

HPLC 测定不同采收期苕草中苕草素、异苕草素的含量

窦妍, 翟延君*, 佟苗苗, 张慧
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法同时测定不同采收期苕草中苕草素、异苕草素含量的方法。方法:色谱柱为 Agilent C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸水梯度洗脱,检测波长 350 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。结果:苕草素在 0.068 2~0.682 μg(*r* = 0.999 7)线性关系良好,平均回收率为 99.94%,RSD 1.08%;异苕草素在 0.386~3.860 μg(*r* = 0.999 3)线性关系良好,平均回收率为 99.67%,RSD 1.09%。结论:方法简便、快捷、准确的特点,可用于苕草药材的质量控制。

[关键词] 苕草; 苕草素; 异苕草素; 含量测定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)02-0062-03

Determination of Orientin and Isoorientin in Different Harvest Times of *Polygonum orientale* by HPLC

DOU Yan, ZHAI Yan-jun*, TONG Miao-miao, ZHANG Hui
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of orientin and isoorientin in different harvest times of *Polygonum orientale*. **Method:** Orientin and isoorientin were separated on Agilent C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm) column and detected at 350 nm. The mobile phase was acetonitrile-0.3% phosphoric with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** Orientin and isoorientin were linear within the range of 0.068 2-0.682 μg(*r* = 0.999 7), 0.386-3.860 μg(*r* = 0.999 3) respectively. The average recovery was 99.94% (1.08%), 99.67% (1.09%). **Conclusion:** The method is simple, rapid, and it can be

[收稿日期] 20110731(003)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873437)
[第一作者] 窦妍,在读硕士生,从事中药鉴定与质量评价研究, Tel:15909869060, E-mail:lei520_yan@sohu.com
[通讯作者] * 翟延君,教授,从事中药鉴定与质量评价研究, Tel:13019499386, E-mail:lnzyzyj@sohu.com

[6] 王实强,首弟武. 高效毛细管电泳法测定罂粟壳中生物碱的含量[J]. 1997,15(5):438.

[7] 陈亚飞,田颂九,孙曾培. 复方石韦片中生物碱的分离测定[J]. 药物分析杂志,2002,22(2):94.

[8] 张国华 王延琮,张永友,等, 高效毛细管电泳测定黄连及成药中小檗碱型生物碱的含量[J]. 色谱,1995,13(4):247.

[9] 陈军辉,赵厘强,李文龙,等, 高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱联用分析黄连中的生物碱[J]. 化学学报,2007,65(23):2743.

[10] 徐芳,陈波,姚守拙. 胶束电动毛细管电泳法分离 6 种生物碱基[J]. 药物分析杂志,2008,28(5):678.

[11] 吴江明,栾连军,程翼宇. 胶束毛细管电泳法同时测定黄连——吴茱萸药对中 5 种生物碱的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(3):325.

[12] 林梅,张正行,安登魁,等, 茛菪类生物碱毛细管电泳分析[J]. 分析化学,1998,26(4):457.

[13] 柳仁民,何风云,孙爱玲,毛细管电泳-电喷雾-质谱-质谱分离鉴定粉防己生物碱[J]. 药学学报,2004,39(5):363.

[14] 任小娜,马永钧,周敏,等, 毛细管电泳-电致化学发光检测法分离测定中药马尿泡中的托烷类生物碱成分[J]. 色谱,2008,26(2):223.

[责任编辑 蔡仲德]

used for the quality control of *P. orientale*.

[**Key words**] *Polygonum orientale* L.; orientin; isoorientin; determination; HPLC

苕草为蓼科植物红蓼干燥的全草^[1]。本品性寒、味咸;具有祛风利湿,活血止痛的功效^[1-2]。用于风湿性关节炎,冠心病,心胃气痛等症。药理研究文献报道苕草具有抗血栓、舒张平滑肌、抗菌、抗癌及明显的抗急性心肌缺血^[3]。苕草素、异苕草素为苕草的主要活性成分,均具有清热解毒,抗凝血,抗菌等作用^[4-6]。异苕草素还具有抗氧化和抗甲状腺的药理作用研究报道^[7]。本研究以苕草素、异苕草素为含量测定指标,通过测定10个不同采收期苕草中苕草素、异苕草素的含量,确定苕草的最佳采收期,并建立苕草内在质量评价方法。

1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪,紫外检测器 G2170BA(安捷伦科技),KH-300B 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司),ALC-110.4 1/万分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),DZKW-D-2 型水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂)。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。苕草素(批号 009011,98.0%,成都普瑞法生化试剂厂);异苕草素(批号 009012,98%,成都普瑞法生化试剂厂)。苕草药材自采于大连后盐地区,采集时间见表3,经本校中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为红蓼 *Polygonum orientale* L. 的全草。

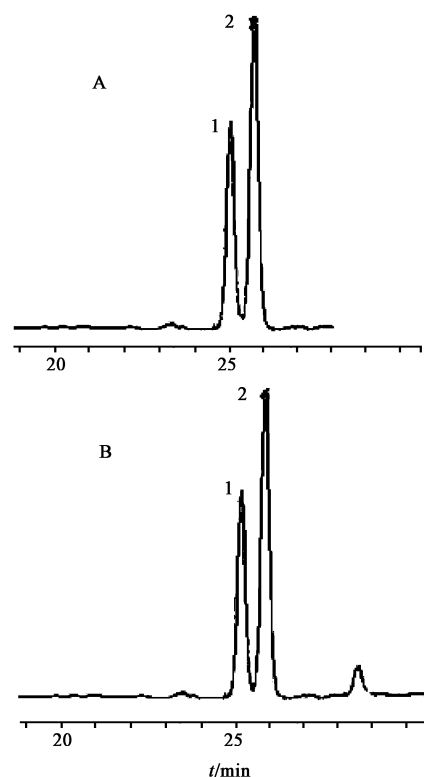
2 方法与结果

2.1 色谱条件 Angilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm),柱温 29 ℃,检测波长 290 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。流动相为乙腈-0.1%磷酸水梯度洗脱(0~7 min,95%乙腈;7~10 min,94%乙腈;10~15 min,93%~87%乙腈;15~20 min,86%乙腈;20~30 min,86%~83%乙腈)。在此色谱条件下,苕草素和异苕草素分离良好,见图1。

2.2 对照品溶液制备 精密称取苕草素、异苕草素对照品适量,用乙腈分别制成 68.2 mg·L⁻¹ 的苕草素对照品溶液及 386.0 mg·L⁻¹ 的异苕草素对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 取样品粉末(过40目)1.0 g 精密称定,置圆底烧瓶中,加70%乙醇30 mL,加热回流提取30 min,提取2次,用乙腈补足失重,过滤。取续滤液过0.45 μm 微孔滤膜;即得。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液1,2,4,6,8,10 μL 进样,按上述色谱条件测定峰面积。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 苕草素; 2. 异苕草素

图1 苕草对照品及样品 HPLC

分别重复进样3次;以对应的对照品浓度为横坐标,其峰面积平均值为纵坐标,绘制标准曲线。苕草素的回归方程为 $Y = 282\,557X - 211.05$ ($r = 0.999\,7$),线性范围为0.068 2~0.682 μg。异苕草素的回归方程为 $Y = 68\,482X + 10.431$ ($r = 0.999\,3$),线性范围0.386~3.860 μg。

2.5 精密度试验 分别精密吸取上述苕草素和异苕草素对照品溶液各10 μL,连续进样5次,苕草素和异苕草素峰面积的RSD分别为1.76%,1.64%。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液分别于0,1,3,6,9,12 h 进样,测定得苕草素和异苕草素含量的RSD分别为0.95%,1.14%。表明供试液在12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取同苕草样品共5份,照2.3项下供试品溶液的制备方法制备,测定得苕草素和异苕草素含量的RSD分别为0.93%,1.52%。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的苕草药材粉末,共6份,分别精密加入苕草素、异苕草素对照品1.026,2.139 mg,照2.3项下供试品溶液的制备方法制备,精密吸取供试品溶液10 μL,进行测

定,结果荳蔻素和异荳蔻素的平均回收率分别为 99. 936% (RSD 1. 08%) , 99. 672% (RSD1. 09%) 。

表 1 荳蔻素加样回收率测定

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%
1	1. 095 8	0. 296	0. 308	0. 602	99. 5	1. 08
2	1. 020 3	0. 981	1. 036	2. 034	101. 63	
3	1. 006 0	1. 144	1. 257	2. 385	98. 69	
4	1. 029 5	1. 276	1. 339	2. 612	99. 74	
5	1. 015 4	0. 162	0. 265	0. 427	100. 12	

表 2 异荳蔻素加样回收率测定

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%
1	1. 095 8	1. 434	1. 561	3. 004	100. 59	1. 09
2	1. 020 3	6. 916	7. 329	14. 22	99. 70	
3	1. 006 0	8. 807	9. 654	18. 54	100. 81	
4	1. 029 5	9. 260	10. 313	19. 38	98. 17	
5	1. 015 4	0. 659	0. 721	1. 373	99. 09	

2. 9 样品测定 分别精密称取不同采收期的 10 个荳蔻药材样品粉末 1. 0 g,按 2. 3 项下方法制备供试品溶液,进样 10 μL 测定峰面积,根据标准曲线计算其含量,见表 3。

表 3 不同采收期荳蔻药材中荳蔻素、异荳蔻素的含量(n = 3) %

No.	采集时间	荳蔻素	RSD	异荳蔻素	RSD
1 [#]	2010-07-03	0. 029 6	1. 31	0. 143 4	1. 27
2 [#]	2010-07-15	0. 039 1	1. 25	0. 147 9	2. 16
3 [#]	2010-08-03	0. 098 1	1. 57	0. 691 6	1. 95
4 [#]	2010-08-15	0. 104 5	2. 19	0. 716 3	1. 43
5 [#]	2010-09-03	0. 114 4	2. 51	0. 808 7	2. 69
6 [#]	2010-09-15	0. 120 9	1. 19	0. 896 2	2. 57
7 [#]	2010-10-03	0. 127 6	0. 95	0. 926 0	0. 89
8 [#]	2010-10-15	0. 113 9	1. 03	0. 902 5	1. 32
9 [#]	2010-11-03	0. 016 2	2. 11	0. 065 9	1. 97
10 [#]	2010-11-15	0. 014 8	1. 96	0. 053 6	2. 34

3 小结与讨论

荳蔻为荳蔻的干燥地上部分,其果实水红花子为《中国药典》收载品种。但迄今对其全草的研究资料甚少,有冻干粉制剂用于临床,主要治疗冠心病、心绞痛和心血瘀阻症。本实验通过对其活性成分的测定,旨在建立该品种的含量测定方法,为荳蔻的质量控制提供科学依据。

本实验首先采用 L₉ (3⁴) 正交试验优化了提取条件,在单因素考察的基础上,对提取溶剂、料液比、提前方法和次数各设 3 个水平,以 2 个成分的总含量为指标进行了考察。根据正交实验结果,考虑到提取的方便和经济,确定提取条件为 30 倍体积乙醇回流提取 2 次,每次 30 min。通过对检测波长的考察,荳蔻素和异荳蔻素在 350 nm 处均有最大吸收,故选择 350 nm 为检测波长。

根据荳蔻药材的含量测定结果可知,采集到的 10 批次药材中,异荳蔻素和荳蔻素的含量从 8 月份开始增高,至 10 月上旬达到最高值,分别为 0. 127 6% ,0. 926 0% ; 11 月份开始下降,分别为 0. 014 8% ,0. 053 6% 。因此 10 月上旬应为荳蔻的最佳采收期。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海人民出版社,1997:1617.

[2] 郝近大,谢宗万. 《本草纲目》中蓼科植物基原考[J]. 中国中药杂志,1999,24(7):439.

[3] 卢华,朱芬兰. 荳蔻的研究进展[J]. 铜陵职业技术学院学报,2008,7(1):48.

[4] 肖培根. 新编中药志. 第 2 卷[M]. 北京:化学工业出版社,2002:175.

[5] 翟延君,张淑荣,郝宁. 等. 承红花子研究概况[J]. 辽宁中医学院学报,2005,7(3):226.

[6] 谢周博. 何再安,刺焱文. 红蓼的化学成分及药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2005,16:1034.

[7] 吴新安,赵毅民. 天然黄酮碳苷及其活性研究进展[J]. 解放军药学报,2005,21(1):135.

[责任编辑 蔡仲德]