

HPLC 法测定不同采收期香青兰中田蓟苷和藿香苷

王亚俊, 王李梅, 杨 爽, 任冬梅*

山东大学药学院 天然药物化学教研室, 山东 济南 250012

摘要: 目的 建立一种测定香青兰中田蓟苷和藿香苷的方法, 并比较不同采收时期香青兰中田蓟苷和藿香苷的差异。方法 采用 HPLC 法测定香青兰中田蓟苷和藿香苷的量, 色谱柱为 Phenomenex C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5% 甲酸水, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 330 nm; 柱温为 25 °C; 进样量为 10 μL。结果 田蓟苷和藿香苷获得良好分离, 在 5.09~101.82、4.99~99.83 μg/mL 与峰面积积分值呈良好线性关系, 平均加样回收率分别为 99.53%、100.65%, RSD 分别为 1.08%、1.39%, 重现性试验的 RSD 分别为 0.29%、0.56%。结论 本方法操作简便、准确, 精密度、分离度良好, 为香青兰药材的合理应用及其质量控制提供了依据。

关键词: 香青兰; 田蓟苷; 藿香苷; 采收期; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)01-0091-03

Simultaneous determination of tilianin and agastachoside in *Dracocephalum moldavica* by HPLC

WANG Ya-jun, WANG Li-mei, YANG Shuang, REN Dong-mei

Department of Natural Products Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

Key words: *Dracocephalum moldavica* L.; tilianin; agastachoside; harvest; HPLC

香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 为唇形科青兰属一年生草本植物, 系维吾尔族、蒙古族习用药材。其药材标准在《中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册》和《中国药典》1977 年版均有收载。香青兰具有益心护脑、保肝健脾等功效, 用于治疗心悸心痛、头晕脑胀、反应迟钝、胃虚肝弱等症^[1]。几百年的实践证明, 其疗效确切。部颁维吾尔药分册收载的成方制剂中, 组方含香青兰的制剂有 6 种, 多用于心悸、心痛方面疾病的治疗。其中单方制剂“益心巴迪然吉布亚颗粒”治疗冠心病具有良好疗效^[2-4]。化学成分研究表明, 香青兰全草含挥发油、黄酮类、萜类及木脂素等成分^[5-6]。尽管香青兰作为民族药应用频率较高, 基础性研究工作也取得了一些进展, 但无论香青兰药材还是制剂, 目前尚未见其质量控制方法。因此, 本研究选择药材中量较高的两种黄酮苷类成分田蓟苷和藿香苷为指标成分, 建立了 HPLC 法同时测定药材中两种黄酮苷的方法, 并且对不同采收季节的药材中两种黄酮苷进

行了定量考察, 以期为药材的合理采收和质量控制提供依据, 为香青兰制剂的质量控制提供参考。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器; Agilent Chem station 化学工作站。

药材采自新疆维吾尔自治区吉木萨尔药材种植基地, 由山东大学药学院生药教研室李允尧老师鉴定为唇形科青兰属植物香青兰 *Dracocephalum moldavica* L.。

田蓟苷及藿香苷对照品自制, 经 HPLC 法检测质量分数均大于 98.5%, 乙腈为色谱纯, 水为二次重蒸水 (自制), 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Phenomenex C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.5% 甲酸溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: A-B (80:2075:25), 0~22 min; A-B (75:25), 22~30 min; A-B (75:2570:30), 30~53 min;

收稿日期: 2010-03-03

基金项目: 山东省科技发展计划项目 (2006GG2202058)

作者简介: 王亚俊 (1982—), 女, 山西平遥人, 山东大学药学院天然药物化学专业硕士研究生, 研究方向为天然药物提取与分离。

E-mail: morphine91@126.com

*通讯作者 任冬梅 Tel: (0531) 88382012 E-mail: rendom@sdu.edu.cn

A-B (70:30), 53~60 min。体积流量 1 mL/min; 检测波长 330 nm; 柱温 25 °C; 进样量 10 μ L。对照品与样品的色谱图见图 1。

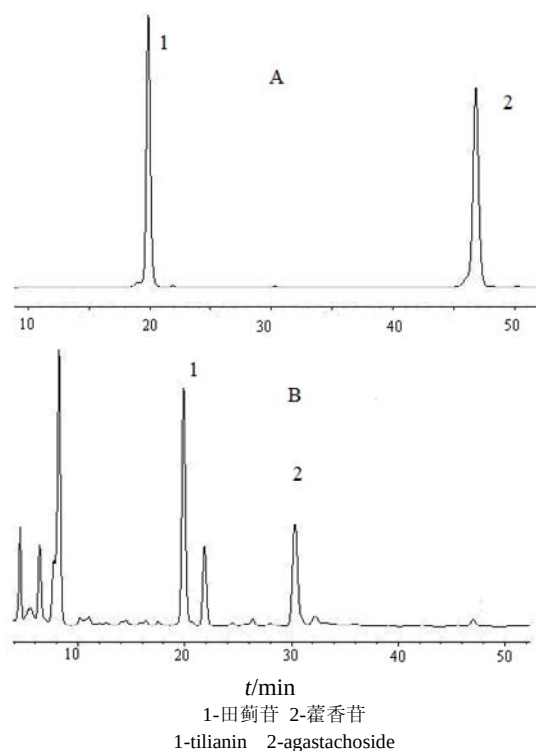


图 1 对照品 (A) 与样品 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and *D. moldvica* sample (B)

2.2 对照品溶液的制备

精密称定干燥至恒定的田蓟苷对照品 5.09 mg, 藿香苷对照品 4.99 mg, 流动相定容于 50 mL 量瓶中, 得对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备

采收于不同时期的香青兰地上全草分别粉碎, 过 40 目筛, 精密称定 1 g 于 100 mL 圆底烧瓶, 加入 50 mL 甲醇, 称定质量, 80 °C 回流加热 1 h, 放冷, 甲醇补足质量, 滤过, 滤液减压蒸干, 残渣用流动相溶解并定容于 10 mL 量瓶中, 微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 作为供试溶液。

2.4 标准曲线的绘制

精密吸取对照品储备液 0.5、1、2、4、6、8、10 mL, 用流动相定容于 10 mL 量瓶中。分别吸取各质量浓度的对照品溶液 10 μ L 进样, 以质量浓度为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 进行线性回归, 得田蓟苷和藿香苷的回归方程分别为 $Y=21\,193\,X+76.986$, $r=0.999\,9$; $Y=21\,977\,X+54.357$, $r=$

0.999 9。结果表明, 田蓟苷和藿香苷分别在 5.09~101.82、4.99~99.83 μ g/mL 与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取上述含田蓟苷 101.8 μ g/mL、藿香苷 99.8 μ g/mL 的对照品溶液 10 μ L, 连续重复进样 5 次, 田蓟苷和藿香苷峰面积的 RSD 分别为 0.62%、0.85%。

2.6 重现性试验

精密称取同一批药材粉末 (批号 20080707) 6 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下方法测定, 田蓟苷和藿香苷峰面积的 RSD 分别为 0.29%、0.56%。

2.7 稳定性试验

取同一份供试品溶液 (批号 20080717), 室温放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 田蓟苷和藿香苷峰面积的 RSD 分别为 0.91%、0.87%。

2.8 加样回收率试验

精密称取 0.3 g 已测定的香青兰样品 (批号 20080707) 6 份, 按 2.3 项下操作制备供试品溶液各 10 mL, 依次加入 60%、80%、100% 田蓟苷对照品储备液、藿香苷对照品储备液各 1 mL, 制备供试品溶液, 准确吸取各供试品 10 μ L 进样, 按 2.1 项色谱条件测定。计算得田蓟苷的平均回收率为 99.53%, RSD 为 1.08%; 藿香苷的平均回收率为 100.65%, RSD 为 1.39%。

2.9 样品测定

精密吸取各供试品溶液 10 μ L 进样, 按 2.1 项所述色谱条件测定, 采用外标法计算, 结果见表 1。

3 讨论

本研究建立了香青兰中两种黄酮苷类成分田蓟苷、藿香苷的高效液相色谱测定方法, 可使其获得较好的分离且具有准确、重现性好等特点。

香青兰的花期为 7~8 月, 本结果表明, 花期的香青兰田蓟苷、藿香苷量较高, 对进一步确定香青兰最佳采收期具有一定的参考价值。

比较了甲醇-含酸水、乙腈-甲酸水流动相系统的洗脱情况, 结果表明乙腈-甲酸水流动相系统明显较优, 甲醇-含酸水系统不能实现较好的分离。以乙腈-甲酸水为流动相, 比较了流动相 0.5% 甲酸水溶液-乙腈 (70:30, 75:25, 80:20) 及梯度洗脱的方法, 结果表明梯度洗脱较好, 故采取梯度洗脱。

表 1 田蓟苷和藿香苷的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of tilianin and agastachoside in *D. moldavica* samples (n=3)

编号	采集时间	田蓟苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%	藿香苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	2008-06-22	3.17	0.55	0.16	0.73
2	2008-06-28	1.79	0.80	0.03	0.67
3	2008-07-07	2.12	0.76	0.05	0.65
4	2008-07-17	2.18	1.03	0.06	0.77
5	2008-07-28	2.76	0.58	0.07	0.52
6	2008-08-07	3.57	0.69	0.13	0.89

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册 [S]. 1999.
- [2] 刘勇民. 维吾尔药志 [M]. 上册. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999.
- [3] 洪秀芳, 舒 好, 王晓雯, 等. 香青兰冲剂治疗冠心病心绞痛疗效分析 [J]. 新疆中医药, 1999, 17(2): 38-40.
- [4] 杨水祥, 洪秀芳. 香青兰对冠心病病人氧自由基损伤的保护作用及临床疗效观察 [J]. 解放军医学情报, 1995, 9(1): 17-18.
- [5] 冯长根, 李 琼. 香青兰化学成分与药理活性研究综述 [J]. 中成药, 2003, 25 (2): 155-157.
- [6] 古海锋, 陈若芸, 孙玉华, 等. 香青兰化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 29(3): 232-234.

2010 年版《中华人民共和国药典》(一部) 配套权威巨著

——《中华人民共和国药典中药材及原植物彩色图鉴》(上、下册)(中英文对照版)

国家药典委员会 中国医学科学院药用植物研究所 组织编撰

中国卫生部部长陈竺院士作序 人民卫生出版社出版发行

《中华人民共和国药典中药材及原植物彩色图鉴》(下文简称《药典图鉴》)系由国家药典委员会与中国医学科学院药用植物研究所组织专家共同编著完成。《药典图鉴》的内容科学、权威、准确, 图文并茂。本书以 2010 年版《中国药典》为蓝本, 收载几乎涵盖 2010 年版《中国药典》全部植物基原的中药 491 种, 并以临近完成全套出版的《Flora of China》和《中国高等植物图鉴》为核心参考资料。以力求准确、全面反映最新研究成果。

《药典图鉴》中各药材的原植物形态特征的描述力求准确把握植物鉴别特征, 并记录该植物在《Flora of China》、《中国植物志》和《中国高等植物图鉴》中所记述拉丁学名的正名, 以帮助读者更方便使用经典分类学专著, 获取更详尽分类学资料。同时, 巨著还全面反映了专家们对历版《中国药典》(包括 1953、1963、1977、1985、1990、1995、2000、2005 年版)记述的拉丁学名所进行系统整理的成果, 以帮助读者了解各药材记录于国家药典的历史与演变以及拉丁学名的应用情况。有关药材初加工及药材性状描述均同 2010 年版《中国药典》(一部)相应品种。为达到记录药材及原植物形象直观、图文并茂的目的, 本书配以经过精选的 2 300 余幅原植物、药材彩色照片, 使其真实、准确地反映原植物生境、形态和药材形状, 突出基原植物的鉴定特点。其中植物图像包括生境、花果枝、鉴别特征部位、新鲜药材部位, 药材图像包括原药材及药材切面。实物与图像资料为笔者进行长期野外考察、植物拍摄、凭证标本采集、药材制作和凭证标本鉴定、药材拍摄获得。凭证标本经过中国医学科学院药用植物研究所初步鉴定, 再送英国皇家植物园 (KEW Garden) 及中国科学院植物研究所分类学家重复鉴定确认, 以确保所有资料的准确。书中绝大部分彩色照片为首次使用。

本书为全文中英文对译, 有利于开展对外学术交流。我国药用植物权威研究机构中国医学科学院药用植物研究所与英国皇家植物园 (KEW Garden) 精诚合作 10 余年, 两国专家学者跋山涉水、不畏艰辛深入药材产地拍摄记录植物及生境图片、采集(挖)并制作原药材, 为该巨著面世奠定了扎实基础。

《药典图鉴》对从事药品检验、中药学或植物学教学与科研, 以及药材、饮片、中成药生产、供应企业和国际贸易等方面的机构与有关人员具有极高的参考价值。同时, 适合关注我国药典以及传统药物的外国专家学者阅读。本书是一部不可多得的工具书, 它必将对推动中医药事业的健康发展, 提升我国中药监管水平, 以及加强对外交流发挥重要的作用, 并产生深远的影响。

该书分上下册, 定价: 868.00 元/套。已于 2010 年 10 月由人民卫生出版社正式出版并面向国内外发行。