

秋海棠属药材的质量标准研究

蒋佳雯,徐文芬*,杨亮,何顺志
(贵阳中医学院药理学系,贵阳 550002)

[摘要] 目的:建立秋海棠属药材中芦丁的含量测定方法,为完善秋海棠属药材的质量标准提供理论依据。方法:采用 HPLC,色谱柱 Diamonsil(钻石)-C₁₈(4.6 mm×250 mm 5 μm);流动相甲醇-0.5%磷酸溶液梯度洗脱;柱温 30℃;检测波长 257 nm。结果:秋海棠属药材因种类、产地及药用部位不同,其芦丁的含量存在差异,以贵州开阳南江峡谷产盾叶秋海棠地上部分中芦丁的含量为最高;不同部位中芦丁的含量分布为叶、茎>根茎。结论:方法简便易行、重复性好、结果准确,可作为秋海棠属药材中芦丁的含量测定方法。秋海棠药材入药建议以地上部分更为合理。

[关键词] 秋海棠属药材;芦丁;高效液相色谱法;质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)01-0040-03

Study on Quality Standard of Begonia Herbs

JIANG Jia-wen, XU Wen-fen*, YANG Liang, HE Shun-zhi

(Department of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To consummate the quality standard and provide theory evidence of Begonia herbs, by constituting the method of assaying of rutin in Begonia herbs. **Method:** The content of rutin of Begonia L. herbs were determined by HPLC. Diamonsil Chromatographic column (Diamond)-C₁₈ (4.6 mm×250 mm 5 μm). Mobile phase was methanol-0.5% phosphoric acid gradient elution. Column temperature was 30℃. The detection wavelength 257 nm. **Result:** The content of rutin was influenced by different species, different origins and different medicinal parts, and the rutin content of leaf, stem which was higher than root. Among them, The content of rutin was the highest than others, which of *Begonia cavaleri* in Kaiyang Nanjiang canyou of Guizhou. **Conclusion:** The method by constituting is simple and convenient, reproducible accurate. It can conduct method of assaying of rutin in Begonia herbs. It is right to collect the leaf and stem part of the herbs which provide a reliable basis for conservation and reasonable development of *Begonia* herbs resources in Guizhou.

[Key words] *Begonia* herbs; rutin; HPLC; quality standard

秋海棠为秋海棠科多年生肉质草本植物,《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003年版)收载的品种为盾叶秋海棠 *Begonia cavaleri*,裂叶秋海棠 *B. palmata* 的新鲜或干燥根茎入药,具有清热解毒,散瘀消肿的功效,为贵州少数民族常用药,在其标准中未建立有效成分的含量测定项,质量标准尚不够

完善^[1]。查阅有关文献资料,秋海棠根茎中主要含有强心苷、芦丁、鞣质、酸性成分、三萜类成分、皂苷、谷甾醇等化学成分^[2-6]。芦丁具有保持和恢复毛细血管正常弹性的功能,临床常作为治疗高血压的辅助药及毛细血管性出血的止血药^[7]。本文首次采用高效液相色谱法建立了秋海棠药材中芦丁的含量测定方法^[8],对贵州不同种类、不同产地、不同部位秋海棠药材进行质量对比研究,旨在为秋海棠药材质量标准的提升研究,合理开发利用秋海棠药材资源提供理论依据。

[收稿日期] 2010-06-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30660224)

[通讯作者] *徐文芬, Tel:0851-5924317, E-mail: wenfenxu@

126.com

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),安捷伦液相色谱系统化学工作站;微孔滤膜 $\phi = 0.45 \mu\text{m}$ (进口);AG135 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);CSF-1B 超声波清洗仪(上海超声波仪器厂)。

1.2 对照品及试剂 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200306);乙腈、甲醇为色谱纯,甲醇、磷酸为分析纯,水为重蒸水。

1.3 样品 实验样品均采自贵州省不同产地秋海棠药材,经贵阳中医学院何顺志研究员准确鉴定为盾叶秋海棠 *B. cavaleri*、掌裂叶秋海棠 *B. grandis*、周裂叶秋海棠 *B. circumlobata*、中华秋海棠 *B. grandis* subsp. *sinensis*、一点血 *B. wilsonii*、赤水秋海棠 *B. chishuiensis*、歪叶秋海棠 *B. augustine*、红孩儿 *B. palmata* var. *bowringian*、秋海棠 *B. grandis*、阴干或晒干,粉碎过 40 目筛,置干燥器中备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱 Diamonsil(钻石)- C_{18} (4.6 mm \times 250 mm 5 μm);流动相以甲醇(A)-0.5%磷酸水溶液(B),按 0~5 min(30% A),5~10 min(30%~35% A),10~15 min(35%~40% A),15~20 min(40%~50% A),20~30 min(50% A)进行梯度洗脱;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长 257 nm;流速 1.0 mL \cdot min $^{-1}$;进样体积 10 μL 。理论塔板数以芦丁计算应不低于 8 000;芦丁峰与其他杂质峰分离度大于 1.5;重复性 RSD 0.34%;拖尾因子为 1.02。

2.2 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品适量,加甲醇溶解并制成 0.373 4 g \cdot L $^{-1}$ 的对照品溶液,作为储备液备用。

2.3 供试品溶液制备 取样品粉末约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加甲醇 20 mL,密塞,称重,超声提取 30 min,放冷至室温,用甲醇补足损失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得(同时另取样品照《中国药典》2005 年版一部附录 IX H 测定水份)。

2.4 测定法 精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪测定,记录色谱图。

2.5 专属性考察 分别精密吸取芦丁对照品溶液和供试品溶液,进样 10 μL ,记录色谱图,采用二极管阵列检测器,对照品和供试品中芦丁峰的 UV 光

谱图一致,表明该方法的专属性好。

2.6 线性关系考察 配制一系列浓度的芦丁对照品溶液,即 0.373 4, 0.074 68, 0.014 94, 0.002 987, 0.001 195 g \cdot L $^{-1}$,各取 10 μL 进样,测定峰面积。分别重复进样 3 次,以峰面积平均值为纵坐标,其对应的对照品质量为横坐标,进行回归计算,得到芦丁的回归方程为 $Y = 1.95 \times 10^3 X + 12.04$, $r = 0.999 98$ ($n = 5$)。芦丁在 $1.195 \times 10^{-2} \sim 3.734 \mu\text{g}$ 与峰面积的线性关系良好。

2.7 精密度试验 精密吸取芦丁对照品溶液(106 mg \cdot L $^{-1}$) 1 d 内连续进样 6 次,每次 10 μL ,测定其精密度,结果芦丁的峰面积值的 RSD 0.34%,表明仪器精密度良好。

2.8 重复性试验 精密称取同一药材粉末样品(贵阳高坡产盾叶秋海棠)约 0.5 g,共 6 份,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析测定,结果得样品中芦丁含量的 RSD 为 0.62%,表明本法测定的重复性良好。

2.9 稳定性试验 精密称取同一药材粉末样品(贵阳高坡产盾叶秋海棠)1 份约 0.5 g,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进行分析测定,结果得芦丁含量的 RSD 为 1.1%,表明供试品测定在 24 h 保持稳定。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一药材粉末样品(贵阳高坡产盾叶秋海棠,水分为 7.85%)6 份,每份约 0.25 g,分别精密加入芦丁对照品溶液(0.373 4 g \cdot L $^{-1}$)3.0 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析测定,计算芦丁的平均回收率为 97.02%,RSD 1.6%,见表 1。

表 1 芦丁加样回收率试验($n = 6$)

称样量/g	样品中量/mg	检出量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.250 6	1.501 0	2.580 1	96.33	97.02	1.6
0.250 2	1.498 6	2.571 7	95.80		
0.250 5	1.500 4	2.607 9	98.87		
0.250 5	1.500 4	2.571 0	95.57		
0.250 8	1.502 2	2.610 9	98.97		
0.250 5	1.500 4	2.582 4	96.59		

注:加入量均为 1.1202 mg。

2.11 样品测定 将不同种类、不同产地、不同部位的秋海棠药材,按 2.3 项下方法分别制备供试品溶液,进样 10 μL ,照上述色谱条件测定,见表 2。

表 2 不同种类、不同产地、不同部位秋海棠药材中
芦丁的含量 (n=4) %

No.	采收日期	种类	产地	芦丁	
				地上部分	地下部分
1	2008-09-05	盾叶秋海棠	贵阳高坡	0.65	0.060
2	2008-07-18	盾叶秋海棠	龙里湾寨	0.38	0.12
3	2008-07-28	盾叶秋海棠	开阳南江峡谷	1.3	-
4	2008-10-18	盾叶秋海棠	贵定栗木坪	0.52	0.13
5	2008-09-02	红孩儿	榕江尧人山	0.008 0	-
6	2008-08-03	赤水秋海棠	赤水竹海	0.23	0.28
7	2008-08-03	赤水秋海棠	赤水红石野谷	0.12	0.046
8	2008-09-02	周裂叶秋海棠	榕江尧人山	0.23	0.046
9	2008-09-14	中华秋海棠	威宁岔河乡	0.091	0.034
10	2008-08-02	掌裂秋海棠	习水长嵌沟	0.022	0.003 9
11	2008-08-04	一点血	仁怀盐津河	0.15	0.015
12	2008-10-13	歪叶秋海棠	贵定云雾镇	0.034	0.004 8
13	2008-07-11	秋海棠	施秉云台山	0.22	-

注:表中“-”表示因未采到样品的原因,无实验数据。

3 讨论

由表 2 可知,不同种类、不同产地秋海棠药材中芦丁的含量有明显差异,以开阳南江峡谷产盾叶秋海棠地上部分中芦丁的含量为最高;同一药材的不同部位所含芦丁也有明显差异,多数种类均以地上部分芦丁含量较高,地下部位(根茎)含量较低,因此,从秋海棠药材资源的可持续利用角度出发,建议可以地上部分入药。

本实验参照文献[8]中桑叶中芦丁的提取方法,进行了回流法与超声提取法的对比实验,结果为 2 种方法提取效率无明显差异,故选择操作较为简便的超声提取法。

在实验中选择考察了甲醇、80%乙醇及 95%乙醇 3 种溶剂的提取效率,结果为甲醇 > 80%乙醇 > 95%乙醇,故选择甲醇为提取溶剂。

在实验中秋海棠药材称样量均为 0.5 g,分别加入甲醇 20、25、30、35、40、45、50 mL 进行提取效率对比,结果芦丁含量并无显著差异,为减小误差和节约溶剂起见,选择溶剂量为 20 mL。

在实验中选择考察了超声 15、30、45、60 min 以及超声上述相应时间后放置过夜的提取效率,结果

提取 30 min > 60 min > 15 min > 45 min,放置过夜所得芦丁的含量比相应的不放置过夜无显著差异,故选择超声 30 min 不放置过夜提取。

本实验考察了 2 种色谱柱,Agilent XDB C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)和 Diamonsil(钻石)C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),结果显示,前者所得的芦丁峰和杂质峰的分离效果较差,且峰形展宽;而后者分离效果较好,故选择 Diamonsil(钻石)C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)柱。

本实验对 4 种流动相进行比较,即甲醇-0.5%磷酸溶液(梯度洗脱),甲醇-1%冰醋酸溶液(68:32, 64:36, 50:50, 40:60 和梯度洗脱),甲醇-0.4%磷酸溶液(38:62)及甲醇-0.1%磷酸溶液(64:36),结果显示以甲醇-0.5%磷酸溶液梯度洗脱的分离效果较好,所得峰形及峰的纯度最好。

综上所述,本文建立的秋海棠药材中芦丁的含量测定方法,方法简便可行,重复性好,结果准确,可用于该药材的质量控制,对于药材中芦丁含量限度的规定,尚需采集足够不同产地、不同采收期等《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版)收载品种实验样品,进行测定分析后加以规定。

[参考文献]

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳:贵州科技出版社, 2003:186.
- [2] 张嘉岷,陈耀祖,李伯刚,等. 秋海棠化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(5):295.
- [3] 蔡红,王明奎. 蕺叶秋海棠化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1):48.
- [4] 蔡红,王明奎. 天葵秋海棠根部的化学成分[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(1):103.
- [5] 李亭亭,李乃明. 紫背天葵中有机酸的分析[J]. 广州医学院学报, 1992, 30(3):12.
- [6] 管开云, Fershalova T D. 云南秋海棠挥发物抗微生物活性的研究[J]. 云南植物研究, 2005, 27(4):437.
- [7] 梁光义. 中药化学[M]. 北京:中医古籍出版社, 2005:8.
- [8] 中国药典. 一部[S]. 2005:209.

[责任编辑 顾雪竹]