

RP-HPLC 法测定大蓟中柳穿鱼叶苷的含量

符 玲¹, 龚千锋^{1*}, 吕武清², 杨武亮¹, 赖学文¹, 曹 君^{1*}

(1. 江西中医学院, 江西 南昌 330006; 2. 江西省中药研究所, 江西 南昌 330077)

大蓟为菊科植物蓟 *Cirsium japonicum* DC. 干燥地上部分或根, 具有凉血止血、祛瘀消痛的功能^[1]。大蓟中含有多种化学成分: 柳穿鱼叶苷、蒙花苷、绿原酸、菊糖、 β -谷甾醇等^[2], 其中的黄酮类化合物柳穿鱼叶苷为其中的主要止血活性成分^[3], 大蓟各地用药品种非常复杂, 市面上的混用品多为飞廉、小蓟等。曾有报道^[4]用聚酰胺薄层扫描的方法测定大蓟中柳穿鱼叶苷的含量, 以此控制该药材的质量, 本实验首次用 RP-HPLC 法测定大蓟中柳穿鱼叶苷的含量。

1 仪器、试剂和样品

Waters 510 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, Waters 510 色谱工作站; Agilent 1100 液相色谱仪, 紫外—可见检测器, Agilent 1100 色谱工作站; METTER AE240 电子天平; 乙腈(色谱纯), 双蒸水(自制), 其余试剂为分析纯; 柳穿鱼叶苷对照品(自制, 纯度达 99% 以上); 大蓟药材分别购自江西、江苏、浙江, 经本院药用植物教研室赖学文副教授鉴定为大蓟 *Cirsium japonicum* DC.

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil C₁₈ 色谱柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.1% 磷酸(21:79); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 330 nm。理论塔板数按柳穿鱼叶苷峰计算不低于 5000, 分离度大于 1.5, 其对照品与样品的 HPLC 图见图 1。

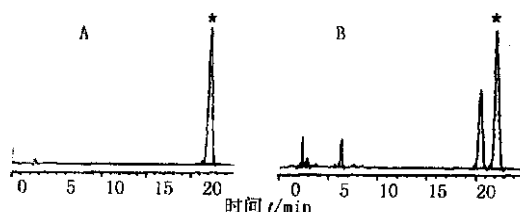


图 1 柳穿鱼叶苷(A)和大蓟样品(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of pectolarin (A) and *C. japonicum* sample (B)

2.2 供试品溶液的制备: 取大蓟药材粉末(40 目)0.5

g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 70% 乙醇溶液 100 mL, 称定质量, 回流提取 1 h 后, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 滤过, 即得供试品溶液。

2.3 标准曲线制备: 精密称取柳穿鱼叶苷对照品 7.19 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加入 70% 乙醇溶解并稀释至刻度, 再精密吸取此溶液 1、3、5、7、9 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 分别吸取各对照品 10 μ L, 注入液相色谱仪, 以峰面积 Y 为纵坐标, 对照品溶液质量浓度 X 为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 2497.304X + 1.589$ ($r = 0.9995$), 线性范围为 7.19~71.9 μ g/mL。

2.4 精密度试验: 取对照品溶液(0.0719 mg/mL), 重复进样 5 次, 测得其峰面积的 RSD 为 0.71%; 按照 2.2 项下方法制备大蓟供试品溶液, 重复进样 5 次, 测得其峰面积值的 RSD 为 0.72%。

2.5 稳定性试验: 按照 2.2 项下方法制备大蓟供试液, 每隔 1 h 测定一次柳穿鱼叶苷峰面积, 连续考察 4 h, 结果供试品溶液在 4 h 内稳定, 其 RSD 为 0.54%。

2.6 重现性实验: 精密称取同一批大蓟样品各 0.5 g, 6 份, 按照 2.2 项下方法制备大蓟供试液, 精密吸取各供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测得 RSD 为 2.19%。

2.7 加样回收率试验: 分别精密称取大蓟样品 0.15 g, 5 份, 加入一定量的对照品, 按 2.2 项下方法制备并测定含量, 计算回收率。柳穿鱼叶苷的平均回收率为 100.42%, RSD 为 2.86% ($n = 5$)。

2.8 样品制备及测定: 取大蓟样品 0.5 g, 6 份, 精密称定, 按 2.2 项下方法操作, 即得各供试品溶液, 精密吸取各供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定结果见表 1。

3 讨论

3.1 柳穿鱼叶苷的分子中连有两个糖, 用一般的溶剂如甲醇、乙醇以及甲酰胺溶解, 均不理想, 考虑黄酮类成分的溶解性, 故最后选定用 70% 乙醇溶解,

* 收稿日期: 2004-04-25

基金项目: 国家“十五”科技攻关课题(30 味中药饮片炮制规范化研究, 编号: 2001BA701A 11)

* 通讯作者 Tel: (0791) 7118852 E-mail: Gongqf2002@163.com

表 1 样品的含量测定结果($n=2$)
Table 1 Results of samples ($n=2$)

购买地	柳穿鱼叶苷/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
樟树	8.49
江苏	4.44
浙江	1.59

效果较好。

3.2 提取方法选择: 采用水浴回流、超声提取、索氏提取 3 种提取方法测得柳穿鱼叶苷的质量分数分别为 1.77%、1.37%、1.19%, 结果表明回流提取的效果最好, 故提取方法定为回流提取。

3.3 提取溶剂的选择: 70% 乙醇、纯甲醇、70% 甲醇 3 种提取溶剂提取的柳穿鱼叶苷的质量分数分别为 1.44%、1.29%、1.34%, 结果以 70% 乙醇溶液提取效果最好, 故提取溶剂定为 70% 乙醇溶液。

3.4 提取时间的选择: 用 70% 乙醇提取样品, 分别测定了 0.5 h、1 h、1.5 h 3 种供试液中柳穿鱼叶苷质量分数分别为 1.69%、2.01%、2.17%, 结果表明提取 1 h 和提取 1.5 h 的结果相差不大, 故提取时间定为 1 h。

3.5 提取溶剂用量的选择: 用 70% 乙醇 70、100、120 mL 提取样品得 3 种供试液的质量分数分别为

2.22%、2.43%、2.49%, 结果表明提取溶剂的用量为 100 和 120 mL 没有显著性差异, 故提取溶剂用量定为 100 mL。

3.6 最初采用石油醚先对大蓟进行脱脂处理, 再用 70% 乙醇提取, 以减少其他成分的干扰和把被测成分提取完全, 但是从实验结果看大蓟中的脂溶性成分对测定结果影响很小, 预先未脱脂处理的和脱脂处理过的样品液结果相比, 其成分和含量都相同。因此, 省去石油醚脱脂这一步, 直接采用 70% 乙醇为溶剂进行回流提取, 以简便操作。

3.7 从几个购买地大蓟中的柳穿鱼叶苷的含量来看, 不同购买地的药材差别很大。考虑可能的因素有产地、加工、采用季节、贮存时间和方式有关。

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2000.
- [2] Zhi F, Kong L Y, Peng S X. Progress in chemical and pharmacological studies on *Cirsium japonicum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(7): 664-667.
- [3] Kosue T, Ishida K, Ito Y, et al. Pectolinarin as hemostatic [J]. *JP*: 62 340 621, 1987-11-21.
- [4] Zhou W X, Tian Z. Determination of pectolinarin in *Cirsium japonicum* DC. and rutin in *Cirsium setosum* (Willd.) MB. by TLC scanning [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1994, 14(6): 39-40.

南葶苈子薄层色谱鉴别法的建立

王爱芹, 王秀坤*, 崔翔宇, 赵海誉*

(北京中医药大学中药学院 中药鉴定教研室, 北京 100102)

葶苈子为常用中药, 具有泻肺平喘、利水消肿之功效。主要用于痰涎壅盛、喘咳不得平卧、水肿、悬饮、胸腹积水、小便不利等。《中华人民共和国药典》2000 年版^[1]记载葶苈子来源于十字花科植物独行菜 *Leptidium apetalum* Willd. 和播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl 的干燥成熟种子, 前者称为“北葶苈子”, 后者称为“南葶苈子”, 但葶苈子的鉴别仅记载了葶苈子的性状鉴别、显微鉴别和膨胀度的测定。文献报道有葶苈子的 TLC 鉴别^[2], 但是无指标成分作对照, 根据南葶苈子的临床疗效而设计的哮喘呼吸重要炎症介质-血小板激活因子(PAF)药理筛选实验表明, 南葶苈子总黄酮成分为其有效部位。经系统的化学研究发现, 南葶苈子黄酮成分是以槲皮素

山柰酚及异鼠李素为基本苷元的系列黄酮苷类成分, 其中以槲皮素-3-O- β D-葡萄糖-7-O- β D-龙胆双糖苷的含量最高, 特征性强, 槲皮素抑制 PAF 诱发的家兔血小板聚集及多形核粒细胞聚集及释放, 为 PAF 受体竞争性拮抗剂已有报道^[3]。临床及药理实验证明: 该类成分具有祛痰、止咳、平喘作用, 并具有舒张支气管平滑肌、促进气管纤毛运动、降低毛细血管通透性和脆性、扩张冠状动脉、抗炎、抗过敏、抗癌等多种药理作用^[3,4], 故可以认为槲皮素-3-O- β D-葡萄糖-7-O- β D-龙胆双糖苷可以部分代表南葶苈子的药效。为此, 本研究以自制槲皮素-3-O- β D-葡萄糖-7-O- β D-龙胆双糖苷为对照品, 建立了南葶苈子的薄层色谱鉴别法, 方法具有简便、准确、可靠等优点。

* 收稿日期: 2004-02-19

基金项目: 国家重点科技项目(公关)计划(99-929-01-29); 国家自然科学基金资助课题(30371776)

作者简介: 王爱芹(1963—), 女, 山东莱芜市人, 医学硕士, 主要从事中药专业的教学及天然药物的研究工作, 现工作于北京中医药大学中药教研室。Tel: (010)63581925-8014 E-mail: wangaiqinlw@yhuo.com.cn

* 通讯作者 北京中医药大学中药学院中药鉴定教研室