

不同产地知母须根中3个吡啶类成分含量测定

贾鹏晖¹, 黄琪¹, 许凤清¹, 金传山^{1,2}, 王培¹, 马凯³, 穆凤扬³, 吴德玲^{1,2}

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽省现代中药重点实验室, 安徽 合肥 230012; 3. 亳州市永刚饮片厂有限公司, 安徽 亳州 236800)

[摘要]目的 测定不同产地知母须根中新芒果苷、芒果苷和异芒果苷的含量。方法 采用高效液相二极管阵列检测法, Shim-pack 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 乙腈-0.4%冰醋酸水溶液梯度洗脱, 流速1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 检测波长为 258 nm。结果 所收集的知母须根样品中新芒果苷的含量为 1.2%~1.9%, 芒果苷的含量为 1.0%~1.6%, 异芒果苷的含量为 0.4%~0.6%。结论 知母须根中吡啶类成分含量较高, 在知母须根的综合开发利用中可考虑此类成分。

[关键词]产地; 知母须根; 吡啶; 含量测定

[中图分类号]R927.2 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2018.02.025

知母为百合科植物知母(*Anemarrhena asphodeloides* Bge.)的干燥根茎, 具有清热泻火、滋阴润燥等功效^[1]。知母主产于河北、安徽等地, 其中河北为知母的道地产区, 安徽知母栽培面积每年维持在5万亩左右, 是知母主产地之一。知母须根较为发达, 占根茎总量的20%~30%, 而在知母产地加工过程中, 须根作为非药用部位予以去除, 大量的须根被丢弃, 造成了巨大的资源浪费和环境污染。有研究表明, 知母须根的主要化学成分与主根基本相同, 且与主根在抗炎、抗菌解热及降血糖方面具有相当作用^[2-3]。新芒果苷、芒果苷、异芒果苷为知母中主要吡啶类成分, 其中新芒果苷与芒果苷均具有抗炎抗哮喘作用^[4], 芒果苷还具有降血糖^[5-6], 抗菌^[7]及抗氧化^[8]的作用, 异芒果苷可以通过调节在游离脂肪酸吸收和脂质氧化上的基因表达水平, 从而改善非酒精性脂肪肝^[9]。知母吡啶类成分的含量测定一般选用紫外检测法, 宋泽璧等^[10]用高效液相紫外检测法测定盐炙前后知母中新芒果苷、芒果苷和异芒果苷的成分差异, 刘敏等^[11]用相同的分析方法考察炮制前后知母中新芒果苷与芒果苷的含量变化。本研究以知母须根为研究对象, 采用高效液相二极管阵列检测法(high-performance liquid chromatography-diode array detection, HPLC-DAD)测定知母须根中新芒果苷、芒果苷及异芒果苷的含量, 为知母须根的后续研究及其综合利用提

供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 SHIMADZU LC-15C 高效液相色谱仪; SHIMADZU LC-15C 二元泵; SHIMADZUS SPD-15C 检测器; Lab Solutions 色谱工作站; 万分之一电子天平(FA2004型, 上海精科); 超声清洗仪(AS5150A型, Autoscience公司); A10 一体式超纯水机(美国Milipore公司)。

1.2 试剂 新芒果苷(批号64809-67-2)、芒果苷(批号111607-200402)、异芒果苷(批号24699-16-9)均购于上海海灿生物科技有限公司, 纯度均大于98%; 乙腈(色谱纯); Fisher; 冰醋酸(分析纯); 天津市富宇精细化工有限公司; 超纯水为实验室自制。知母须根采自安徽省亳州市、河北省安国市、易县等地区, 由安徽中医药大学刘守金教授鉴定为百合科植物知母(*Anemarrhena asphodeloides* Bge.)的须根。

2 方法和结果

2.1 3个黄酮苷的含量测定

2.1.1 色谱条件 Shim-pack 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.4%冰醋酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~5 min, 10% A; 5~15 min, 10%~12% A; 15~25 min, 12%~20% A; 25~30 min, 20%~10% A; 30~35 min, 10% A), 流速1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 检测波长为 258 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 取新芒果苷、芒果苷及异芒果苷对照品适量置容量瓶中, 用50%甲醇溶解, 制成新芒果苷0.53 mg/mL, 芒果苷0.44 mg/mL, 异芒果苷0.093 mg/mL的混合对照品溶液, 于4 °C冰箱储存, 备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取知母须根粉末(60目)0.1 g, 精密加入50%甲醇25 mL, 称定质

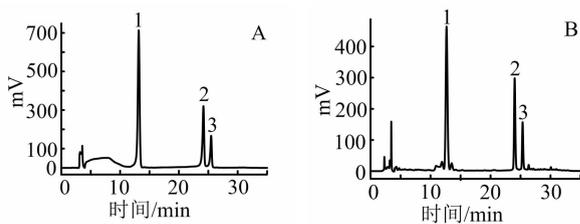
基金项目: 中医药行业科研专项项目(201507002-18); 安徽省高校科研创新平台团队(中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队)建设项目(2015TS035); 安徽省科技攻关项目(150104117)

作者简介: 贾鹏晖(1992-), 男, 硕士研究生

通信作者: 吴德玲, dlwu7375@sina.com

量,超声(功率400 W,频率40 kHz)提取30 min,放冷后用提取溶剂补足减失的质量。过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密移取上述混合对照品溶液5 mL,加50%甲醇定容至10 mL量瓶中作为母液。并将母液分别按2、4、5、8、20倍依次稀释,得到系列混合对照品。分别吸取按不同倍数稀释的对照品溶液20 μL,注入高效液相色谱仪,依“2.1.1”项下色谱条件测定。以各对照品进样质量(X)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得到新芒果苷、芒果苷和异芒果苷的回归方程。新芒果苷: $Y=2\ 984\ 605.79X-113\ 272.73$, $r=0.999\ 9$ ($n=6$);芒果苷: $Y=3\ 939\ 885.24X-267\ 336.7$, $r=0.999\ 8$ ($n=6$);异芒果苷: $Y=3\ 590\ 453.43X-30\ 891.17$, $r=0.999\ 9$ ($n=6$),结果表明新芒果苷、芒果苷、异芒果苷分别在0.26~5.25 μg、0.22~4.35 μg、0.046~0.930 μg范围内与峰面积线性关系良好,高效液相色谱图见图1。



注:1.新芒果苷;2.芒果苷;3.异芒果苷

图1 混合对照品(A)和知母须根(B)高效液相色谱图谱

2.1.5 精密度试验 取混合对照品溶液,精密吸取对照品溶液20 μL,重复进样6次,测定新芒果苷、芒果苷、异芒果苷峰面积,计算得其RSD值分别为2.45%、2.64%、2.89%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于0、2、4、6、8、12 h进样,进样量20 μL,按上述色谱条件测定新芒果苷、芒果苷、异芒果苷峰面积,计算得其RSD值分别为0.63%、0.84%、1.27%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.1.7 重复性试验 取同一批样品(S-1)的须根粉末6份,按“2.1.3”方法制备6份供试品溶液,精确吸取20 μL,按上述色谱条件测定芒果苷、新芒果苷、异芒果苷含量,新芒果苷、芒果苷、异芒果苷的平均含量分别为1.84%、1.53%、0.56%,RSD分别为1.74%、1.39%、2.89%($n=6$),说明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称量样品(S-1)的须根粉末6份,每份约0.05 g,分别精密加入等量新芒果苷、芒果苷、异芒果苷对照品,按“2.2.3”方法制备

供试液,在上述色谱条件下依次进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验

成分	编号	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
新芒果苷	1	0.924	0.92	1.836	99.13	99.20	1.90
	2	0.918	0.92	1.822	98.26		
	3	0.915	0.92	1.861	102.83		
	4	0.923	0.92	1.833	98.91		
	5	0.922	0.92	1.818	97.39		
	6	0.916	0.92	1.824	98.70		
芒果苷	1	0.759	0.77	1.532	100.39	99.16	1.54
	2	0.771	0.77	1.527	98.18		
	3	0.763	0.77	1.522	98.57		
	4	0.766	0.77	1.549	101.69		
	5	0.763	0.77	1.517	97.92		
	6	0.768	0.77	1.524	98.18		
异芒果苷	1	0.279	0.27	0.541	97.04	98.71	2.13
	2	0.282	0.27	0.549	98.89		
	3	0.279	0.27	0.548	99.63		
	4	0.278	0.27	0.538	96.30		
	5	0.280	0.27	0.556	102.22		
	6	0.278	0.27	0.543	98.15		

2.2 样品含量测定 实验收集了11批知母须根样品,样品来源于知母主产区安徽亳州,河北安国、易县,并在相同的条件下处理,取知母须根药材粉末(60目),采用上述条件及方法对样品中新芒果苷、芒果苷及异芒果苷进行含量测定,结果见表2。

表2 不同产地知母须根中3种吡啶类成分含量测定

编号	产地	样品水分/%	新芒果苷/%	芒果苷/%	异芒果苷/%
S-1	亳州十九里镇马寨村	6.24	1.84	1.53	0.56
S-2	亳州十九里镇陈小庙村	7.83	1.80	1.28	0.39
S-3	亳州十九里镇马小楼村	7.34	1.43	0.99	0.43
S-4	亳州十九里镇沈营村	7.49	1.91	1.00	0.42
S-5	亳州十九里镇柳庄	7.43	1.75	1.08	0.47
S-6	亳州十九里镇高庄村	8.07	1.67	1.38	0.47
S-7	亳州十九里镇权庄	7.66	1.36	1.23	0.40
S-8	安国焦庄	8.57	1.56	1.50	0.60
S-9	安国樊庄	7.69	1.56	1.19	0.46
S-10	易县西陵镇太平峪村	8.37	1.71	1.55	0.65
S-11	易县西陵镇三尖峪村	9.45	1.26	1.41	0.58

3 讨论

由上述结果可知,不同产地知母须根中新芒果苷的含量为1.2%~1.9%,芒果苷的含量为1.0%~1.6%,异芒果苷的含量为0.4%~0.6%。3种吡啶苷的平均含量大小依次为新芒果苷、芒果苷、异芒果苷。其中河北产的知母须根中芒果苷及异芒果苷含量平均值高于亳州地区,而新芒果苷的含量低于毫

州地区,可能是知母的不同生长环境所致。

不同产地知母须根中芒果苷的含量均达到药典对知母主根的要求(0.7%),说明知母须根中也含有丰富的吡啶类等有效成分,具有一定的综合开发利用价值。本研究可为提高知母资源的综合利用率提供依据。

实验考察了不同供试品处理方法、不同流动相及不同检测波长对实验结果的影响,最终确定以50%甲醇为溶剂,超声提取30 min,以乙腈-0.4%冰醋酸水溶液梯度洗脱,在258 nm条件下进行测定,形成较为稳定的含量测定方法,为知母须根的质量评价提供参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:212.
- [2] 魏树奇,崔同淑,杨继凡,等. 知母须根与主根主要成分及药理作用的初步实验比较[J]. 中药材,2008,31(11):1666-1668.
- [3] 李习平,石继连,胡还甫. 知母的研究概况[J]. 岳阳职业技术学院学报,2010,25(1):90-93.
- [4] SUN Y G, DU Y F, YANG K, et al. A comparative study on the pharmacokinetics of a traditional Chinese herbal preparation with the single herb extracts in rats

by LC-MS/MS method[J]. J Pharm Biomed Anal,2013,82(6):34-43.

- [5] 林华,牛艳芬,王芬,等. 芒果苷对糖尿病小鼠糖脂代谢的影响[J]. 中国药理与临床,2012,28(6):41-44.
- [6] 何荣,冯国华,张富东,等. 芒果苷对 α -葡萄糖苷酶活性的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(3):662-666.
- [7] 农朝赞,黄婵娟,叶海哄,等. 芒果苷协同红霉素对痤疮致病菌抑菌作用的实验研究[J]. 检验医学与临床,2011,1(1):6-8.
- [8] 谭安雄,朱耀斌,李小云. 芒果苷对脑缺血再灌注大鼠抗氧化系统的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(1):161-162.
- [9] ZHOU C, ZHOU J, HAN N, et al. Beneficial effects of neomangiferin on high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in rats[J]. International Immunopharmacology,2015,25(1):218.
- [10] 宋泽璧,吴莹,高慧. HPLC法测定盐炙前后知母中新芒果苷、芒果苷和异芒果苷[J]. 现代药物与临床,2015(2):145-148.
- [11] 刘敏,赵白云,赵亮,等. 炮制前后知母中芒果苷和新芒果苷的含量变化[J]. 第二军医大学学报,2006,27(5):528-530.

(收稿日期:2017-04-25;编辑:曹健)

Content Determination of Three Xanthones in the Fibrous Root of *Anemarrhena asphodeloides* from Different Producing Areas

JIA Peng-hui¹, HUANG Qi¹, XU Feng-qing¹, JIN Chuan-shan^{1,2}, WANG Pei¹, MA Kai³, MU Feng-yang³, WU De-ling^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 2. Anhui Key Laboratory for Modern Chinese Materia Medica, Anhui Hefei 230012, China; 3. Bozhou Yong Gang Decoction Factory Co., Ltd., Anhui Bozhou 236800, China)

[Abstract] Objective To determine the content of neomangiferin, mangiferin, and isomangiferin in the fibrous root of *Anemarrhena asphodeloides* from different producing areas. **Methods** High-performance liquid chromatography with an ultraviolet detector was performed on a Shim-pack column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) with a mobile phase of acetonitrile-0.4% glacial acetic acid for gradient elution at a flow rate of 1.0 mL/min, a column temperature of 25 $^{\circ}$ C, and a detection wavelength of 258 nm. **Results** In the samples of the fibrous root of *Anemarrhena asphodeloides*, the content of neomangiferin, mangiferin, and isomangiferin was 1.2%-1.9%, 1.0%-1.6%, and 0.4%-0.6%, respectively. **Conclusion** The content of xanthones is high in the fibrous root of *Anemarrhena asphodeloides*, which may be considered in the comprehensive exploitation and utilization of *Anemarrhena asphodeloides*.

[Key words] Producing areas; Fibrous root of *Anemarrhena asphodeloides*; Xanthone; Content determination