



HPLC-UV 波长转换法测定玄参药材及饮片中 哈巴苷与哈巴俄苷的含量

白云娥^{1,2}, 袁鹏飞¹, 王庆辉¹, 王苏丽^{1,3}, 葛跃伟¹, 钮正睿¹,
尚明英^{1*}, 刘广学¹, 李晨¹, 蔡少青^{1*}

- (1. 北京大学药学院生药学研究室, 北京 100191;
2. 山西医科大学药学院, 山西太原 030001;
3. 山东中医药高等专科学校, 山东莱阳 265200)

[摘要] 目的:建立同时测定中药玄参中哈巴苷与哈巴俄苷的 HPLC-UV 双波长含量测定方法,考察炮制对 2 种成分含量的影响,提出玄参药材和饮片中哈巴苷和哈巴俄苷的含量限度建议。方法:应用 Agilent Technologies ZORBAX SB- C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈-0.03% 磷酸水溶液为流动相,进行梯度洗脱,流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温为 25 °C,采用双波长检测 13 min 前用 210 nm,13 min 以后用 280 nm 作为检测波长。结果:哈巴苷和哈巴俄苷能够达到很好的分离。哈巴苷线性范围为 0.054 9 ~ 1.46 μg;哈巴俄苷线性范围为 0.022 5 ~ 0.900 μg。哈巴苷与哈巴俄苷平均回收率分别为 98.1%, RSD 2.4% (n = 9);98.8%, RSD 4.3% (n = 9)。10 批玄参商品药材中含量哈巴苷为 0.277% ~ 0.620%,哈巴俄苷为 0.078% ~ 0.362%;10 批玄参商品饮片中含量哈巴苷为 0.276% ~ 1.059%,哈巴俄苷为 0.059% ~ 0.183%;即哈巴苷平均含量玄参饮片(0.567%)高于药材(0.448%),哈巴俄苷平均含量饮片(0.128%)低于药材(0.237%)。而同批次玄参药材在自制加工成饮片后哈巴苷含量值升高 13.7% ~ 96.0%,哈巴俄苷含量值降低 11.0% ~ 73.9%。结论:所建立的含量方法操作简便,结果准确,可用于玄参质量控制。玄参药材加工成饮片的过程可使哈巴苷含量值升高、哈巴俄苷含量值降低。建议玄参药材及饮片均以其中哈巴苷和哈巴俄苷总含量以干燥品计算应不低于 0.45% 为质量标准。

[关键词] 玄参;哈巴苷;哈巴俄苷;高效液相色谱法

玄参来源于玄参科植物浙玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl 的干燥根,为常用中药,具有凉血滋阴、泻火解毒的功效。玄参主要含环烯醚萜类、苯丙素苷类成分^[1],其中哈巴苷(harpagide)和哈巴俄苷(harpagoside)为 2 个主要环烯醚萜苷成分,本课题组以往研究发现皮下注射哈巴俄苷能使阴虚小鼠抑制的免疫功能恢复;哈巴苷、哈巴俄苷均能促进阴虚小鼠体外脾淋巴细胞增殖;认为哈巴俄苷为玄参特征性有效成分^[2]。2005 年版《中国药典》^[3]以哈巴俄苷的含量作为玄参药材的质量控制标准。本课题

组曾建立中药玄参中哈巴俄苷和肉桂酸的高效液相色谱含量测定方法,测定了 20 份商品饮片和 8 份不同产地完整药材中哈巴俄苷和肉桂酸的含量^[4]以及玄参不同加工品中哈巴俄苷和肉桂酸的含量,表明玄参鲜材切片烘干品中哈巴俄苷含量高于传统加工品^[5]。张发科等考察了不同炮制工艺对玄参中哈巴俄苷和肉桂酸含量的影响,认为清蒸法制备的玄参中哈巴俄苷的含量最高,浸润法制备的玄参中肉桂酸的含量最高(但未述及 2 种炮制方法是否使用的是同一批药材样品),随着浸泡时间的延长,哈巴俄苷含量逐渐降低,而肉桂酸的含量逐渐升高^[6]。李静等用 HPLC 法同时考察了玄参饮片、鲜材直接烘干品、茎、叶中桃叶珊瑚苷、哈巴苷、6-O-甲基梓醇和哈巴俄苷的含量,认为鲜材直接烘干品中 4 种成分的含量显著高于传统方法加工饮片^[7]。杨宪等^[8]采用 HPLC-UV-ELSD 法在同一色谱条件下,测定了不同产地玄参药材(样品为鲜材 60 °C 烘干制得,非商品药材或饮片)中桃叶珊瑚苷、哈巴苷、

[稿件编号] 20110112011

[基金项目] 国家药典委员会项目(YZ-016 ~ 017);国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI09B05-5)

[通信作者] * 尚明英, Tel: (010) 82802534, E-mail: myshang@bjmu.edu.cn; * 蔡少青, Tel: (010) 82801693, E-mail: sqcai@bjmu.edu.cn

[作者简介] 白云娥,副教授,主要从事中药质量标准与新药研究, Tel: (0351) 4690071, E-mail: baiyune@hotmail.com



哈巴俄昔、安格拉昔 C、肉桂酸 5 种成分的含量。龚友兰^[9]等用 HPLC-UV 双波长法测定 9 批玄参饮片中哈巴俄昔、哈巴昔、桃叶珊瑚昔、梓醇和肉桂酸的含量(该方法虽选用 210, 278 nm 2 个波长,但未设定波长切换,同一份样品需要测定 2 张图谱分别分析;且哈巴俄昔保留时间较长,为 55.6 min)。但迄今未见同时测定玄参商品药材和饮片中 2 种主要有效成分哈巴昔和哈巴俄昔含量以及加工炮制对 2 种成分含量影响的报道。

目前我国所用商品玄参药材均以鲜材(除去根茎、幼芽、须根及泥沙),晒或烘至半干,堆放 3~6 d,反复数次至干燥而制得;饮片以药材润透或微泡后蒸透,切薄片,干燥。本研究工作考虑到玄参在产地加工和切制饮片过程中,其所含的主要环烯醚萜苷类成分哈巴俄昔易于水解^[5-6],产生哈巴昔,且哈巴昔和哈巴俄昔均为玄参中的主要有效成分,因此,结合 2010 年版《中国药典》标准修订任务,建立了同时测定哈巴昔和哈巴俄昔的双波长 HPLC 含量测定方法,测定了 10 批玄参药材与 10 批饮片中哈巴昔和哈巴俄昔的含量;并考察了炮制对玄参中哈巴昔和哈巴俄昔含量的影响,比较了同一批次的玄参药材炮制(切制饮片)前后 2 种成分的含量变化。提出了以哈巴昔和哈巴俄昔总含量作为指标制订玄参药材及饮片质量标准的建议,为更好地控制中药玄参的质量提供参考依据。

1 材料

美国 Agilent 1100 系列色谱仪(G1379 在线真空脱气机, G1312A 二元梯度泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315B 检测器);色谱柱 Agilent Technologies ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Sartorius 1/10 万电子天平(德国 Denvor 公司); 1/1 万电子天平(美国 OHAUS 公司);哈巴昔对照品(上海尚谊化工科技有限公司,批号 090304,供含量测定用,纯度 ≥98%);哈巴俄昔对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111730-200604,供含量测定用,纯度 ≥98%);玄参样品全国各地收集 15 批商品药材、12 批商品饮片(经作者之一蔡少青鉴定为浙玄参 *S. ningpoensis* 的干燥根),同批号样品保存在北京大学药学院生药学标本室;乙腈(美国 Fisher 公司, HPLC grade)、磷酸(美国 Tedia 公司, HPLC grade);水(娃哈哈纯净水);其他试剂均为分析纯。

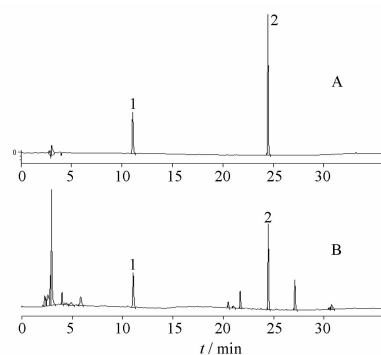
2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相以乙腈(A)-0.03% 磷酸溶液(B)按表 1 中的规定进行梯度洗脱;检测波长 13 min 前为 210 nm, 13 min 以后为 280 nm;流速 1.0 mL · min⁻¹;柱温 25 °C。对照品和样品分离的色谱图,见图 1。

表 1 玄参中哈巴昔、哈巴俄昔含量测定流动相梯度表

t/min	A/%
0	3
10	10
20	33
25	50



1. 哈巴昔; 2. 哈巴俄昔。

图 1 混合对照品溶液(A)和玄参药材溶液(B,样品 5999)HPLC 图

2.2 对照品溶液制备

取哈巴昔和哈巴俄昔对照品各适量,精密称定,分别加甲醇制成每 1 mL 含 0.183 mg 哈巴昔的溶液及每 1 mL 含 0.075 mg 哈巴俄昔,即得。

2.3 供试品溶液制备

分别取玄参药材及饮片粉末(过 40 目筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量,浸泡 1 h 后,超声处理(500 W, 40 kHz)45 min(水温保持 20~30 °C),放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线绘制

分别精密吸取哈巴昔对照品溶液(0.183 mg · mL⁻¹)0.3, 0.5, 1.0, 2, 4, 6, 8 μL 与哈巴俄昔对



照品溶液(0.075 g · L⁻¹) 0.3, 0.5, 1.0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL 注入液相色谱仪,按色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积积分值为纵坐标(Y)、哈巴昔及哈巴俄昔量为横坐标(X),绘制标准曲线,计算回归方程。哈巴昔 $Y = 4\ 794.2X + 5.362\ 2$ ($r = 0.999\ 9, n = 7$),线性范围 0.054 9 ~ 1.46 μg。哈巴俄昔: $Y = 24\ 842X + 2.192\ 1$ ($r = 0.999\ 8, n = 9$),线性范围 0.022 5 ~ 0.900 μg。药材和饮片样品测定的时间为2009年3月—2009年7月。

2.5 精密度试验

取供试品(玄参饮片 5999)溶液 1 份,精密吸取 10 μL,连续进样 6 次,分别测定哈巴昔及哈巴俄昔峰面积,计算峰面积的相对标准偏差,结果哈巴昔、哈巴俄昔的 RSD 分别为 1.5%, 1.4%。表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取玄参饮片(5999)粉末,依法平行制备 6 份供试品溶液,测定并计算哈巴昔和哈巴俄昔成分含量,结果哈巴昔及哈巴俄昔含量的 RSD 分别为 3.9%, 4.4%。

2.7 稳定性试验

取玄参饮片(5999)粉末,照供试品溶液制备方法制备供试品溶液 1 份,依法按色谱条件,分别在 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 测定哈巴昔、哈巴俄昔的峰面积,计算峰面积的相对标准偏差,结果哈巴昔、哈巴俄昔的 RSD 分别为 0.22%, 0.32%。结果表明,24 h 内检测,供试品溶液稳定。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的玄参饮片(5992)粉末约 0.2 g 共 9 份,精密称定,3 份为一组,每组分别精密加入哈巴昔对照品溶液及哈巴俄昔对照品溶液适量,见表 2,照 2.3 供试品溶液制备方法制备供试品溶液。在上述色谱条件下进样分析,分别计算样品含量及回收率,结果见表 2。结果表明,哈巴昔的加样回收率在 95.4% ~ 103.6%,平均加样回收率为 98.1%,RSD 2.4%;哈巴俄昔的加样回收率在 91.6% ~ 103.5%,平均加样回收率为 98.8%,RSD 4.3%。

2.9 样品测定

2.9.1 商品药材及商品饮片的测定 分别精密吸取上述药材与饮片的供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,依法按色谱条件测定,采用外标法以峰面积计算样品中哈巴昔及哈巴俄昔的含量。结果见表 3,4。

表 2 玄参药材加样回收率

成分	样品量 /mg	样品中量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
哈巴昔	177.9	0.633	0.307	0.932	97.4	98.1	2.4
	177.9	0.633	0.307	0.926	95.4		
	177.9	0.633	0.307	0.930	96.7		
	178.1	0.634	0.537	1.154	96.8		
	178.0	0.634	0.537	1.161	98.1		
	177.7	0.633	0.537	1.167	99.4		
	178.1	0.634	0.675	1.333	103.6		
	177.7	0.633	0.675	1.289	97.2		
	177.8	0.633	0.675	1.296	98.2		
	177.9	0.290	0.155	0.432	91.6		
177.9	0.290	0.155	0.449	102.6			
177.9	0.290	0.155	0.447	101.3			
178.1	0.290	0.207	0.489	96.1			
178.0	0.290	0.207	0.496	99.5			
177.7	0.290	0.207	0.485	94.2			
178.1	0.290	0.284	0.584	103.5			
177.7	0.290	0.284	0.583	103.2			
177.8	0.290	0.284	0.566	97.2			

表 3 商品玄参药材哈巴昔、哈巴俄昔含量(n=2) %

编号	药材购买地 (药材产地)	哈巴昔	哈巴俄昔	总量
6123	浙江大盘镇(浙江)	0.297	0.303	0.600
6151	河北安国(河北)	0.554	0.229	0.783
6125	浙江大盘镇(浙江)	0.620	0.337	0.957
6126	浙江大盘镇(浙江)	0.527	0.286	0.813
6127	浙江大盘镇(浙江)	0.416	0.362	0.778
6128	浙江大盘利洛村(浙江)	0.277	0.296	0.573
6129	浙江大盘镇(浙江)	0.616	0.204	0.820
6130	浙江大盘利洛村(浙江)	0.478	0.114	0.592
6152	河北安国(浙江)	0.297	0.158	0.455
6153	河北安国(湖北)	0.396	0.078	0.474

表 4 商品玄参饮片哈巴昔、哈巴俄昔含量(n=2) %

编号	饮片购买地 (药材产地)	哈巴昔	哈巴俄昔	总量
5992	安徽亳州(重庆南川)	0.356	0.163	0.519
5990	安徽亳州(浙江东阳)	1.059	0.155	1.214
5991	安徽亳州(浙江仙居)	0.493	0.183	0.676
5999	陕西宝鸡(浙江)	0.596	0.156	0.752
6049	山西太原(河北)	0.417	0.108	0.525
6082	江苏常州(江苏)	0.276	0.059	0.335
5926	河北丰宁(河北)	0.684	0.126	0.810
5947	河北唐山(浙江)	0.645	0.129	0.774
5955	北京市(不祥)	0.717	0.134	0.851
5983	深圳市(不祥)	0.429	0.063	0.492



2.9.2 玄参饮片与同批次对应药材的比较 通过对10批商品药材和10批饮片中哈巴昔和哈巴俄昔的测定,作者发现药材和饮片中2种成分的含量存在较大差别,即哈巴昔的含量玄参饮片(10批饮片的平均含量0.567%)高于药材(10批药材的平均含量0.448%),哈巴俄昔的含量饮片(10批饮片的平均含量0.128%)低于药材(10批药材的平均含量0.237%)。由于所测样品均为从各地购买的商品,无同批次药材和对应加工饮片样品的含量数据,难以说明炮制前后哈巴昔和哈巴俄昔含量的变化量。为制订合理的含量标准,作者对浙江中医药大学饮片厂提供的2批统一加工的药材和饮片样品,

以及作者加工的4批样品进行了测定。

饮片自行加工的方法:分别选择同1产地,同1批次外观质量相差不大的玄参药材,每个批次样品各取两个完整的根,平均分为上下2段,取1个根的上段和另一根的下段按炮制规范切片,剩余部分作对照药材。4批药材分别用蒸透(将玄参药材洗净表面泥土,放入蒸笼屉内蒸至透心,取出放凉,切成1~2 cm厚横片,60℃烘干)和润透法(玄参药材用水室温浸片刻,捞入搪瓷盘内,上盖湿纱布,根据药材大小,润透为度,取出切成1~2 cm厚横片,60℃烘干)软化切片制备饮片。供试品溶液制备同2.3,样品测定同2.9.1。结果见表5。

表5 同批次玄参饮片和药材中哈巴昔和哈巴俄昔含量(n=2)

编号	购买地 (药材产地)	加工方法	哈巴昔 /%	哈巴俄昔 /%	总量 /%	哈巴昔摩量 /10 ⁻⁶ mol · g ⁻¹	哈巴俄昔摩量 /10 ⁻⁶ mol · g ⁻¹	总摩尔 /10 ⁻⁶ mol · g ⁻¹
6161-1	安徽亳州	润透切片(自制)	0.706	0.061	0.767	19.4	1.23	20.6
	(河南)	对照药材	0.431	0.234	0.665	11.8	4.73	16.5
6162	安徽亳州	润透切片(自制)	0.600	0.010	0.610	16.5	0.202	16.65
	(安徽亳州)	对照药材	0.525	0.038	0.563	14.4	0.768	15.2
6512/6513	浙江	润透切片	0.373	0.146	0.519	10.2	2.95	13.19
	(重庆南川)	(浙江中医药大学饮片厂)						
6515/6514	浙江	对照药材	0.200	0.178	0.378	5.49	3.60	9.09
	(浙江仙居)	润透切片 (浙江中医药大学饮片厂)	0.541	0.237	0.778	14.8	4.79	19.6
6161-2	安徽亳州	对照药材	0.276	0.343	0.619	7.57	6.94	14.51
	(河南)	蒸透切片(自制)	0.698	0.181	0.879	19.2	3.66	22.9
6163	安徽亳州	对照药材	0.614	0.243	0.857	16.9	4.91	21.8
	(浙江)	蒸透切片(自制)	1.398	0.177	1.575	38.4	3.58	42.0
		对照药材	1.118	0.199	1.317	30.7	4.02	34.7

3 结论与讨论

本研究建立了同时测定中药玄参中哈巴昔及哈巴俄昔的 HPLC-UV 双波长含量测定方法,该方法与以往的方法比较有明显的优点和进步。选用2个波长连续检测,根据哈巴昔及哈巴俄昔紫外吸收光谱和保留时间,选择双波长检测法进行测定,即在13 min 前用210 nm,在13 min 以后用280 nm 作为检测波长,这样既可尽量减少玄参中所含的其他成分的干扰,又可解决用蒸发光检测器^[8]测定样品含量灵敏度较差的问题。与文献^[9](同一份样品需要210 nm 和278 nm 检测波长的2张色谱图分别分析)相比,本研究通过波长切换方法,在同一张色谱图上就能观察到所有被测成分的色谱峰,使测定结果的分析更为方便、直观,且有助于在日常质检工作

中提高检测效率。

3.1 确定缩短保留时间的流动相 在本课题组前期研究的基础上,通过考察乙腈-水及不同浓度的磷酸水等流动相,最终确定乙腈-0.03% 磷酸水溶液为流动相,进行梯度洗脱,可以使玄参中的哈巴昔和哈巴俄昔达到良好分离,并与文献^[9]比较明显缩短了哈巴俄昔的出峰时间(哈巴俄昔保留时间由55.6 min 缩短到24.5 min)。

3.2 提出针对对照品稳定性的注意事项 由于哈巴昔和哈巴俄昔在水中的稳定性较差,故配制对照品储备溶液时以不加水为宜或用临时配制。

3.3 确定样品提取的工艺 对玄参的提取工艺进行了考察,比较了提取溶剂(30%, 50%, 70%, 100%的甲醇)、提取方法(超声法、回流法)、提取时



间(30, 45, 60, 90 min)及溶媒量(30, 40, 50 mL),最终选择玄参供试品制备的工艺为:0.5 g粉末用50%甲醇50 mL浸泡1 h,超声处理(功率500 W,频率40 kHz)45 min。

3.4 发现炮制可使玄参中哈巴俄苷含量降低、哈巴苷含量增加、2成分总含量升高的现象 《中国药典》(2005年版)规定玄参的炮制方法为去残留根茎及杂质,洗净润透,切薄片,干燥,或微泡,蒸透,稍凉,切薄片,干燥^[3]。作者分别用润透切片和蒸透切片法制备玄参饮片,通过比较同批次玄参饮片和对照药材中哈巴苷和哈巴俄苷的含量,表明玄参经炮制后的饮片中哈巴苷的含量升高13.6%~96.4%,哈巴俄苷的含量降低11.0%~74.0%,2种成分的总含量稍有升高

(2.5%~37.6%)。推测这是因为药材在加水软化过程中哈巴俄苷部分水解生成哈巴苷,使饮片中哈巴俄苷的含量降低,哈巴苷的含量升高;通过比较哈巴苷和哈巴俄苷摩尔浓度的变化,发现饮片中哈巴苷的摩尔浓度增加值大于哈巴俄苷的减少值,说明玄参饮片中哈巴苷的增加不仅仅源于哈巴俄苷的水解,推测可能是玄参中其他一些环烯醚萜苷类成分如6'-氧-(E)-肉桂酰基哈巴苷、8-氧-(E)-阿魏酰基哈巴苷等也可部分水解生成哈巴苷,故饮片中哈巴苷和哈巴俄苷的总含量稍有升高,见表6。目前商品玄参饮片基本为浸润法软化进行切片,为控制商品饮片的质量,玄参药材在浸润软化时应严格控制软化时间和加水量,以药材恰好润透为准。

表6 玄参药材炮制后有效成分的含量变化—饮片中与药材中哈巴苷和哈巴俄苷含量的差值

编号 (软化方法)	哈巴苷		哈巴俄苷		总量	
	(饮片-药材) /药材/%	饮片-药材 /μmol·g ⁻¹	(饮片-药材) /药材/%	饮片-药材 /μmol·g ⁻¹	(饮片-药材) /药材/%	饮片-药材 /μmol·g ⁻¹
6161-1(润透)	63.8	7.6	-73.9	-3.50	15.3	4.1
6162(润透)	14.3	2.1	-73.7	-0.565	8.3	1.4
6512(润透)	86.5	4.7	-18.0	-0.65	37.3	4.1
6515(润透)	96.0	7.2	-30.9	-2.15	25.7	5.1
6161-2(蒸透)	13.7	2.3	-25.5	-1.25	2.57	1.1
6163(蒸透)	25.0	7.7	-11.0	-0.44	19.6	7.3

表3~5表明玄参的全部饮片及大部分药材(个子)中的哈巴苷含量均高于哈巴俄苷,而上述炮制实验揭示,之所以在一些药材中哈巴苷含量低于哈巴俄苷而在饮片中哈巴苷含量均高于哈巴俄苷,其原因之一是炮制过程中哈巴俄苷水解为哈巴苷使两者含量发生变化。

测定结果表明玄参商品药材和饮片中2种有效成分含量变化均较大,须加强质控;作者发现2成分总含量较稳定,认为控制2成分的总量更合理可靠,因而制订了玄参药材和饮片中2成分总含量的质量标准。

计算本实验所测样品中哈巴苷和哈巴俄苷含量数据的相对标准偏差。结果表明在不同的玄参药材和饮片中哈巴苷和哈巴俄苷的含量差别较大(分析原因可能是由于样品的产地、采收期、存放时间及加工方法等不同引起);而2种成分的总含量相对稳

定。本研究中哈巴俄苷的含量范围与文献报道的商品药材或饮片含量基本一致^[4-7],而鲜材烘干制得的样品中部分样品哈巴苷和哈巴俄苷的含量均较商品药材和饮片高^[5-6,8]。通过对10批商品药材和10批商品饮片以及药材和饮片对应加工样品的测定结果进行分析,结合以往的研究数据,建议玄参药材和饮片中含哈巴苷和哈巴俄苷总量按干燥品计算应不低于0.45%。本研究所建立的玄参药材和饮片中哈巴苷和哈巴俄苷含量测定方法和总含量标准已被2010年版《中国药典》采纳。

[参考文献]

[1] 胡瑛瑛,黄真. 玄参的化学成分及药理作用研究进展[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(2): 268.

[2] 谢丽华,刘洪宇,钱瑞琴,等. 哈巴苷与哈巴俄苷对阴虚小鼠免疫功能及血浆环化核苷酸的影响[J]. 北京大学学报:医学版, 2001, 33(3): 283.

[3] 中国药典. 一部[S]. 2005:76.



- [4] 蔡少青,谢丽华,王建华,等. 中药玄参中哈巴俄苷和肉桂酸的高效液相色谱法测定[J]. 药物分析杂志,2000,20(3):191.
- [5] 王建华,谢丽华,刘洪宇,等. 玄参不同加工品中哈巴俄苷和肉桂酸的 HPLC 含量测定[J]. 中国药学杂志,2000,35(6):375.
- [6] 张发科,吕青涛,张兆旺,等. HPLC 法研究不同炮制工艺对玄参中哈巴俄苷和肉桂酸含量的影响[J]. 化学分析计量,2006,15(6):51.
- [7] 李静,赖道万,孙文基. 高效液相色谱法测定中药玄参中4种环烯醚萜苷类成分的含量[J]. 药物分析杂志,2005,25(12):1531.
- [8] 杨宪,杨水平,张雪,等. HPLC-UV-ELSD 同时测定玄参中5种成分的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(1):68.
- [9] 龚友兰,向大雄,邓长风,等. HPLC-UV 双波长法同时测定玄参中5种主要成分的含量[J]. 中南药学,2008,6(6):660.

Determination of harpagide and harpagoside in *Scrophulariae Radix* by HPLC-UV

BAI Yun'e^{1,2}, YUAN Pengfei¹, WANG Qinghui¹, WANG Suli^{1,3}, GE Yuewei¹, NIU Zhengri¹, SHANG Mingying^{1*},
LIU Guangxue¹, LI Chen¹, CAI Shaoqing^{1*}

- (1. Department of Natural Medicine, School of Pharmaceutical Science, Peking University, Beijing 100191, China;
2. Department of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;
3. Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Laiyang 265200, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a method for the determination of harpagide and harpagoside in *Scrophulariae Radix* (Xuanshen) by HPLC-UV under double wavelength, and to study the changes of these two constituents during processing, and to set the limitation of harpagide and harpagoside contents in crude drug and sliced pieces of Xuanshen. **Method:** The analyses were performed on an Agilent Technologies ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) eluted with acetonitrile-water (containing 0.03% phosphoric acid) in gradient model. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was 25 °C. The UV detector wavelength was set at 210 nm before 13 min and then changed to 280 nm. **Result:** Harpagide and harpagoside were separated well. The linear calibration curves were obtained over of 0.054 9-1.46 μg for harpagide ($r = 0.999\ 9, n = 7$), 0.022 5-0.900 μg for harpagoside ($r = 0.999\ 8, n = 9$); The recoveries (± RSD)% were 98.1 (± 2.4)% for harpagide and 98.8 (± 4.3)% for harpagoside. The contents of harpagide were 0.277% -0.620%, harpagoside were 0.078% -0.362% in Xuanshen, and harpagide were 0.276% -1.059%, harpagoside were 0.059% -0.183% in Sliced Xuanshen, respectively. After the processing of *Scrophulariae Radix*, the content of harpagide increases 13.7% -96.0%, while harpagoside decreases 11.0% -73.9%. **Conclusion:** This method is simple, accurate, and can be used for the quality control of *Scrophulariae Radix*. We propose that the total content of harpagide and harpagoside in either crude drug or sliced pieces of *Scrophulariae Radix* should not be less than 0.45%.

[Key words] *Scrophulariae Radix*; harpagide; harpagoside; HPLC

doi:10.4268/cjcm20111920

[责任编辑 丁广治]