

# HPLC 测定不同采收期葶草中葶草素、异葶草素的含量

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葶草中葶草素、异葶草素含量的方法。方法: 色谱柱为 Agilent C<sub>18</sub> (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<sup>-1</sup>。结果: 葶草素在 0.068 2~0.682 μg ( $r = 0.9997$ ) 线性关系良好, 平均回收率为 99.94%, RSD 1.08%; 异葶草素在 0.386~3.860 μg ( $r = 0.9993$ ) 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, 可用于葶草药材的质量控制。

**[关键词]** 葶草; 葶草素; 异葶草素; 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 isorientin in different harvest times of *Polygonum orientale*. **Method:** Orientin and isorientin were separated on Agilent C<sub>18</sub> (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<sup>-1</sup>. **Result:** Orientin and isorientin were linear within the range of 0.068 2-0.682 μg ( $r = 0.9997$ ), 0.386-3.860 μg ( $r = 0.9993$ ) 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. 萜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<sup>[1]</sup>。本品性寒、味咸;具有祛风利湿,活血止痛的功效<sup>[1-2]</sup>。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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4-6]</sup>。异苕草素还具有抗氧化和抗甲状腺的药理作用研究报道<sup>[7]</sup>。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 仪器与试剂

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 O09011,98.0%,成都普瑞法生化试剂厂);异苕草素(批号 O09012,98%,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。

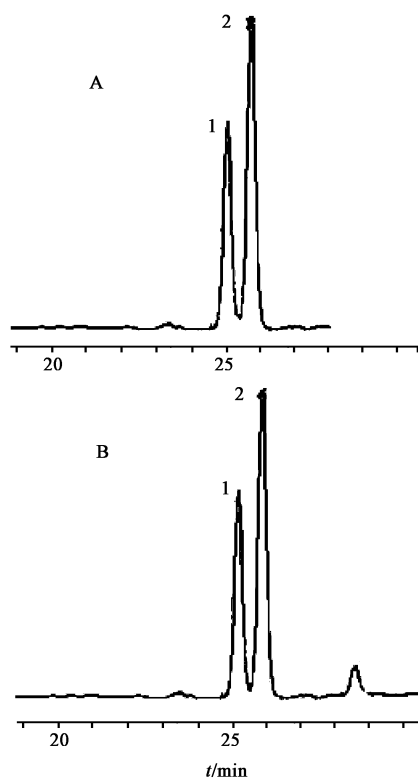
### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm),柱温 29 °C,检测波长 290 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,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<sup>-1</sup> 的苕草素对照品溶液及 386.0 mg·L<sup>-1</sup> 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	
2	1.020 3	0.981	1.036	2.034	101.63	
3	1.006 0	1.144	1.257	2.385	98.69	1.08
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	
2	1.020 3	6.916	7.329	14.22	99.70	
3	1.006 0	8.807	9.654	18.54	100.81	1.09
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 <sup>#</sup>	2010-07-03	0.029 6	1.31	0.143 4	1.27
2 <sup>#</sup>	2010-07-15	0.039 1	1.25	0.147 9	2.16
3 <sup>#</sup>	2010-08-03	0.098 1	1.57	0.691 6	1.95
4 <sup>#</sup>	2010-08-15	0.104 5	2.19	0.716 3	1.43
5 <sup>#</sup>	2010-09-03	0.114 4	2.51	0.808 7	2.69
6 <sup>#</sup>	2010-09-15	0.120 9	1.19	0.896 2	2.57
7 <sup>#</sup>	2010-10-03	0.127 6	0.95	0.926 0	0.89
8 <sup>#</sup>	2010-10-15	0.113 9	1.03	0.902 5	1.32
9 <sup>#</sup>	2010-11-03	0.016 2	2.11	0.065 9	1.97
10 <sup>#</sup>	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 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 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]