

反相液相色谱法测定毛头牛蒡不同部位中 牛蒡苷和牛蒡苷元的含量

葛亮^{1,2}, 张浩科², 田树革^{1,2*}

(1. 新疆名医名方与特色方剂学重点实验室, 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:对毛头牛蒡不同部位中牛蒡苷和牛蒡苷元进行含量测定。方法:采用反相液相色谱法, Kromasil C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(55:45), 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果:毛头牛蒡根中含有少量牛蒡苷, 不含牛蒡苷元;茎、叶柄中几乎不含牛蒡苷及牛蒡苷元;叶、花序中不含牛蒡苷而含有少量的牛蒡苷元;而其种子中二者含量相对较高。结论:该方法简便、准确, 可同时测定毛头牛蒡中牛蒡苷和牛蒡苷元的含量, 为更好的开发利用毛头牛蒡提供科学依据。

[关键词] 反相液相色谱法; 毛头牛蒡; 牛蒡子苷; 牛蒡子苷元

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0041-03

Content Determination of Arctiin and Arctigen from Different Parts of *Arctium tomentosum* by RP-HPLC

GE Liang^{1,2}, ZHANG Hao-ke¹, TIAN Shu-ge^{1,2*}

(1. Xin jiang Key Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi 830011, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of different parts of *Arctium tomentosum*. **Method:** Chromatographic separation was achieved by using RP-HPLC system consisting of a Shimadzu LC-6AD and Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was consisted of methanol and water (55:45). Detection wavelength was at 280 nm. The flow rate was set at 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** A small amount of arctiin and no arctigenin was found in the root; while stem and leaf nearly did not contain. Leaves and inflorescence did not contain arctiin and a few arctigenin. But both ingredients were higher in the fruit than in the leaves and inflorescence. **Conclusion:** The method was simple and accurate, and it could be used for simultaneous determination of arctiin and arctigenin from Radix *Arctium*, to provide the basis for a better development of *A. tomentosum* Mill.

[Key words] RP-HPLC; *Arctium tomentosum* Mill.; arctiin; arctigenin

[收稿日期] 20100609(015)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重点实验室科研开放课题基金
(XJDX0910-2009-05)

[第一作者] 葛亮, 实验师, 硕士, 研究方向为中药制剂分析研究, Tel: 15099119663, E-mail: geliang917@163.com

[通讯作者] * 田树革, 教授, 硕士, 硕士生导师, 从事中药活性成分研究, E-mail: tianshug@ hotmail.com, Tel: 15999441880

毛头牛蒡 *Arctium tomentosum* Mill. 为菊科牛蒡属植物, 维吾尔名称为“可热可孜乌拉盖”, 其根和叶在维吾尔族民间用于治疗风湿痛及皮肤痒痛^[3]。而其种子认为是牛蒡子的伪品, 其化学成分和牛蒡子的基本相同, 主要有木脂素、挥发油、酚羟基类及硫炔类化合物等^[4]。目前研究的热点为木脂素类化合物, 其主要是牛蒡苷、牛蒡苷元。现代药理研究结

果表明,牛蒡子中的活性成分为牛蒡苷元,牛蒡苷经口服后在肠道菌的作用下转变为牛蒡苷元^[5]。在查阅的相关文献中,毛头牛蒡的研究报道很少,而对毛头牛蒡不同部位中牛蒡苷及牛蒡苷元含量测定的报道极少。本试验对毛头牛蒡的不同部位包括根、茎、叶、种子、花序等部分进行牛蒡苷和牛蒡苷元的含量测定,为更好的开发利用毛头牛蒡提供依据。

1 材料

1.1 仪器 岛津半制备高效液相色谱仪(LC-6AD 高压泵,SPD-20A 型紫外检测器,CBM-20A 色谱工作站)(日本岛津公司);XS105 型 1/10 万电子天平、AL204 型 1/万电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);Millipore 超纯水仪制备;KQ-200KDE 型高功率数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药 牛蒡子苷对照品,批号 090516;牛蒡苷元对照品,批号 090712,均购自上海融禾医药科技有限公司;毛头牛蒡(*A. tomentosum* Mill.)采集于新疆乌鲁木齐县水西沟乡(经新疆医科大学附属中医医院主任药师李永和鉴定)。

1.3 试剂 所用试剂均为色谱纯;水为超纯水。

2 方法与结果

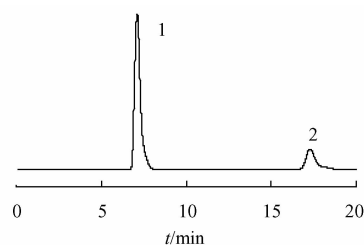
2.1 供试品溶液的制备 称取毛头牛蒡不同部位的药材粉末(过 20 目筛)约 0.5 g,精密称定,加入 45 mL 甲醇超声 30 min,提取液转移至量瓶中,用甲醇定容至 50 mL,0.45 μm 微孔滤膜过滤即可。

2.2 对照品溶液制备 分别精密称取减压干燥至恒重的牛蒡苷 6.3 mg,加甲醇定容于 10 mL 量瓶中,质量浓度为 0.63 g·L⁻¹;牛蒡苷元 4.9 mg 加甲醇定容于 10 mL 量瓶中,质量浓度为 0.49 g·L⁻¹。

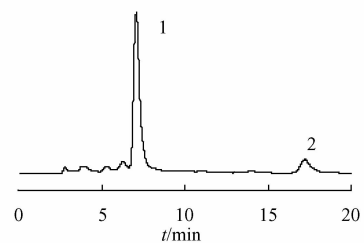
2.3 色谱条件^[5-6] Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(55:45),检测波长 280 nm,分析时间 20 min。流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。

2.4 测定方法 精密量取牛蒡苷、牛蒡苷元混合对照品溶液 10 μL,以及供试品溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪中,测定,即得。按牛蒡苷及牛蒡苷元峰计算,理论塔板数不低于 2 000,见图 1。

2.5 标准曲线的绘制 按上述色谱条件,精密吸取牛蒡苷对照品 2.5,5,10,15,20 μL 进样,测定牛蒡苷峰面积积分值,以样品进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制牛蒡苷标准曲线, $Y = 3.13 \times 10^5 X - 1.62 \times 10^4$, $r = 0.9997$;精密吸取牛蒡苷元对



A. 牛蒡苷、牛蒡苷元对照品



B. 牛蒡子样品

图 1 牛蒡对照品、样品色谱

照品 2.5,5,7.5,10,15,20 μL 进样,测定牛蒡苷元峰面积积分值,以样品进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得牛蒡苷元标准曲线 $Y = 9.52 \times 10^3 - 1.31 \times 10^3$, $r = 0.9997$ 。

2.6 精密度试验 精密吸取 2.1 项下供试品溶液 10 μL,复进样 6 次,算得牛蒡苷、牛蒡苷元峰面积积分值的平均值分别为 3 736 399,1 217,RSD 分别为 2.9%,3.6%。

2.7 重现性试验 精密称取毛头牛蒡子药材 0.5 g,按样品测定方法,进行 5 次平行试验,结果牛蒡苷平均含量为 10.28%,RSD 为 2.68%;牛蒡苷元平均含量为 0.13%;RSD 为 0.89%。

2.8 稳定性试验 精密吸取 2.1 项下供试品溶液 10 μL,按上述色谱条件在 0,2,4,8,12,24 h 测定,记录峰面积积分值。牛蒡苷、牛蒡苷元的峰面积积分值的 RSD 分别为 2.2%,0.51%。试验表明,供试品溶液在制备后 24 h 内性质稳定。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(牛蒡苷含量为 10.69% 和牛蒡苷元含量为 0.15%)各 5 份,分别精密加入牛蒡子苷及牛蒡苷元对照品,按样品测定方法进行测定,计算回收率,结果牛蒡苷及牛蒡苷元的平均回收率分别为 98.67%,97.19%,RSD 分别为 1.89%,2.27%。结果见表 1,2。

2.10 样品测定 精密吸取制备好的供试品溶液,进样 10 μL,按上述色谱条件测定,计算药材中牛蒡子苷和牛蒡子苷元得含量,结果见表 3。

表 1 牛蒡苷的回收率测定

称样量/g	药材中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.152	16.25	16.00	31.21	96.78		
0.154	16.46	16.00	32.25	99.35		
0.156	16.68	16.00	31.65	96.86	98.67	1.89
0.157	16.78	16.00	32.52	99.20		
0.153	16.36	16.00	32.74	101.19		

表 2 牛蒡苷元的回收率测定

称样量/g	药材中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.152	0.23	0.25	0.48	100.42		
0.154	0.23	0.25	0.46	95.63		
0.156	0.23	0.25	0.47	97.11	97.19	2.27
0.157	0.24	0.25	0.46	94.75		
0.153	0.23	0.25	0.47	98.02		

表 3 毛头牛蒡不同部位牛蒡子苷和牛蒡子苷元的含量测定 %

不同部位	牛蒡子苷	牛蒡子苷元	苷和苷元
根	0.680	0	0.680
茎	0	0	0
叶	0	0.016	0.016
叶柄	0	0	0
花序	0.058	0.019	0.078
种子	10.273	0.178	10.451

3 讨论

毛头牛蒡的各个部位相比较而言,根中含有少量牛蒡苷、不含牛蒡苷元;茎、叶柄几乎不含牛蒡苷和牛蒡苷元;叶、花序中不含牛蒡苷而含有少量的牛蒡苷元;而其种子中二者含量相对较高。毛头牛蒡不同部位含有对人体有益的化学成分,已被开发成多种营养保健食品,对毛头牛蒡的精深加工和功能因子的开发将有良好的前景和广阔的市场。

[参考文献]

- [1] 许亮, 窦德强, 康廷国. 牛蒡子本草考证及道地变迁[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(1): 24.
- [2] 徐传芬, 孙隆儒. 牛蒡的研究现状[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(16): 818.
- [3] 刘勇民. 维吾尔药志[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2000: 132.
- [4] 张文军. 毛头牛蒡生药学研究中药显微鉴别研究[D]. 沈阳: 辽宁中医学院, 2001: 3.
- [5] 徐非一, 王敬, 樊思睿, 等. 微生物发酵转化牛蒡子的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 4(19): 595.
- [6] 王兆华, 张大军, 赵玉兰, 等. 高效液相色谱法测定莠勃乳蛾消颗粒中牛蒡苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(1): 10.
- [7] 安亮, 杨柳. HPLC 法对牛蒡子生品与炮制品中牛蒡苷、牛蒡苷元含量的测定[J]. 包头医学院学报 2009, 25(3): 17.

[责任编辑 顾雪竹]