8 号产地为青海; 9~13 号样品购自云南药材公司, 其中, 9~12 号产地为云南, 13 号产地为缅甸

Samples 1 and 2 were bought from different hospital pharmacies; samples 3—6 were bought from different pharmacies; samples 7, 8 from the Anguo Pieces Factory, and sample 7 from Tibet, sample 8 from Qinghai; samples 9—13 from Yunnan Corporation Medical Herbs, and samples 9—12 from Yunnan, sample 13 from Myanmar

3 讨论

3.1 流动相系统的改进: 曾按照 2005 年版《中国药典》中“胡黄连含量测定”项下方法采用甲醇-水-磷酸 (35: 65: 0.1) 为流动相试验, 胡黄连苷 I 在 50 min 左右出峰, 胡黄连苷 II 在 25 min 左右出峰, 考虑到出峰时间较晚。参考了文献^[4]方法, 并经过实际摸索, 改用本研究所述流动相, 出峰时间胡黄连苷

I 在 25 min 左右, 胡黄连苷 II 在 11 min 左右, 节约了试验成本。

3.2 供试品溶液制备方法的改进: 在 2005 年版《中国药典》中“胡黄连含量测定”项下供试品溶液制备方法的基础上稍做改进, 在“超声提取 30 min”前, 增加了“放置 24 h”, 试验结果表明, 同一批号样品, 经“放置 24 h”的试验步骤后, 测得的胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 总量为 11.2%, 按《中国药典》方法测得总量为 9.4%, 提高了近 20%, 因此建议应在胡黄连定量测定的供试品溶液制备中增加“放置 24 h”的试验操作。

3.3 对市售胡黄连药材测定结果的分析: 从对 13 批市售胡黄连药材的测定结果可以看出, (1) 质量参差不齐, 其中有 6 批未达到 2005 年版《中国药典》中“胡黄连含量测定”项下“胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 总量不得少于 9.0%”的规定。这 6 批样品中有 5 批来自普通药店, 1 批来自医院药房, 且有 2 批胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 总量不到 2%。(2) 产地对药材品质有一定影响, 产于西藏、云南、缅甸的胡黄连品质较好。(3) 种属差异较大, 虽 2005 年版《中国药典》仅记载了西藏胡黄连的根茎为正品, 但据《中华本草》^[5]可知, 胡黄连药材的来源还有玄参科植物胡黄连 *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. 的根茎, 也称印度胡黄连。根据王菁等^[4]对西藏胡黄连和印度胡黄连中胡黄连苷 II 的定量测定研究可知, 两种胡黄连中胡黄连苷 II 的量差别较大, 印度胡黄连中胡黄连苷 II 平均量为 1.62%, 西藏胡黄连中胡黄连苷 II 平均量为 7.23%。因此, 种属差异是测定结果差异较大的原因之一。

参考文献:

[1] 阴健. 中药现代研究与临床应用 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1995

[2] 邬国庆, 张小茜. 胡黄连质量评价方法的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(12): 1886-1888

[3] 中国药典 [S]. 一部. 2005

[4] 王菁, 张朝晖, 戴永健, 等. HPLC 测定胡黄连中胡黄连苷 II 的含量 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(5): 368-370

[5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第七卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999