

# HPLC法测定广升麻植株中不同部位蜕皮甾酮的含量

徐玉琴\*, 王志辉, 周日宝#, 刘湘丹, 王朝晖, 刘芙蓉(湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2147-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.44

**摘要** 目的:建立测定广升麻植株中不同部位蜕皮甾酮含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(46:54, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为248 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。比较广升麻植株不同部位中蜕皮甾酮的含量。结果:蜕皮甾酮的检测进样量线性范围为0.12~1.21 μg;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1.5%;加样回收率为98.4%~101.9%,RSD=1.64(n=6)。广升麻植株根中的蜕皮甾酮含量最高,其次是块茎,茎和叶的含量较低;种子中则不含蜕皮甾酮成分。结论:该方法简便快速、准确性和重复性好,适用于测定广升麻植株中不同部位蜕皮甾酮的含量;且可以将广升麻的药用部位由原来的根扩展为根、花、块茎以及块茎上的芽。

**关键词** 高效液相色谱法;蜕皮甾酮;广升麻;不同部位

## Content Determination of Ecdysterone in Different Parts of *Radix serratulae* by HPLC

XU Yuqin, WANG Zhihui, ZHOU Ribao, LIU Xiangdan, WANG Zhaohui, LIU Xiaorong (School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of ecdysterone in different parts of *Radix serratulae*. METHODS: HPLC was performed on the column of ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water at a flow rate of 1.0 ml/min(46:54, V/V), detection wavelength was 248 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. Compare the contents of ecdysterone in different parts of *R. serratulae*. RESULTS: The linear range of ecdysterone was 0.12-1.21 μg; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.5%; recovery was 98.4%-101.9% (RSD=1.64, n=6). The content of ecdysterone in roots was found at the highest level, followed by tubers, and lower in stems and leaves, and it was not detected in seeds. CONCLUSIONS: The method is simple and rapid with good accuracy and reproducibility, and suitable for the content determination of ecdysterone in different parts of *R. serratulae*. It is feasible to develop the medicinal parts of *R. serratulae* from roots to roots, flowers, tubers and buds on tubers.

**KEYWORDS** HPLC; Ecdysterone; *Radix serratulae*; Different parts

广升麻(*Radix serratulae* Chinensis)别名蓝肉升麻,为菊科植物麻花头的干燥块根;其味辛甘,性苦寒,归肺、胃经。具有散风透疹、清热解毒、升阳举陷的功效,主治麻疹、斑疹不透、久泻脱肛、子宫脱垂以及风热引起的牙痛、胃火牙痛、头痛、咽喉肿痛等,也可用于治疗肺热咳嗽<sup>[1-4]</sup>。其主要分布于广东、广西、福建、湖南、江西、浙江、安徽等地。广升麻中化学成分较多,包括蜕皮甾酮类成分<sup>[5-7]</sup>、神经酰胺类化合物<sup>[8]</sup>、挥发油<sup>[9]</sup>、脑苷脂<sup>[10]</sup>等。现代药理研究表明,广升麻根部药用部位主要有降低胆固醇<sup>[11]</sup>和治疗脑血管疾病的作用,此作用与其含有的蜕皮甾酮(Ecdysterone)类成分有关<sup>[12-13]</sup>。蜕皮甾酮是一种昆虫蜕皮活性的天然甾体化合物,能促进蛋白质的合成,具有抗脂质过氧化、抗内皮细胞损伤、调节基因表达、降低胆固醇等作用<sup>[14-15]</sup>。

广升麻治疗脑缺血以及脑缺氧的效果尤为显著,随着心脑血管疾病发病率的增加,导致广升麻的市场需求量日趋增大,加之其野生资源日趋减少,人工种植广升麻已供不应求。

\* 硕士研究生。研究方向:中药资源与质量。E-mail:441311347@qq.com

# 通信作者:教授,博士。研究方向:中药资源与质量。E-mail:13973134355@139.com

笔者于种植基地了解到,在广升麻药材的采收期间整个植株只收取其根部,其他部分全部丢掉,这就造成了植株的浪费。因此,本试验采用高效液相色谱(HPLC)法测定并比较广升麻植株不同部位中蜕皮甾酮的含量,拟找到新的药用部位,为合理利用广升麻植株提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260 Infinity型HPLC仪,包括G4212A型紫外检测器、G4220A型二元泵、G1316C型色谱工作站和手动进样器(美国Agilent公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz);DK-98-1型数显电热水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);FW177型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂);FA1004型万分之一分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);JA21002型百分之一精密电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

蜕皮甾酮对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号: MUST-12122111,纯度>98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水(经0.45 μm微孔滤膜滤过,再超声处理15

min)。

### 1.3 药材

广升麻全株(按不同植株分类,编号:S1、S2、S3)采自郴州市汝城县广升麻种植基地,经湖南中医药大学周日宝教授鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(46:54, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:248 nm;柱温:30 °C;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取蜕皮甾酮对照品 12 mg,置于 50 ml 棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀;用移液管量取 5 ml,置于 10 ml 棕色量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成质量浓度为 121 μg/ml 的对照品溶液,并置于 4 °C 冰箱中避光保存。

2.2.2 供试品溶液 将广升麻的根、块茎、茎、叶、种子分别烘干,并用粉碎机粉碎,过 60 目筛。取各部位粉碎样品约 0.5 g,精密称定,分别置于 250 ml 圆底烧瓶中,加甲醇 50 ml,称定质量,加热回流提取 60 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量。取适量的提取液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液,置于 4 °C 冰箱中避光保存。

2.2.3 阴性对照溶液 取甲醇溶液适量,作为阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、根的供试品溶液和阴性对照品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。由图 1 可知,在该色谱条件下,蜕皮甾酮与其他峰均能达到基线分离,分离度 > 1.5,理论板数以蜕皮甾酮峰计为 6 686,保留时间为 7.477 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得蜕皮甾酮的回归方程为  $y = 1399.7x - 8.9444$  ( $r = 0.9998$ )。结果表明,蜕皮甾酮的检测进样量线性范围为 0.12~1.21 μg。

### 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 10 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,蜕皮甾酮峰面积的 RSD = 0.94% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一根的供试品溶液(编号:S1)适量,分别于放置 0、4、8、10、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,蜕皮甾酮峰面积的 RSD = 1.22% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

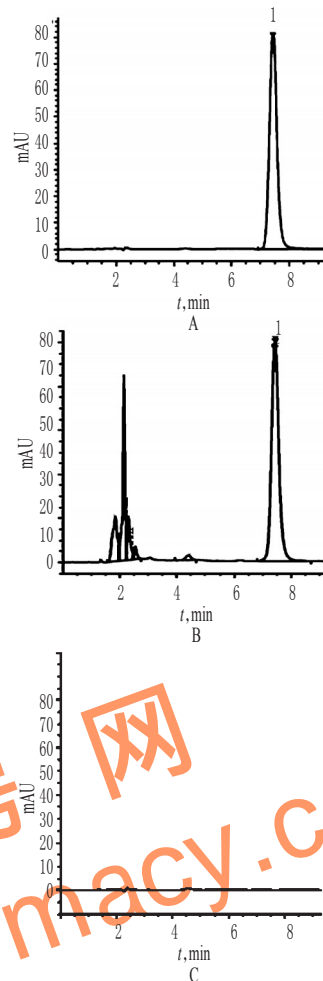


图 1 高效液相色谱图

A.对照品;B.广升麻根供试品;C.阴性对照;1.蜕皮甾酮

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance;B.the root of *R. serratulae* test sample;C.negative control;1.ecdyserone

### 2.7 重复性试验

取同一样品(编号:S1)的根,按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果,蜕皮甾酮的平均含量为 0.64%,RSD = 0.96% ( $n = 6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量样品(编号:S1)根的粉末 0.5 g,共 6 份,置于 50 ml 棕色量瓶中,分别加入“2.2.1”项下对照品溶液 10 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表 1。

### 2.9 样品含量测定

取 3 个编号的样品各适量,将不同部位样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表 2。

## 3 讨论

### 3.1 不同部位中蜕皮甾酮的含量比较

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )Tab 1 Results of recovery test( $n=6$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.505	2.42	4.893	98.7		
2.505	2.42	4.886	98.4		
2.506	2.42	4.974	101.9	100.1	1.64
2.506	2.42	4.957	101.2		
2.504	2.42	4.962	101.5		
2.505	2.42	4.889	98.6		

表2 样品含量测定结果( $n=3$ ,%)Tab 2 Results of content determination of sample( $n=3$ ,%)

编号	根	块茎	茎	叶	种子
S1	0.76	0.71	0.07	0.03	
S2	1.10	0.69	0.03		
S3	0.91	0.73	0.03	0.07	

由表2结果可知,蜕皮甾酮在广升麻植株根中的含量最高,平均达到了0.92%,其次是块茎,而在茎和叶中的含量相对较低,在种子中则没有检测到蜕皮甾酮。这为广升麻传统上用地下部分的块根入药的用药习惯<sup>[1-3]</sup>提供了依据。

广升麻一般采用块茎进行分蘖无性繁殖,但多次利用同一块茎进行分蘖无性繁殖会影响药材的产量和品质,所以生产上常通过有性繁殖重新生产块茎进行更新。本试验研究表明,块茎中蜕皮甾酮平均含量为0.71%,因此被多次用于分蘖无性繁殖的块茎也可作为提取蜕皮甾酮的原料。

### 3.2 其他相关研究

为了确保药用部位(根)的产量,广升麻在人工栽培中,生产上要求摘除花蕾,摘下的大量花蕾往往被丢弃。笔者测定了不同花期(花蕾、盛开的花、枯萎花)中蜕皮甾酮的含量。结果显示,花蕾中蜕皮甾酮平均含量达到0.76%,盛开的花为0.70%,枯萎花最高,达到了0.82%,三者蜕皮甾酮的含量均较高。因此,可以考虑将花作为提取蜕皮甾酮的原料。

广升麻在采收加工时,多除去芦头及须根(细根),而广升麻细根数量多,相对产量较大。笔者根据药材商品等级,将广升麻的根分为粗、中、细3种规格[粗:直径( $d$ ) $>6$  mm,中: $2$  mm $<d<6$  mm,细: $d<2$  mm],对不同粗细的根以及根的皮部、木部中蜕皮甾酮的含量做了比较。结果显示,细根中蜕皮甾酮平均含量达到0.73%,其含量也较高;而且根的皮部与木部蜕皮甾酮含量无明显差异。因此,也可考虑将细根收集起来,作为提取蜕皮甾酮的原料。另外,经研究表明,块茎上的芽蜕皮甾酮平均含量为1.00%,高于根的平均含量。

综上所述,本方法简便快速、准确性和重复性好,适用于测定广升麻植株中不同部位蜕皮甾酮的含量;且可以将广升

麻的药用部位由原来的根扩展为根、花、块茎以及块茎上的芽。

### 参考文献

- [1] 蔡巧燕,曾建伟,林珊,等.广升麻质量标准研究[J].福建中医药大学学报,2011,21(4):38.
- [2] 吴征镒.新华本草纲要[M].上海:上海科学技术出版社,1990:462.
- [3] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,1997:234.
- [4] 李毅然,陈玉萍,黄艳,等.升麻与广升麻挥发油成分的GC-MS分析[J].广西中医药,2012,35(4):56.
- [5] 黄驰.广升麻的提取物、其制备方法及应用:中国,200410014710.6[P]. 2006-03-22.
- [6] 凌铁军,马文哲,魏孝义.华麻花头根中的蜕皮甾酮类成分[J].热带亚热带植物学报,2003,11(2):143.
- [7] 唐海蛟,范春林,王贵阳,等.广升麻的化学成分研究[J].中草药,2014,45(7):906.
- [8] 凌铁军,吴萍,刘梅芳,等.华麻花头根中的神经酰胺成分[J].热带亚热带植物学报,2005,13(5):403.
- [9] Ling TJ, Xia T, Wan XC, et al. Cerebrosides from the Roots of *Serratula chinensis*[J]. *Molecules*, 2006, 11(9): 677.
- [10] 叶华,周瑾,张文清.广东升麻挥发油的GC-MS联用分析[J].福建中医药,2006,37(3):50.
- [11] 夏西超,张庆远,梁桂娜,等.20羟基蜕皮甾酮对大鼠糖尿病心肌病的保护作用[J].中华老年心脑血管病杂志,2013,15(4):412.
- [12] 罗春霞,张映琦,迟路湘,等.蜕皮甾酮对大鼠局灶性脑梗死的保护作用及机制初探[J].西南国防医药,2009,19(2):176.
- [13] 王洪明,陈炜,刘冬洁,等.HPLC测定牛膝和决津颗粒中 $\beta$ -蜕皮甾酮的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(9):122.
- [14] 王刚涛,张旭辉,张卫东,等.蜕皮甾酮对脂多糖诱导兔软骨细胞损伤的保护作用[J].天津医药,2015,43(6):587.
- [15] 朱玉霞,孙丽莎,杨娇,等.蜕皮甾酮对2型糖尿病大鼠肝细胞IRS-2蛋白表达的影响[J].山东医药,2014,54(33):10.

(收稿日期:2015-05-20 修回日期:2016-03-12)

(编辑:刘柳)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,欢迎投稿、订阅