

· 化学与分析 ·

HPLC 测定不同商品规格天麻中天麻苷与天麻苷元的含量

任守利¹, 刘塔斯^{1*}, 林丽美¹, 聂骊晓¹, 李钟^{1,2}

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:建立天麻药材中天麻苷及天麻苷元的测定方法,测定天麻不同商品规格中天麻苷和天麻苷元的含量。方法:采用 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱,流动相 0.1% 磷酸水-甲醇(95:5)为,检测波长为 220 nm,柱温为 25 ℃,流速为 1 mL·min⁻¹。结果:天麻苷、天麻苷元的进样量与峰面积均呈良好的线性关系,平均回收率分别为 100.78% (n=6) 和 101.59% (n=6),不同产地、商品规格的药材含量相差较大。结论:操作简便、准确、具有良好的重复性,是一种适宜于不同商品规格天麻中天麻苷与天麻苷元的含量的有效方法,结果能够为天麻药材的合理应用、质量控制及商品规格新标准制定奠定基础。

[关键词] 天麻;天麻苷;天麻苷元;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(2011)15-0055-04

Determination of Gastrodin and P-Hydroxybenzyl Alcohol in Different Commercial Grades of *Gastrodia elata* by HPLC

REN Shou-li¹, LIU Ta-shi^{1*}, LIN Li-mei¹, NIE Li-xiao¹, LI Zhong^{1,2}

(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Objective: To establish the determination of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in *Gastrodia elata*, and determine the different commercial grades of *Gastrodia elata*. Method: The samples were separated at 25 ℃ on ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column eluted with 0.1% phosphoric acid-methanol (95:5) as mobile phase, flow rate was 1 mL·min⁻¹ and detection wavelength was set at 220 nm. Result: The sample quality of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol with the peak area showed good linear relationship, the average recoveries were 100.78% (n=6) and 101.59% (n=6), the content of the different origin and products specifications was significant difference. Conclusion: The method is simple, accurate and reproducibility, it can provide the basis of rational application, quality control and the standards for *Gastrodia elata*.

[Key words] *gastrodia elata*; gastrodin; p-hydroxybenzyl alcohol; determination; HPLC

天麻是兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥根茎,又名赤箭、定风草、独摇兰^[1]。天麻是传统名贵中药,文献报道天麻化学成分多为酚类化合物,其中包括天麻苷(gastrodin)即对羟基苯甲醇-β-D 葡萄

糖苷,天麻苷元(p-hydroxybenzyl alcohol)即对羟基苯甲醇、对羟基苯甲醛、琥珀酸、对羟基苯甲酸等化合物。现代药理研究表明天麻中天麻苷、天麻苷元和对羟基苯甲醛等成分都有具有抗惊厥、镇静、镇痛提高记忆力等生物活性^[2]。

考察天麻中天麻苷、天麻苷元和对羟基苯甲醛含量,结果对羟基苯甲醛含量太低,基本检测不出,而天麻苷与天麻苷元含量较高,故选择天麻苷和天麻苷元作为检测指标来测定不同商品规格天麻中的含量^[3]。采用高效液相色谱法同时检测不同商品等

[收稿日期] 2011-01-20
[基金项目] 国家公益性行业科研专项基金项目(200807020)
[第一作者] 任守利,硕士研究生,从事中药质量与资源研究
[通讯作者] * 刘塔斯,教授,博士研究生导师,主要从事中药质量与资源研究, E-mail: liutasi@126.com

级规格天麻中的活性成分,为天麻药材的商品等级规格的制定与划分提供科学依据^[4-8]。

1 材料

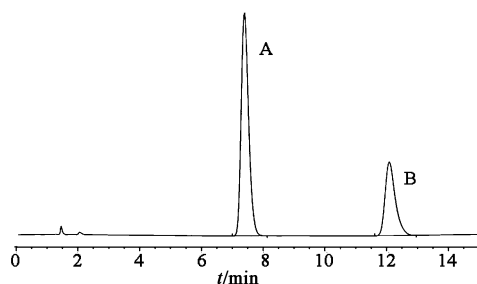
1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(四元泵,柱温箱,G1314B VWD 紫外检测器),LC 系统化学工作站,电子天平(1/万),紫外分光光度计。

1.2 药品与试剂 天麻苷(110807-200205,中国药品生物制品检定所)、天麻苷元(Sigma 公司);甲醇(色谱纯),双蒸馏水,其他试剂均为分析纯。所有样品均经湖南中医药大学中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定为兰科植物天麻 *G. elata* 的干燥块茎。

2 方法与结果

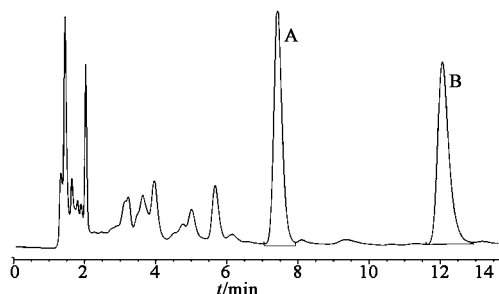
2.1 色谱条件 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相 0.1% 磷酸水-甲醇(95:5),检测波长 220 nm,柱温 25 ℃,流速 1 mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液制备 精密称取 80 ℃ 减压干燥 1 h 的天麻苷和天麻苷元对照品,加流动相制成天麻苷为 0.4 g · L⁻¹、天麻苷元为 0.1 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。色谱图见图 1,2。



A. 天麻苷; B. 天麻苷元

图 1 混合对照品色谱



A. 天麻苷; B. 天麻苷元

图 2 天麻样品色谱

2.3 供试品制备 参照《中国药典》(2005 年版一部)方法^[1]:取天麻样品,在 80 ℃ 减压干燥,粉碎,取粉末(过四号筛),约 0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 50 mL,称定质量,加热回流

提取 3 h,放冷再称定质量,用稀乙醇补足减失质量,滤过,取续滤液 10 mL,减压浓缩至近干,残渣加流动相溶解,转移置 10 mL 量瓶中,定容,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.4 检测波长选择 精密称取天麻苷、天麻苷元对照品,分别用甲醇制成适当质量浓度的对照品溶液;以甲醇为空白,分别在 200 ~ 400 nm 进行扫描,结果天麻苷和天麻苷元均在 220,278 nm 处有 2 个吸收峰,而在 220 nm 的吸收最强,故选择 220 nm 作为检测波长。

2.5 线性关系的考察 精密移取天麻苷、天麻苷混合对照品溶液 0.25,0.5,1.25,2.5,3.75 mL 定容于 5 mL 量瓶中,得不同质量浓度的混合对照品溶液,按 2.1 项色谱条件进行测定,以峰面积 *Y* 为纵坐标,对照品的量为横坐标分别进行线性回归。天麻苷线性回归方程为 $Y = 2\,392.9X - 162.93$ ($r = 0.999\,9$),天麻苷在 20 ~ 300 μg 成良好的线性关系;天麻苷元线性回归方程为 $Y = 4\,665X - 94.686$ ($r = 0.999\,9$),天麻苷元在 5 ~ 75 μg 成良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取天麻供试品溶液,按含量测定项下操作,连续重复进样 5 次,测定天麻中的天麻苷、天麻苷元的含量,RSD 分别为 0.72%,0.60%。说明该方法准确可靠。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 5 份,每份约 0.8 g,精密称重,按上述方法制备溶液,测定天麻中的天麻苷、天麻苷元的含量,RSD 分别为 1.05%,1.16%,表明实验方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,24,48 h 不同时间测定天麻苷、天麻苷元的含量,RSD 分别为 2.29%,1.45%,表明天麻样品溶液在 48 h 内保持稳定。

2.9 回收率试验 取同一批号已知含量的样品 0.4 g,各 6 份,分别加入天麻苷和天麻苷元对照品适量,按上述方法制备溶液并进行测定,计算。结果天麻苷与天麻苷元的平均回收率分别为 100.78%,101.59%,RSD 分别为 2.77%,1.57%,表明此方法回收率较好,结果见表 1。

2.10 样品测定 取不同商品规格等级天麻样品,干燥,粉碎,过 60 目筛,取样品粉末 0.8 g,精密称定,按 2.3 项操作,依法制备样品溶液;按 2.1 项色谱条件依法进行测定,计算各样品中天麻苷与天麻苷元的含量,结果见表 2。

表 1 天麻苷、天麻苷元加样回收率试验 (n = 6)

成分	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
天麻苷	0.412 0	2.306	2.35	4.620	98.47	100.78	2.77
	0.408 1	2.284	2.35	4.722	103.74		
	0.406 3	2.274	2.35	4.654	101.28		
	0.407 0	2.278	2.35	4.568	97.45		
	0.411 6	2.304	2.35	4.643	99.53		
	0.402 6	2.254	2.35	4.703	104.23		
天麻苷元	0.412 0	0.213	0.22	0.438	102.27	101.59	1.57
	0.408 1	0.211	0.22	0.432	100.45		
	0.406 3	0.210	0.22	0.435	102.27		
	0.407 0	0.210	0.22	0.428	99.09		
	0.411 6	0.212	0.22	0.440	103.64		
	0.402 6	0.208	0.22	0.432	101.82		

表 2 不同商品规格天麻中的天麻苷、天麻苷元的含量 (n = 3)

%

No.	规格	标准	产地	天麻苷	天麻苷元	No.	规格	标准	产地	天麻苷	天麻苷元
1	冬麻	一等	湖南	0.88	0.04	17	冬麻	三等	湖北宜昌	1.14	0.03
2	冬麻	二等	湖南	0.57	0.03	18	冬麻	一等	四川雷波	0.39	0.25
3	冬麻	三等	湖南	1.09	0.03	19	冬麻	一等	贵州	0.42	0.03
4	春麻	-	湖南	0.64	0.03	20	冬麻	二等	贵州	0.25	0.03
5	冬麻	一等	陕西安康	0.48	0.05	21	冬麻	三等	贵州	0.69	0.03
6	冬麻	二等	陕西安康	0.55	0.02	22	冬麻	四等	贵州	0.59	0.02
7	冬麻	三等	陕西安康	0.65	0.02	23	野生	二等	贵州	0.42	0.03
8	冬麻	四等	陕西安康	1.00	0.02	24	冬麻	一等	陕西汉中	0.24	0.16
9	冬麻	一等	安徽金寨	1.05	0.03	25	冬麻	二等	陕西汉中	0.23	0.12
10	冬麻	四等	安徽金寨	0.51	0.06	26	冬麻	三等	陕西汉中	0.23	0.11
11	冬麻	四等	东北	0.44	0.05	27	冬麻	四等	陕西汉中	0.33	0.12
12	冬麻	一等	云南昭通	0.72	0.06	28	冬麻	二等	西藏江孜	0.59	0.01
13	野生	一等	云南	0.43	0.06	29	野生	二等	西藏	0.25	0.03
14	冬麻	一等	湖北英山	1.12	0.03	30	冬麻	四等	吉林	0.30	0.09
15	冬麻	二等	湖北英山	0.53	0.03	31	春麻	-	吉林	0.59	0.02
16	冬麻	一等	湖北宜昌	0.31	0.03						

3 结果与讨论

由结果可知,实验所收集的天麻样品中的天麻苷的含量均 >0.20%,均符合药典标准。根据天麻中的主要活性成分天麻苷、天麻苷元的含量变化趋势可知,除湖南、陕西、贵州及湖北的少数极个别天麻样品,等级低的样品有效成分含量较高外,大部分的天麻药材商品等级越高,药材中的天麻苷、天麻苷

元的含量呈上升的趋势,因此,根据天麻的等级可以作为判定药材质量优劣的依据。

从天麻的产区来看,云南、贵州、陕西等道地产区的天麻药材质量较好,而且质量稳定。与云南、贵州产区较近的湖南产区,随着种植规模的扩大,天麻药材的质量也较好。而陕西安康与汉中,同一产区的不同产地,药材质量差异较大,说明产地对天麻药

HPLC 同时测定葛根芩连汤中 12 个有效成分的含量

章军¹, 刘宇政^{1,2}, 王跃生¹, 刘安^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 南昌 330006)

[摘要] 目的: 建立同时测定葛根芩连汤中葛根素、大豆苷、甘草苷、黄连碱、药根碱、黄芩苷、小檗碱、巴马汀、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和甘草酸铵 12 个有效成分含量的 HPLC-DAD 测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱 Merck Chromolith, RP-18e (4.6 mm × 100 mm), 流动相为乙腈-0.05% 磷酸 (含 0.01 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾) 梯度洗脱; 流速 2 mL · min⁻¹, 柱温 35 ℃, 检测波长 250, 275, 345 nm。结果: 12 个成分的方法学考察均合格, 阴性无干扰。结论: 本方法简便、快速、准确可靠, 专属性强, 可用于葛根芩连汤的质量控制。

[关键词] 葛根芩连汤; 同时测定; 黄酮类; 生物碱类; 皂苷类; 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(2011)15-0058-05

Simultaneous Determination of 12 Active Components In Gegenqinlian Decoction by HPLC

ZHANG Jun¹, LIU Yu-zheng^{1,2}, WANG Yue-sheng¹, LIU An^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC-DAD method for simultaneous determination of puerarin,

[收稿日期] 2011-03-17

[基金项目] 国家“973 计划”项目 (2010CB530602)

[第一作者] 章军, 实习研究员, 从事分析化学, Tel: 010-64014411-2848, E-mail: junzhang654321@ yahoo. com. cn

[通讯作者] * 刘安, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药化学, Tel: 010-64014411-2938, Fax: 010-64013996, E-mail: la62@ 163. com

材的质量影响较大。

由于野生天麻资源的不断减少, 本实验中仅收集了 3 个产地的野生天麻, 根据野生天麻中天麻苷、天麻苷元的含量来分析, 野生天麻样品中的含量相对于同一产地的天麻来说, 含量较低; 而人工种植的天麻中有效成分的含量普遍较高, 本实验结果为栽培天麻替代野生天麻提供了科学的依据。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005.

[2] 吴刚, 秦民坚, 康继川, 等. 不同产地天麻质量评价[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(1): 13.

[3] 国家医药管理局和卫生部. 七十六种药材商品规格标准[S]. 1984.

[4] 林丽聪, 吴春敏, 陈海滨, 等. RP-HPLC 法测定石仙桃中天麻素和天麻苷元[J]. 中草药, 2008, 39(2): 283.

[5] 李德勋, 陈桂, 李辅碧, 等. 天麻不同变异类型药材中天麻素含量比较[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(3): 23.

[6] 梁纪军, 田大丰, 王中彦, 等. HPLC 法测定不同产地天麻中天麻素的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(1): 26.

[7] 袁胜浩, 王东, 张香兰, 等. 天麻中天麻素含量的影响因素研究[J]. 云南植物研究, 2008, 30(1): 110.

[8] 关萍, 高玉琼, 石建明, 等. 不同产地野生及栽培天麻中天麻素含量比较[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(21): 1698.

[责任编辑 蔡仲德]