

文章编号 :1000-4025(2005)02-0397-03

# 西藏产两种岩白菜中岩白菜素的 HPLC 测定\*

纪兰菊

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

**摘要** 建立测定了岩白菜中岩白菜素含量的方法。色谱柱 Waters C<sub>18</sub>柱(5 μm × 3.9 mm × 150 mm), 流动相: 甲醇-水-磷酸=20:80:0.1, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长 275 nm, AUFS 0.01, 柱温为室温。结果表明, 岩白菜素在 0.16~0.08 μg 有良好线性关系,  $r=0.9992$ , 平均回收率为 98.14%,  $RSD$  为 1.12%。本方法是测定岩白菜中岩白菜素含量的快速、简便、准确可靠的定量方法。

**关键词** 高效液相色谱 岩白菜 岩白菜素  
中图分类号 Q946 文献标识码 A

## Bergenin HPLC Determination of Two Species of *Bergenia* growing in Tibet

JILANJU

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

**Abstract** A HPLC method for bergenin determination in *Bergenia purpurascens* was established. The method was as follows: chromatography column waters C<sub>18</sub>(5 μm × 3.9 mm × 150 mm), mobile phase methanol-water-phosphoric=20:80:0.1, flow velocity 1.0 mL/min, detection wavelength 275 nm, AUFS 0.01, temperature as same as room temperature. The standard curves of bergenin showed good linearity within the range of 0.16~0.08 μg,  $r=0.9992$ . The average recovery was 98.14%,  $RSD$  was 1.12%. The method was quick, simple, accurate and reliable for the determination of bergenin in *Bergenia purpurascens*.

**Key words** HPLC *Bergenia purpurascens* bergenin

岩白菜(藏药俗称力嘎都)(*Bergenia purpurascens*)为虎耳草科多年生常绿草本植物,分布在云南、四川、西藏等高山阴湿石缝中,岩白菜中的主要药效成分为岩白菜素(bergenin)熊果苷(arbutin)<sup>[1]</sup>等,具有抗菌、消炎、镇咳、祛痰等功效,多用于民族药中肺系统疾病及消化道系统疾病的治疗。国家药典收载的岩白菜及药品岩白菜素的含量测定<sup>[2,3]</sup>,均采用分光光度法,也曾有虎耳草科中岩白菜素的 HPLC 测定法<sup>[4,5]</sup>。本实验对西藏色季拉山所产的岩

白菜植物根茎进行提取、分离、纯化后得到4个化合物,经红外、核磁共振鉴定为β-谷甾醇、熊果苷、岩白菜素、胡萝卜苷,其中岩白菜素得量最高,因此,采用反相高效液相色谱法对西藏地区海拔4000 m以上的色季拉山、亚东地区、米拉山分布的岩白菜及近缘植物蛇岩白菜(*B. pacum bis*)中的岩白菜素含量进行了测定,为该植物的深度开发和合理利用提供科学依据。

\* 收稿日期 2004-03-16 修改稿收到日期 2004-06-22

基金项目 国家中西部重点专项(2001BA901A 47)

作者简介 纪兰菊(1952-),女,北京人,副研究员,主要从事藏药药物化学研究。

## 1 仪器、试剂、材料及标准品的配制

Waters 高效液相色谱仪 600E, 486 智能紫外可见光检测器(日本产) 2200 B 超声波仪, Mill Q 超纯水装置(国产); 岩白菜素对照品由中国药品生物制品鉴定所提供, 批号 0678-2000016(供含量测定用); 分析样品, 岩白菜与蛇岩白菜于 2001 年 8 月中下旬自行采集于西藏地区的色季拉山、米拉山、亚东地区, 取根茎部分洗净, 阴干, 经中国科学院西北高原生物研究所潘锦堂研究员鉴定为岩白菜与蛇岩白菜; 色谱纯甲醇购于山东省禹王公司, 分析纯甲醇、磷酸等购自天津化学试剂公司。

## 2 色谱条件

色谱柱 Waters C<sub>18</sub> 柱(5 μm × 3.9 mm × 150 mm) 流动相: 甲醇/水/磷酸(20/80/0.1); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 275 nm, AUFS 0.01; 柱温: 室温; 理论塔板数按岩白菜素计应不低于 2500, 在此条件下岩白菜素与其它组分均能达到基线分离。对照品及样品的 HPLC 分离图见图 1。

## 3 方法与结果

### 3.1 线性关系考察

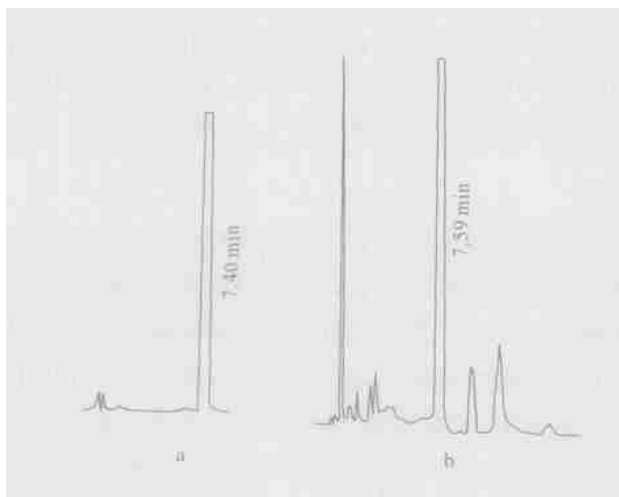


图 1 HPLC 色谱分离图

a 岩白菜素对照品 b 样品

Fig. 1 HPLC chromatography

a Bergenin b Sample

精密称取岩白菜素对照品, 用甲醇制成岩白菜素为 0.04 mg/mL 的对照品溶液, 分别精密吸取对照品溶液 4、8、12、16、20 μL, 注入高效液相色谱仪, 以岩白菜素峰面积值  $y$  为纵坐标, 岩白菜素的浓度  $x$  为横坐标, 得回归方程为  $y = 111.629.2x + 3.414.371$ , 相关系数  $r = 0.999.2$ , 线性范围 0.16~0.08 μg。

### 3.2 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 16 μL, 按上述色谱条件分析, 连续进样 5 次; 岩白菜素的峰面积测定值分别为 2.858.280、2.870.218、2.873.379、2.803.320、2.738.325,  $RSD$  为 2.0%。

### 3.3 稳定性试验

精密称取同一样品, 按样品处理方法制备成供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8 h 重复进样, 测定样品中岩白菜素峰面积积分平均值为 1.649.075,  $RSD$  为 1.51%。证明岩白菜素的样品溶液相对稳定, 能够满足测试要求。

### 3.4 重复性试验

精密称取同一样品, 进行 5 次平行试验, 该样品中的岩白菜素的平均含量为 5.74%,  $RSD$  为 2.9%。

### 3.5 回收率试验

精密称取已知含量的岩白菜 0.20 g, 加入一定量的岩白菜素对照品, 按供试品的制备方法制备, 进行分析, 药材中岩白菜素的平均回收率为 98.14%,  $RSD$  为 1.12% (表 1)。

### 3.6 样品的制备方法及测定

样品中岩白菜素的含量测定的准确性与样品处理的方法有直接关系, 由于岩白菜素为醇溶性成分, 以甲醇为提取溶媒, 对不同粒度, 同一样品中甲醇回流提取和超声波振荡提取两种方法进行了对比试验(表 2), 结果显示岩白菜素的提取率与样品的粒度有关, 同时甲醇回流提取效果优于超声波振荡提取。故取不同产地 2 种岩白菜根茎部分, 超微粉碎, 精密称取经 200 目细度过筛的药材细粉 0.200.0 g, 置锥形瓶中, 精密加入 25 mL 甲醇, 称定重量, 回流提取 120 min, 放至室温, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 按上述分析条件进行测定, 用外标法以峰面积积分值计算岩白菜素的含量, 结果见表 3。

表 1 岩白菜素的加样回收率

Table 1 Recovery experiment of bergenin

序号 No.	样品中岩白菜素 Bergenin in sample(mg/g)	添加岩白菜素 Added bergenin (mg/g)	测定岩白菜素含量 Content of bergenin determined (mg/g)	回收率 Recovery (%)	$\bar{X}$ Average (%)	RSD (%)
1	28.3	16.67	44.77	98.2	98.14	1.12
2	28.3	16.67	44.57	97.0		
3	30.8	20.0	46.93	96.8		
4	30.8	20.0	47.37	99.4		
5	28.3	30.0	61.50	99.3		

表 2 不同提取方法的岩白菜素的含量

Table 2 Bergenin in different extractive methods(%)

提取方法 Method of extraction	粒度(目) Size	30 min	60 min	120 min
回流 Reflux	80	4.19	5.08	5.12
回流 Reflux	200	4.35	5.23	5.70
甲醇超声 Supersonic by Methanol	80	2.55	2.75	3.66
甲醇超声 Supersonic by Methanol	200	2.60	2.68	3.80

表 3 不同产地 2 种岩白菜植物中岩白菜素的含量(n=3)

Table 3 Bergenin in two species of *Bergenia* of different area (n=3)

品名 Sample	色季拉山 Sejila mountain	亚东地区 Yadong area	米拉山 Mila mountain
岩白菜 <sup>1,2</sup> <i>Bergenia purpurascens</i>	5.64, 4.85	6.17, 5.28	5.70, 6.20
蛇岩白菜 <sup>1,2</sup> <i>Bergenia pacumbis</i>	2.67, 2.87	2.27, 2.94	2.98, 2.56

注: 1 和 2 分别为不同地方采集的样品。

Note: Sample 1 and 2 are collected in different area.

## 4 讨论

本文对色谱分离条件和方法进行了考察, 试验了甲醇-水-醋酸与甲醇-水-磷酸为流动相的不同配比, 比较了岩白菜药材中各组分的分离情况, 结果表明采用甲醇-水-磷酸系统(20:80:0.1)的

比例时, 分离情况良好, 证明该方法简便、准确、稳定、干扰少, 适用于岩白菜属植物中岩白菜素的含量测定。

表 3 显示了岩白菜及蛇岩白菜中的岩白菜素的含量地域差异不明显, 同时, 岩白菜植物中有效成分岩白菜素的含量远远高于蛇岩白菜。

## 参考文献:

- [1] 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996
- [2] 云南省药品检验所. 云南省药品标准[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1974: 193
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 146
- [4] DING J X(丁家欣), ZHANG Q H(张秋海), ZHANG L(张玲), WANG Z SH(王逐生). Determination bergenin in *Saxifraga stolonifera* Curt. of different area and period[J]. *China J. Chin. Mater. Med.* (中国中药杂志), 2002, 27(10): 792-793(in Chinese).
- [5] CHEN W D(陈文斗), NIEM H(聂明华). Determination of bergenin in *A. chinensis* Franch and *B. purpurascens* Engl by HPLC[J]. *Acta Pharm. Sin.* (药学学报), 1998, 23(7): 606(in Chinese).