

甘肃牛蒡不同部位总木脂素及牛蒡苷的含量测定

邵晶^{1,2}, 郭玫¹, 余晓晖^{1*}, 赵磊^{1,2}, 段文达¹ (1.甘肃中医学院, 兰州 730000; 2.甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 目的 对甘肃临洮产牛蒡不同部位所含总木脂素及牛蒡苷含量进行测定。方法 利用牛蒡子中总木脂素与牛蒡苷在同一峰位有吸收的特点,以牛蒡苷为对照品,以 280 nm 为测定波长,紫外分光光度法测定牛蒡不同部位总木脂素含量,同时采用 HPLC 测定其牛蒡苷含量。结果 牛蒡苷浓度在 0.005 7~0.079 5 mg·mL⁻¹ 内,吸收度与浓度呈良好线性关系,线性方程为 $Y=9.244\ 9X+0.017\ 2$, $r=0.999\ 6$, 平均回收率 98.2%, RSD=1.61%。以牛蒡苷计,牛蒡子中总木脂素含量为 12.27%,牛蒡根、牛蒡叶、牛蒡茎中总木脂素的含量均在 6% 左右。牛蒡子中牛蒡苷的含量为 6.19%($n=3$),牛蒡根、牛蒡茎、牛蒡叶样品均未检测到牛蒡苷。结论 采用紫外分光光度法和 HPLC 分别测定牛蒡不同部位总木脂素和牛蒡苷含量的方法快速、简捷,可全面控制牛蒡的质量。

关键词: 牛蒡; 总木脂素; 牛蒡苷; 紫外分光光度法; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)06-0506-03

Determination of Total Lignanoids and Arctinin in Different Parts of *Arctium Lappa* L

SHAO Jing^{1,2}, GUO Mei¹, YU Xiaohui^{1*}, ZHAO Lei^{1,2}, DUAN Wenda¹ (1.Gansu University of Traditional Medicine, Lanzhou 730000, China; 2.Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicine of College of Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the total lignanoids and arctinin in different parts of *Arctium lappa* L harvested from Lintao, Gansu. **METHODS** According to total lignanoids and arctiin in the same peak absorption, the absorption value of the sample at 280 nm was measured to calculate content directly using arctiin as reference substance. And the content of arctiin was measured by HPLC. **RESULTS** The calibration curve had good linear relationship in the range of 0.005 7~0.079 5 mg·mL⁻¹, linear equation: $Y=9.244\ 9X+0.017\ 2$ ($r=0.999\ 6$). The average recovery of arctiin was 98.2%, and the RSD value was 1.61%. The content of total lignanoids(in the amount of arctiin) in seed was 12.27%, and other parts of *Arctium lappa* L were all around 6%. The content of arctin seed was 6.19%($n=3$), and the arctiin of root, leaf and stem were not found in the method. **CONCLUSION** The methods are simple, accurate and specific, can be used for determination of the total lignanoids and arctinin in different part of *Arctium lappa* L.

KEY WORDS: *Arctium lappa* L; total lignanoids; arctiin; UV; HPLC

牛蒡(*Arctium lappa* L.)是菊科牛蒡属二年生草本植物,原产于亚洲,我国自古以来南北各地均有分布。牛蒡子是常用的传统中药,具疏散风热、宣肺透疹、消肿解毒之功效。现代药理学研究表明,牛蒡子具有抗菌、抗流感、抗 HIV 病毒、抗肿瘤(肺癌、皮肤癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌等)、

抗急性慢性肾炎、降血压等多种生理活性^[1-4]。其脂肪油营养不亚于核桃油、大豆油。牛蒡叶多作外用,有明显的消炎、解毒、镇痛作用。牛蒡根,又名东洋参,有明显的降血糖、降血脂、降血压、补肾壮阳、润肠通便和抑制癌细胞滋生、扩散及移弃水中重金属的作用,是非常理想的天然保健

基金项目: 甘肃省青年科技基金计划(1107RJYA019)

作者简介: 邵晶,女,硕士,讲师 Tel: (0931)8765394
(0931)8765394 E-mail: yxh123@sina.com

E-mail: cn221@163.com

*通信作者: 余晓晖,女,高级实验师 Tel:

食品, 在国内外市场上作为蔬菜均有销售, 享有“蔬菜之王”的美誉^[1-3]。因此牛蒡是药食两用的经济作物, 有很好的应用价值及发展前景。甘肃自然条件符合其植物生长特点, 各地均有分布, 如能推广种植, 不仅可丰富甘肃药材资源, 也能带动地区经济发展。牛蒡全植物中均含有木脂素, 本研究主要对甘肃临洮产牛蒡不同部位总木脂素及牛蒡苷的含量进行测定, 为利用甘肃牛蒡植物资源、控制其质量提供方法和理论依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UV-2401PC 型紫外分光光度仪(日本岛津); Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent); Agilent ChemSta2tion 色谱工作站; BS110S 型塞多利斯电子分析天平(北京塞多利斯天平有限公司); KQ-250TD 超声波清洗仪(上海必能信超声有限公司); 101 型电热鼓风干燥箱(北京科伟永鑫实验仪器设备厂)。

1.2 试剂

牛蒡子苷对照品(由中国药品生物制品鉴定所提供, 批号: 110819-200606, 纯度>99%); 牛蒡药材采自甘肃临洮, 经甘肃中医学院晋玲副教授鉴定为菊科牛蒡属植物牛蒡(*Arctium lappa* L.); 甲醇(色谱纯); 水为重蒸水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 牛蒡不同部位总木脂素的含量测定^[5]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取牛蒡苷对照品适量, 加甲醇溶解并制成浓度为 0.3 mg·mL⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 将牛蒡不同部位分别粉碎(过 60 目筛), 分别精密称取牛蒡根 0.5 g、牛蒡茎 0.5 g、牛蒡叶 0.5 g、牛蒡子 0.1 g, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 精密称定, 30 ℃下超声(150 W, 20 kHz)30 min, 放冷后用甲醇补足缺失的重量, 摇匀, 滤过。分别精密吸取上述续滤液 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.1.3 线性关系考察 精密称取牛蒡苷对照品 7.1 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 0.284 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 分别精密吸取对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 在 280 nm 波长处测定吸光度。以对照品浓

度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程 $Y=9.244\ 9X+0.017\ 2$, $r=0.999\ 6$ 。牛蒡苷的浓度在 0.005 7~0.079 5 mg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.1.4 仪器精密度试验 取“2.1.1”项下对照品溶液 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 连续测定 5 次。RSD=0.05%($n=5$), 表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取“2.1.1”项下对照品溶液 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 在 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 h 进行测定。结果 RSD=1.49%($n=5$), 表明样品溶液在 2 h 内性质较稳定。

2.1.6 重复性试验 精密称取 5 份牛蒡子样品, 按“2.1.2”项下方法操作, RSD=1.93%($n=5$), 表明此试验方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品, 分别加入牛蒡苷对照品, 按样品测定方法进行测定, 计算回收率, 结果牛蒡子苷的平均回收率为 98.2%, RSD 为 1.61%($n=5$), 结果见表 1。

表 1 总木脂素含量测定及加样回收率试验结果

Tab 1 Determination and recovery of total lignanoids

样品 质量/g	总木脂素 含量/mg	加入牛蒡 苷量/mg	测得量/ mg	回收率/ %/	平均回 收率/%	RSD/ %
0.061 8	7.582 1	6.272 0	13.739 1	98.2	98.2	1.61
0.057 1	7.000 3	6.272 0	13.099 5	97.2		
0.053 4	6.550 2	6.272 0	12.558 3	95.8		
0.054 6	6.701 6	6.272 0	13.001 1	100.4		
0.059 9	7.353 6	6.272 0	13.566 9	99.1		
0.063 4	7.776 0	6.272 0	13.960 2	98.6		

2.1.8 样品含量测定 以甲醇作空白, 分别取供试品溶液、对照品溶液于 1 cm 吸收池中, 在 280 nm 处测定牛蒡不同部位提取物吸光度, 计算, 即得。

表 2 牛蒡不同部位总木脂素含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Determination of total lignanoids in different part of *Arctium lappa* L($n=3$)

部 位	以牛蒡苷计总木脂素含量/%
牛蒡根	6.98
牛蒡茎	5.73
牛蒡叶	5.60
牛蒡子	12.27

2.2 牛蒡不同部位牛蒡苷的含量测定^[6-7]

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil-Keystone-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(43: 57); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 280 nm; 柱温: 20 ℃; 进样量: 10 μL; 理论板数按牛蒡苷峰

面积计算均不低于 1 500。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取牛蒡苷对照品适量,加甲醇溶解,配制成 $0.57\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取“2.1.2”项下供试品溶液,以 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液作为此项供试品溶液,备用。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取牛蒡子苷对照品溶液($0.57\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)各 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL , 分别注入高效液相色谱仪中,按“2.2.1”项下色谱条件,测定峰面积。将峰面积对应牛蒡苷含量进行回归,计算回归方程为: $Y=585.676\ 9X+6.738\ 7$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明:牛蒡子苷在 $0.285\sim 5.700\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与峰面积线性关系良好。

2.2.5 样品测定 精密吸取对照品溶液、对照药材溶液、供试品溶液各 10 μL ,注入高效液相色谱仪中进行测定,得牛蒡苷色谱峰面积,计算样品中牛蒡苷的含量。

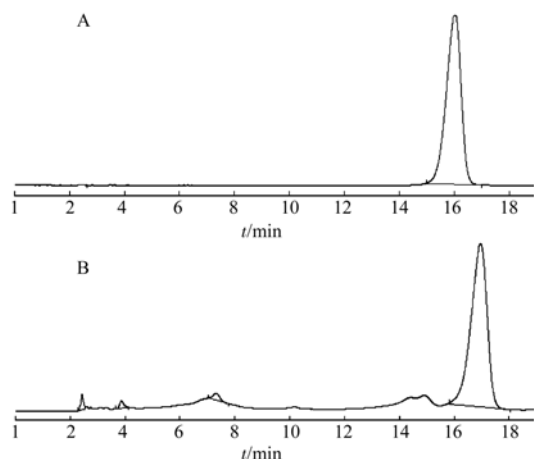


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample

结果显示,在本实验条件下,研究者所采集到的牛蒡子样品中牛蒡苷含量为 $6.19\%(n=3)$,而牛蒡根、牛蒡茎、牛蒡叶中均未检测到牛蒡苷。

3 讨论

本研究利用牛蒡子中总木脂素与牛蒡苷在 280 nm 处均有吸收的特点,以牛蒡苷为对照品,建立了采用紫外分光光度法快速测定牛蒡中主要有效部位总木脂素的方法。结果表明此方法快速、简捷、精密度好、重现性好,且线性范围较宽,操作简单易行。并进一步测定了甘肃临洮产牛蒡

全植物不同部位提取物中总木脂素的含量。实验结果表明,以牛蒡苷计,牛蒡子中总木脂素含量高达 12.27% ,而牛蒡根、牛蒡茎,牛蒡叶中总木脂素的含量均在 6% 。

笔者在研究过程中分别用 80% 乙醇、水、甲醇等对牛蒡子中木脂素进行提取,结果显示甲醇提取物中总木脂素含量最高,故本实验选用甲醇作溶剂进行提取。并进一步通过单因素筛选对比了浸渍、回流、超声等不同提取方法,结果显示超声提取法提取效率高、实验操作简单、节省时间和溶剂,因此最终确定采用 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下超声(150 W , 20 kHz) 30 min 的方法制备样品溶液。

研究测定了牛蒡不同部位甲醇提取物及牛蒡苷对照品的紫外图谱,图谱显示牛蒡不同部位甲醇提取物及牛蒡苷对照品均在 280 nm 处有最大吸收,故在实验中确定以 280 nm 为测定波长。

HPLC 测定牛蒡苷的实验结果,一方面说明牛蒡苷主要集中在牛蒡的种子中(6.19%),而且牛蒡子中总木脂素含量最高(12.27%),进一步证明了传统用药部位的合理性;另一方面结果显示,除牛蒡苷外牛蒡中其他大量木脂素类成分可能也是其主要活性成分,这一点也有相关的研究报道^[1-3]。

牛蒡是药食两用的经济作物,有很好的发展前景和应用价值。甘肃自然条件符合其植物特点,各地均有分布,如能推广种植,可丰富甘肃药材资源,带动地方经济,本研究初步为控制甘肃牛蒡质量提供方法和理论依据。

REFERENCES

- [1] REN C S, ZHU Q L. Study actuality of *Arctium lappa* L [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族医药杂志), 2003(S1): 36-39.
- [2] GONG Y M, LIU L G, SONG K F, et al. Study of the fruits of *Arctium lappa* L [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2005, 17(4): 2-4.
- [3] JIANG S M. Study actuality of *Arctium lappa* L about chemistry component and pharmacology [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2001, 12(10): 941-942.
- [4] DUAN X Y, ZHANG H, ZHANG M Y. Optimizing decoction process for Compound Niubangzi Buccal Tablets and studies on the content changes of arctiin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(6): 499-501.
- [5] YAN T, WANG P Q, GUO W Y. Determination of total lignanoids in Fructus Arctii extract by ultraviolet spectrometry [J]. Liaoning Med Univ(辽宁医学院学报), 2009, 30(1): 63-64.
- [6] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 66.
- [7] OU Z M, CHEN X Y, YING G Q. Determination of arctiin in Lingqiaojiedu pills by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(13): 1204-1206.

收稿日期: 2011-05-02