

葎草不同部位中木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量测定

陈再兴, 孟舒¹, 朱旭, 王琳, 孟繁浩* (中国医科大学药学院, 沈阳 110001;
¹辽宁省计划生育科学研究院)

摘要: 目的 测定葎草的根、茎、叶、叶柄不同部位所含的木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量。方法 采用 HPLC 法测定葎草中木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量, 色谱柱为 Dikma Diamonsil C18 柱, 以甲醇-0.2% 磷酸溶液 (45:55) 为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 35℃, 检测波长为 350nm。结果 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷在 0.05~0.40μg 的范围内与峰面积积分值成良好的线性关系 ($r=0.9999$); 大波斯菊苷在 0.072~0.36μg 的范围内与峰面积积分值成良好的线性关系 ($r=0.9997$)。根与叶中主要含有木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷, 且叶中的含量最高。茎与叶柄中含有较多的其他成分。结论 该方法可用于葎草中木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量测定。葎草的叶与其他部位应分别药用。

关键词: 葎草; 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷; 大波斯菊苷; 含量测定; 不同部位

中图分类号: R284; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2011) 06-0547-03

Determination of Luteolin-7-O-β-D-glucoside and Cosmosiin of Different Parts in Humulus Scandens

Chen Zaixing, Meng Shu¹, Zhu Xu, Wang Lin and Meng Fanhao* (School of Pharmaceutical Science, China Medical University, Shenyang 110001; ¹Liaoning Institute of Family Planning)

ABSTRACT: **Objective** To determine the content of Luteolin-7-O-β-D-glucoside and Cosmosiin of roots, stems, leaves and petioles in Humulus Scandens. **Methods** The Dikma Diamonsil C18 column was used. The mobile phase consisted of methanol-0.2% phosphoric acid (45:55). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was 35℃, and the UV detection wavelength was 350nm. **Results** Luteolin-7-O-β-D-glucoside and Cosmosiin showed a good linear range within 0.072~0.36μg ($r=0.9999$) and 0.05~0.40μg ($r=0.9997$) respectively. Roots and leaves mainly contained Luteolin-7-O-β-D-glucoside and Cosmosiin. The content was the highest in leaves. The stems and petioles contained more other components. **Conclusion** The method can be used to determine the content of Luteolin-7-O-β-D-glucoside and Cosmosiin by HPLC. The leaves and stems should be separately medicined.

KEY WORDS: Humulus Scandens; Luteolin-7-O-β-D-glucoside; Cosmosiin; determination; different parts

中药葎草为桑科植物葎草 [*Humulus scandens*. (Lour.) Merr.] 的全草, 有 3 个栽培种^[1]。味甘、苦, 性寒。具有清热解毒、利尿消肿之功效。用于肺结核潮热、肠胃炎、痢疾、感冒发

热、小便不利、肾盂肾炎、急性肾炎、膀胱炎、泌尿系结石; 外用治痈疔肿毒、湿疹、毒蛇咬伤等^[2]。葎草生命力极强, 资源非常丰富, 主要生长在海拔 500~1500m 的荒山、荒沟边、林地等处。

基金项目: 辽宁省教育厅 (编号 L2010709) 资助科研项目

作者简介: 陈再兴, 博士生, 讲师; 研究方向: 中药毒理研究; E-mail: zaixingchen@sina.com

通讯作者: 孟繁浩, 博士生导师

葎草喜阴耐湿, 生存竞争能力极强, 能适应多种土壤质地和气候条件的生态环境^[3-4]。其化学成分较为复杂^[5-9], 全草含木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷、大波斯菊苷、胆碱及天门冬酰胺, 其他尚有挥发油、鞣质及树脂。本文对葎草不同部位中木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量同时进行测定, 并且考察其含量差异。

1 仪器、试剂与药品

Waters-600 型高效液相色谱仪; 1901 紫外分光光度计, DL-180A 超声波清洗器, 120 型精密电子天平。FW100 型高速万能粉碎机。

木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷、大波斯菊苷对照品 [实验室自制, 纯度均 > 99% (HPLC 归一化法测定)], 葎草于 2010 年 6 月采自沈阳市北陵公园。甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法^[10]

2.1 色谱条件

色谱柱: Dikma Diamonsil C18 柱 (4.6mm × 200mm, 5μm), 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (45: 55), 流速: 1.0mL · min⁻¹, 柱温: 35℃, 检测波长: 350nm, 进样量: 20μL。理论板数不低于 2000, 分离度 R > 1.5。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷、大波斯菊苷对照品适量, 加甲醇溶解分别制成 25、18μg · mL⁻¹ 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

分别取葎草根、茎、叶、叶柄药材粉碎, 过 60 目筛, 取粉末约 1g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加入石油醚 (30~ 60℃), 提取 1.5h, 滤去石油醚, 加入甲醇, 提取 4h, 将甲醇滤液置于蒸发皿中, 蒸干甲醇, 残渣加甲醇溶解, 转移至 50mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 即得。

2.4 线性关系考察

2.4.1 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷标准曲线的制备

分别精密吸取木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液 2.0、4.0、8.0、12.0、16.0μL 进样, 以峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标, 得出木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷进样量在 0.05 ~ 0.40μg 范围内呈良好的线性关系, 回归方程:

$$Y = 3.068143 \times 10^6 X + 1.53729 \times 10^5 \quad r = 0.9999$$

2.4.2 大波斯菊苷标准曲线的制备

分别精密吸取大波斯菊苷对照品溶液 4.0、

8.0、12.0、16.0、20.0μL 进样, 以峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标, 得出大波斯菊苷进样量在 0.072 ~ 0.360μg 范围内呈良好的线性关系, 回归方程:

$$Y = 2.6700226 \times 10^7 X + 1.2733 \times 10^4 \quad r = 0.9997$$

2.5 精密度试验

取供试品溶液 1 份, 进样量为 20μL, 连续进样 6 次, 测定峰面积积分值, 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的峰面积平均值分别为 675927 和 508011, RSD 分别为 2.32% 和 1.64%。表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取新制备的供试品溶液 20μL 立即进样, 之后每隔 2h 进样 1 次, 按上述色谱条件, 分别测定峰面积的积分值, 结果木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的峰面积平均值分别为 692903 和 518369, RSD 分别为 2.46% 和 2.08%, 表明供试品溶液在室温放置 8h 内稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一试样 6 份, 按供试品溶液制备方法制备, 按上述色谱条件测定, 进样量为 20μL, 计算木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量平均值为 0.69mg · g⁻¹, RSD = 2.23%, 大波斯菊苷含量平均值为 0.5mg · g⁻¹, RSD = 2.17%。

2.8 回收率试验

取已知含量的葎草样品粉末 0.05g, 共 6 份, 精密称定, 分别准确加入木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液 (0.25mg · mL⁻¹) 140μL 和大波斯菊苷对照品溶液 (0.18mg · mL⁻¹) 170μL, 按“2.3”项下方法制备, 并按上述色谱条件测定, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率

| | 样品含量 (mg) | 加入量 (mg) | 测得量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|--------------|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| A* | 0.0378 | 0.035 | 0.0726 | 99.6 | 99.1 | 2.5 |
| | 0.0314 | 0.035 | 0.0647 | 95.2 | | |
| | 0.0366 | 0.035 | 0.0720 | 101.0 | | |
| | 0.0373 | 0.035 | 0.0731 | 102.2 | | |
| | 0.0349 | 0.035 | 0.0692 | 98.2 | | |
| | 0.0341 | 0.035 | 0.0684 | 98.0 | | |
| B* | 0.0255 | 0.031 | 0.0560 | 98.5 | 100.7 | 2.7 |
| | 0.0238 | 0.031 | 0.0546 | 99.2 | | |
| | 0.0237 | 0.031 | 0.0539 | 97.4 | | |
| | 0.0244 | 0.031 | 0.0558 | 101.5 | | |
| | 0.0240 | 0.031 | 0.0563 | 104.4 | | |
| | 0.0264 | 0.031 | 0.0584 | 103.2 | | |

注: A 为木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷; B 为大波斯菊苷。

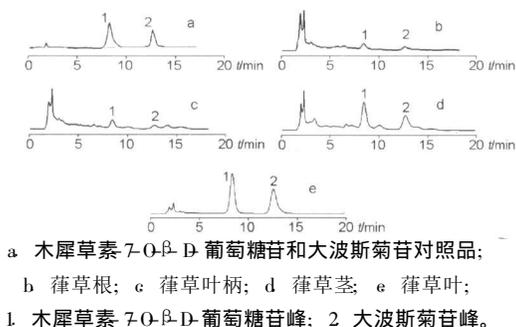


图 1 菘菘 HPLC 色谱图

2.9 菘菘不同部位样品的含量测定

采集 6 月的菘菘，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件下进样，连续进样 3 次，测定木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷与大波斯菊苷的含量，结果见表 2。

表 3 菘菘不同部位样品分析结果 mg · g⁻¹

| 部位 | 木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷 | 大波斯菊苷 |
|----|-------------------|-------|
| 根 | 0.068 | 0.077 |
| 茎 | 0.982 | 0.451 |
| 叶 | 1.305 | 0.912 |
| 叶柄 | 0.184 | 0.287 |

3 讨论与结论

3.1 菘菘样品采摘季节的选择

从以往研究来看^[10-12]，6~8 月是菘菘中木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷含量较高的季节。故采集 6 月份的菘菘样品进行测定。

3.2 菘菘药用部位有效成分含量的差异

本试验对菘菘根、茎、叶、叶柄等不同部位中所含的木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量进行了测定。从试验结果可知，这 2 种成分在叶中的含量最多，其含量由高到低的次序为叶>

茎>叶柄>根。叶中的木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量分别是根中的近 20 倍和 50 倍。从高效液相色谱图可知，根、叶中所含的成分种类相对较少，茎及叶柄中所含的成分种类相对较多，可能为黄酮类成分。

3.3 菘菘药用部位的选择

菘菘作为药用植物因其所含成分有较大的差异，不同部位应该分开药用，其主要的药用部位为叶。

参考文献:

- [1] 侯宽昭. 中国种子植物科属词典 [M]. 北京: 科学出版社, 1984: 238-238
- [2] 中国药材公司. 中国中药资源志要 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 190-190
- [3] 高政权, 孟春. 菘菘研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (31): 9982-9984
- [4] 尹海波, 王颖, 郑太坤, 等. 中国菘菘属植物的研究进展 [J]. 辽宁中医学院学报, 2001, 3 (1): 60-61
- [5] 李俊婕, 王晓静, 付义成. 菘菘化学成分的研究 [J]. 食品与药品, 2008, 10 (5): 5-6
- [6] 段国峰, 李宝军, 翟松涛, 等. 菘菘多糖的分离纯化及组成分析 [J]. 中药与天然药物, 2006, 18 (5): 86-87
- [7] 王桃云, 马红昌, 刘江颖. 菘菘叶蛋白提取工艺的优化 [J]. 苏州科技学院学报 (自然科学版), 2005, 22 (3): 59-64
- [8] 王鸿梅, 杨金荣. 菘菘 CO₂ 超临界萃取物的化学成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34 (9): 786-787
- [9] 冯俊霞, 戚秀菊. 菘菘总黄酮和微量元素含量的测定分析 [J]. 湖北农业科学, 2009, 48 (4): 963-966
- [10] 陈再兴, 陈佳琪, 朱旭, 等. 不同季节菘菘中木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷和大波斯菊苷的含量测定 [J]. 天津中医药, 2010, 27 (1): 74-77
- [11] 陈伟光, 盛静. 菘菘叶总黄酮的测定及最佳采收期研究 [J]. 中草药, 2008, 39 (1): 120-122
- [12] 邹素华, 刘太宇. 菘菘不同生长月份营养成分及总黄酮含量的动态变化 [J]. 动物营养与饲料科学, 2010, 37 (5): 21-27

(上接第 546 页) 大部分药材或饮片随着存放时间的延长，其药效成分或指标成分均会有一定的下降，故建议对药材或饮片应加强包装材料的选择研究及稳定性考察研究，以确定保质期；另一方面，除了用现代的测定手段控制主要成分的含量外，药材及饮片直观质量的优劣也应进行量化，作为质量评价的重要指标。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999, (3): 407-408
- [2] 陶波, 陈慕英, 李晓宁, 等. 荷叶药用研究概况 [J]. 中

- 医药信息, 2001, 18 (2): 14-15
- [3] 李志诚, 左春旭, 杨尚军, 等. 荷叶化学成分的研究 [J]. 中草药, 1996, 27 (1): 50-51
- [4] 朱晓月, 刘虹, 郝瑛, 等. 市售荷叶中荷叶碱含量调查 [J]. 天津中医药大学学报, 2010, 29 (1): 36-37
- [5] 柴金玲, 李伟, 谷学新. 高效液相色谱法测定荷叶中荷叶碱的含量 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25 (8): 932-934
- [6] 中国药典 [S]. 一部, 2010: 258-259
- [7] 潘英妮, 胡久丽, 谢媛媛, 等. 国产山楂药材及炮制品饮片质量评价研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45 (7): 492-495
- [8] 许菊. 荷叶不同生长期荷叶碱含量比较 [J]. 西北药学杂志, 2008, 23 (1): 28-29
- [9] 毛燕妮, 蒋建勤. 高效液相色谱法测定荷叶与荷梗中荷叶碱的含量 [J]. 海峡药学, 2007, 19 (3): 41-43