

酒制川麦冬的特征成分变化及含量测定

焦 艳 谢世静 吴 爽 于 娜

(沧州医学高等专科学校, 沧州, 061001)

摘要 目的:研究川麦冬酒制前后化学成分的变化,建立酒制川麦冬中甲基麦冬黄烷酮 A 的含量测定方法。方法:取川麦冬生品和酒制品,用水提取,将提取液进行高效液相色谱分析, Waters Symmetry C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相:乙腈-0.2% 磷酸水梯度洗脱;检测波长:296 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL。比较川麦冬生品和酒制品的色谱图。结果:以进样浓度为横坐标,色谱峰面积的积分值为纵坐标,绘制标准曲线,计算得甲基麦冬黄烷酮 A 的回归方程为 $Y = 15828\rho + 42675$, $r = 0.9998$, 线性范围为 4.25 ~ 42.5 μg/mL。甲基麦冬黄烷酮 A 峰面积的 RSD 值为 0.85%。表明该测定方法精密度良好。测得甲基麦冬黄烷酮 A 含量的 RSD 值为 0.67%, 结果表明该方法重复性良好。甲基麦冬黄烷酮 A 的平均回收率为 97.31% (RSD 1.54%)。加样回收率在 95% ~ 105% 范围内,符合要求。川麦冬经酒制后甲基麦冬黄烷酮 A、甲基麦冬黄烷酮 B 的含量明显提高。酒制品川麦冬化学成分发生了明显的量和质的变化。结论:川麦冬酒制品药性的显著变化正是其化学成分整体变化所导致的,有效成分整体增加,为麦冬的质量评价提供理论依据。

关键词 川麦冬; HPLC; 化学成分; 甲基麦冬黄烷酮 A

Composition Changes in Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber After Being Made by Wine and Determination of the Contents

Jiao Yan, Xie Shijing, Wu Shuang, Yu Na

(Cangzhou Medical College in Hebei Province, Cangzhou 061001, China)

Abstract Objective: To study the overall change of chemical composition in Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber after being made by wine so as to establish a method for determination of the content of methyl lophiopogonanone A in wine made Sichuan Radix. **Methods:** Fresh Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber and wine made Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber were taken to make liquid extraction by water. After that, the extraction was analyzed by HPLC, Waters Symmetry C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); the acetonitrile-0.2% Phosphoric acid water was used as the mobile phase; the column temperature was 30 ℃; the detection wavelength was set at 296 nm; Flow rate: 1.0 mL · min⁻¹; injection volume: 20 μL. **Results:** The standard curve was drafted with sample concentration as abscissa, and chromatographic peak area value of the vertical axis. The regression equation of methyl Radix flavanones A was calculated as $Y = 15828\rho + 42675$, $r = 0.9998$, with the linear range of 4.25 ~ 42.5 μg · mL⁻¹. RSD of Methyl Radix flavanones A peak area was 0.85%, which showed that the methods had good precision. Reproducibility experiment showed the RSD of Methyl lophiopogonanone A content was 0.67%, which showed good reproducibility. The average recovery of methyl Methyl lophiopogonanone A was 97.31% (RSD 1.54%), with the range of 95% ~ 105%. It met the requirement. Comparative analysis of the chemical composition showed that the content of Methyl lophiopogonanone A and B in Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber improved significantly after being made by wine. Chemical composition of the wine made Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber undergone significant changes in the quantity and quality. **Conclusion:** Wine made Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber showed significant changes in the chemical composition because its overall changes of chemical composition and increase in active ingredients, which provides a theoretical basis for quality evaluation of Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber.

Key Words Sichuan Dwarf Lilyturf Tuber; HPLC; Chemical composition; Methyl lophiopogonanone A

中图分类号: R284.1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.09.062

麦冬为百合科植物麦冬 (*Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl.) 的干燥块根^[1]。始载于《神农本草经》,列为上品,历代本草都有记载,亦是历版《中国药典》收录的品种。根据产地命名,产于浙江的麦冬为杭麦冬(浙麦冬),产于四川的麦冬为川麦

冬。传统炮制方法中包括炒制、朱砂拌、酒制等,其中酒制可以降低药物寒性,提高滋补效果^[2-3]。《本草从新》中记载:“入滋补药,酒润制其寒”,民间多制麦冬酒作保健之用,临床上也有相关使用。具有养阴生津,润肺清心之功效,临床上常用于肺燥干

咳,虚劳咳嗽,津伤口渴,心烦失眠,内热消渴,肠燥便秘等病症^[4-6]。麦冬药材主要含甾体皂苷类、高异黄酮类和糖类化合物^[7-9]。本研究以川麦冬为例,采用高效液相色谱法来分析研究酒制后整体化学组分的变化,建立药材指标性成分甲基麦冬黄烷酮 A 的含量测定方法,从而为中药炮制品的临床应用奠定理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 FA-2004 型电子分析天平, Waters 2489 型高效液相色谱系统(美国 Waters 公司),配置四元梯度泵, UV/Visible 检测器; Waters Symmetry C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱; BS124S 型电子分析天平;微量进样器; KH-3200DB 型超声波清洗仪。甲基麦冬黄烷酮 A、甲基麦冬黄烷酮 B、6-醛基异麦冬黄烷酮 A 对照品(供含量测定用,批号 110245-201105),均购于中国药品生物制品检定所;乙腈为色谱纯(天津市光复精细化工研究所);所用药材生品川麦冬购于沧州同仁堂药店,经过我系于永军老师鉴定为正品,其中酒制品川麦冬是其按照新版中药炮制标准制备得到。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈(A) - 0.2% 磷酸水(B)为溶剂系统,梯度洗脱。见表 1。柱温 30℃,流速 1.0 mL/min,检测波长为 296 nm。进样量 20 μL。

表 1 液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A 乙腈 (%)	B 0.2% 磷酸水 (%)
0	5	95
5	5	95
22	25	75
50	65	35
55	65	35
60	5	95

1.2.2 溶液的制备

1.2.2.1 供试品溶液的制备 取生品川麦冬粉末,采用水提法进行提取,浸膏进行低温干燥,得到的粉末(过三号筛)约 5.0 g,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,期间振摇数次,微孔滤膜滤过,制得供试品溶液 1;取酒制川麦冬粉末,采用水提法进行提取,浸膏进行低温干燥,得到的粉末(过三号筛)约 5.0 g,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,期间振摇数次,微孔滤膜滤过,制得供试品溶液 2。将上述 1、2 号样品依次注入高效液相色谱仪,得色谱图 1 和色谱图 2。

1.2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取对照

品甲基麦冬黄烷酮 A、甲基麦冬黄烷酮 B、6-醛基异麦冬黄烷酮 A 适量,加甲醇溶解,分别制成每 1 mL 含甲基麦冬黄烷酮 A 0.0425 mg、甲基麦冬黄烷酮 B 0.0431 mg、6-醛基异麦冬黄烷酮 A 0.0424 mg 的 3 种对照品溶液。将对照品溶液,依照上述色谱条件进行高效液相色谱分析,得对照品色谱图 3、图 4、图 5。

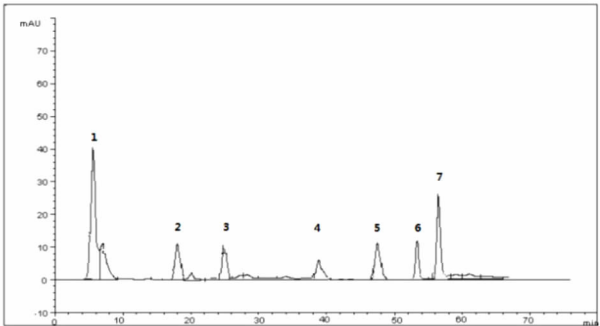


图 1 生品川麦冬 HPLC 图

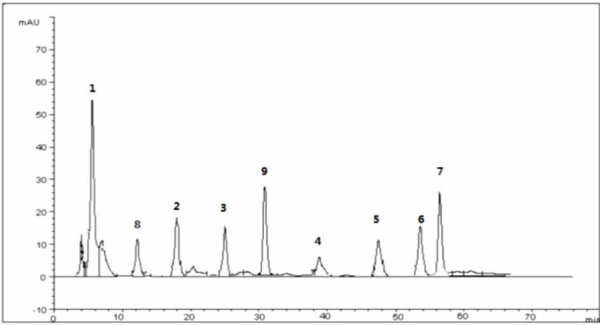


图 2 酒制川麦冬 HPLC 图

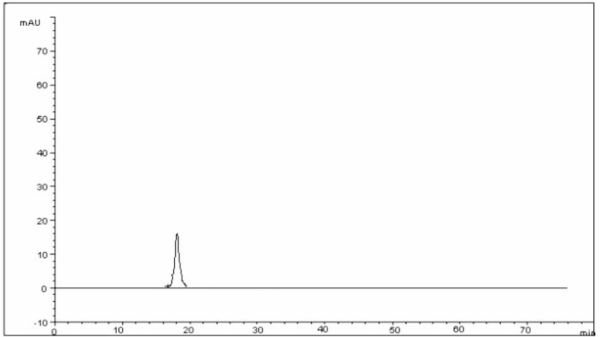


图 3 甲基麦冬黄烷酮 A 对照品 HPLC 图

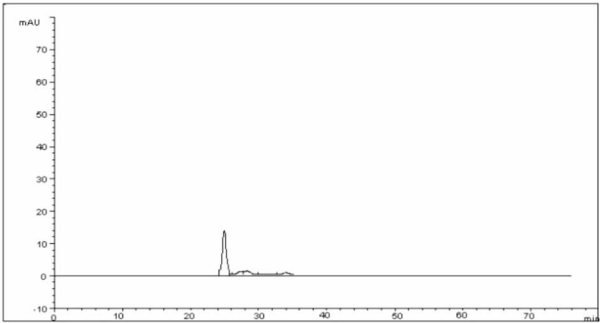


图 4 甲基麦冬黄烷酮 B 对照品 HPLC 图

1.2.3 线性关系 精密吸取上述甲基麦冬黄烷酮 A 对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μL , 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定色谱峰面积, 以进样浓度为横座标, 色谱峰面积的积分值为纵座标, 绘制标准曲线, 计算得甲基麦冬黄烷酮 A 的回归方程为 $Y = 15828\rho + 42675$, $r = 0.9998$, 线性范围为 4.25 ~ 42.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

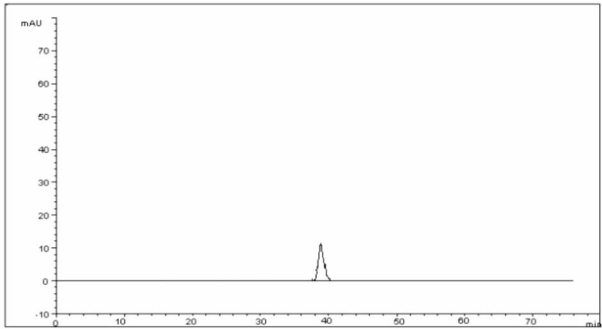


图5 6-醛基异麦冬黄烷酮 A 对照品 HPLC 图

1.2.4 精密度试验 精密量取上述对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 20 μL , 测定峰面积积分值。结果测得甲基麦冬黄烷酮 A 峰面积的 RSD 值为 0.85%。表明该测定方法精密度良好。

1.2.5 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μL , 分别于配制后 0、2、4、8、16、24 h 进样, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。测得甲基麦冬黄烷酮 A 峰面积的 RSD 值为 0.84%。

1.2.6 重复性试验 取同一种酒制川麦冬样品, 按含量测定项下的方法操作, 平行 6 份, 按上述色谱条件测定含量。测得甲基麦冬黄烷酮 A 含量的 RSD 值为 0.67%, 结果表明该方法重复性良好。

1.2.7 加样回收率试验及样品含量测定 取已知含量的酒制川麦冬样品 6 份, 精密测定, 精密填加同量的甲基麦冬黄烷酮 A 对照品适量, 按含量测定方法操作, 计算回收率, 结果甲基麦冬黄烷酮 A 的平均回收率为 97.31% (RSD 1.54%)。加样回收率在 95% ~ 105% 范围内, 符合要求。测定结果见表 2。

2 结果

2.1 线性关系 计算得甲基麦冬黄烷酮 A 的回归方程为 $Y = 15828\rho + 42675$, $r = 0.9998$, 线性范围为 4.25 ~ 42.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 精密度试验 结果测得甲基麦冬黄烷酮 A 峰面积的 RSD 值为 0.85%。表明该测定方法精密度良好。

2.3 稳定性试验 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。测得甲基麦冬黄烷酮 A 峰面积的 RSD 值为 0.84%。

2.4 重复性试验 测得甲基麦冬黄烷酮 A 含量的 RSD 值为 0.67%, 结果表明该方法重复性良好。

2.5 加样回收率试验及样品含量测定

表2 酒制川麦冬中甲基麦冬黄烷酮 A 的回收率

样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.0467	0.0887	95.67	97.31	1.54
0.0461	0.0879	95.22		
0.0423	0.0855	98.41		
0.0427	0.0861	98.86		
0.0460	0.0887	97.27		
0.0398	0.0830	98.41		

注:加入量均为 0.0439 mg。

表3 样品含量测定结果($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

	甲基麦冬黄烷酮 A		
	含量 1	含量 2	平均含量
川麦冬酒制品	0.0467	0.0461	0.0464

2.6 酒制品川麦冬与生品川麦冬化学成分的比较分析 仔细对比图 1 生品川麦冬与图 2 酒制川麦冬的 HPLC 图, 结合紫外线吸收数据, 最终确认, 5.448 min 与 5.439 min, 18.140 min 与 18.135 min, 24.922 min 与 24.947 min, 53.656 min 与 53.644 min 分别对应同一物质, 只是这 4 种物质在图 1 中对应吸收峰面积较图 2 中明显减小; 38.535 min 与 38.540 min, 47.450 min 与 47.425 min, 56.208 min 与 56.189 min 对应同一物质, 这 3 种物质在图 1、图 2 中峰面积差别不大; 同时, 认真比对图 1 中各吸收峰的紫外线吸收数据, 我们发现, 在图 2 中出现了 12.147 min、30.775 min 处的吸收峰。

对比川麦冬对照品的 HPLC 图(图 3、4、5), 结合紫外光谱数据, 可确定色谱图 1 中保留时间为 18.140 min, 图 2 中 18.135 min 处的吸收峰即为甲基麦冬黄烷酮 A 的吸收峰; 图 1 中保留时间为 24.922 min, 图 2 中 24.947 min 处的吸收峰即为甲基麦冬黄烷酮 B 的吸收峰; 图 1 中保留时间为 38.535 min, 图 2 中 38.540 min 处的吸收峰即为 6-醛基异麦冬黄烷酮 A 的吸收峰; 图 1 的川麦冬经酒制后甲基麦冬黄烷酮 A、甲基麦冬黄烷酮 B 的含量明显提高。

辅料黄酒中含有的一些物质也有色谱峰出现, 可能会影响到结果的判断, 因此在上述数据分析中均已除去了其对应的色谱峰影响。

3 讨论

麦冬药材中, 甲基麦冬黄烷酮 A 虽然含量不高, 但是其具有许多重要的药理活性^[10], 是麦冬质量控

制的重要指标之一,研究其含量测定方法,有助于完善麦冬药材及制剂的质量控制方法,有一定的应用价值^[11-13]。在对供试品溶液进行色谱条件摸索时,在 190~400 nm 进行全波长扫描,其中 296 nm 波长下检测色谱峰效果最好,因此选 296 nm 为检测波长。本实验比较了甲醇-0.03% 磷酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.2% 磷酸水溶液 3 种不同的梯度洗脱溶剂系统,以乙腈-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱溶剂系统所得图谱的峰形较好、分离度良好,所以选用乙腈-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱溶剂系统为本实验的流动相系统。

通过上述数据分析,清楚了川麦冬经炮制后内部化学成分的显著变化,酒制川麦冬样品中有 4 种物质的含量显著增加,有 2 种新成分产生。样品中各成分含量的增加,可能是酒制过程使有效成分溶解度变大,导致溶出量增多。但对于其他成分的具体变化情况,还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:144-145.
- [2] 谢培山. 中医药传统文化与现代质量控制[J]. 中国中西医结合杂志,1998,18(11):645.

(上接第 1884 页)

量,云南、贵州和甘肃产药材的含量分别为 5.55%、1.98% 和 1.96%,根据 2010 版《中国药典》规定,珠子参中含竹节参皂苷 IVa 不得少于 3.0%,结果表明,除云南产药材外,其余两批药材质量均未达到标准。

5 讨论

实验结果表明,云南、贵州和甘肃所产珠子参药材从性状在形状、表面颜色上差别较大,不同产地珠子参显微特征的差异主要体现在木质部所占的面积和草酸钙簇晶数量,其中甘肃产药材约占横切片的 1/2~2/3;草酸钙簇晶较多。

3 个产地的竹节参药材薄层色谱图无明显差异,但竹节参皂苷 IVa 的含量差异较大,其中以云南产药材含量较高,质量较好。珠子参在我国民间药用历史悠久,长期以来主要依赖于野生资源,随着资源的枯竭,近年来,在云南、贵州等地区开始人工栽培^[11],目前市场上,不同产地以及野生和栽培药材品种并存,亟需对药材质量进行控制,以有效地利用和开发该药材。

参考文献

- [1] 云南中草药整理组. 实用中草药随身手册—云南中草药[M]. 云

- [3] 姜宇,段昌令,柴兴云,等. 麦冬须根化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(11):1111-1114.
- [4] 夏道宗,于新芬,等. 麦冬总黄酮提取的响应面法优化及抗氧化性研究[J]. 中华中医药杂志,2009,24(12):1629-1632.
- [5] 陈有根,郭国庆,戴俊东,等. 麦冬指纹图谱研究[J]. 中国中医药信息杂志,2008,15(4):57.
- [6] 陈有根,戴俊东,古海峰. 麦冬药材及其提取物中甲基麦冬黄酮 A 和 B 的 HPLC 法测定[J]. 中草药,2007,38(11):1640-1643.
- [7] 林晓,周强峰,徐德生. 麦冬药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志,2004,38(6):59.
- [8] 田友清,余伯阳,寇俊萍. 麦冬药理研究进展[J]. 中国医学生物技术应用杂志,2002,78(5):1.
- [9] 尤洁. 麦冬的药理作用与临床应用进展[J]. 菏泽医学专科学校学报,2011,23(1):71-73.
- [10] 曾品涛,周慧,郑一敏,等. HPLC 同时测定麦冬中 3 种高异黄酮含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(1):71-74.
- [11] 童菊华,庞小存,王威,等. 杭麦冬与川麦冬中高异黄酮类成分和抗氧化活性的比较[J]. 中草药,2015,46(20):3091-3095.
- [12] 车晓彦,伍丕娥,周娟,等. 麦冬药材 TLC 及 HPLC 特征图谱研究[J]. 药物分析杂志,2012,32(12):2262-2266.
- [13] 焦艳,李喆,刘清新,等. 麦冬酒制前后对内皮细胞缺氧保护作用的比较研究[J]. 环球中医药,2014,7(2):110-112.

(2016-01-08 收稿 责任编辑:张文婷)

南:云南人民出版社,2011:284.

- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:254-255.
- [3] 段径云,陈瑞明. 珠子参对血液和造血功能的影响[J]. 西北药学杂志,1996,11(2):72-73.
- [4] 朱新华,后文俊,李存德. 珠子参总皂甙对脾细胞增殖效应影响的研究[J]. 昆明医学院学报,1994,15(1):65-67.
- [5] 贺海波,石孟琼,陈涛,等. 珠子参水提物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 第三军医大学学报,2010,32(20):2224-2227.
- [6] 赵仁,赵毅,李东明,等. 珠子参研究进展[J]. 中国现代中药,2008,10(7):3-6.
- [7] 刘爱华,石孟琼,杨文雁,等. 珠子参总皂苷对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2013,18(11):1224-1232.
- [8] Zhang S, Wang R, Zeng W, et al. Resource investigation of traditional medicinal plant *Panax japonicus* (T. Nees) C. A. Mey and its varieties in China[J]. J Ethnopharmacol, 2015(166):79-85.
- [9] 兰茂著,于乃义,于兰馥. 《滇南本草》[M]. 云南:云南科技出版社,2004:513-514.
- [10] 张志清,曹蕾,宋亮,等. 珠子参类药物历史沿革与应用展望[J]. 云南中医中药杂志,2012,33(9):68-71.
- [11] 赵毅,赵仁,宋亮,等. 珠子参药材品种概述及资源现状调查[J]. 中国现代中药,2011,13(1):11-17.

(2016-01-22 收稿 责任编辑:张文婷)