

• 技术与方法 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.35.021

# HPLC 测定羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量的效果分析

鱼江, 封家福, 曾邦国

(乐山职业技术学院药学系, 四川乐山 614000)

**摘要:**目的 研究高效液相色谱(HPLC)测定不同产地和不同采收期羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量的效果。方法 采用 HPLC 仪, 色谱条件: 色谱柱采用 Waters symmetry C18(4.6 mm × 250.0 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(45 : 55), 流速为 1 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长为 310 nm。结果 羌活醇和异欧前胡素的线性范围分别为 0.240 8~1.505 0 μg 和 0.117 6~0.735 0 μg, 平均加样回收率(n=6)分别为 0.98% 和 1.42%。不同产地羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量差别较大, 采收期和生长年限对这 2 种成分的含量均有影响。结论 HPLC 测定简单快捷, 为确定羌活药材的最佳产地及采收期提供了依据。

**关键词:**羌活; 羌活醇; 异欧前胡素; 高效液相色谱法

中图分类号: R268

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)35-4769-02

## Effectiveness analysis of determining the content of notopterol and isoimperatorin in notopterygium

Yu Jiang, Feng Jiafu, Zeng Bangguo

(Department of Pharmacy, Leshan Vocational and Technical College, Leshan, Sichuan 614000, China)

**Abstract:** Objective To establish the effect of determining the content of notopterol and isoimperatorin in notopterygium from different habitat and harvest time by HPLC method. Methods HPLC instrument was used, Waters symmetry C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted with a mobile phase of acetonitrile-water (45 : 55), the separation was carried out at a flow rate of 1 mL/min, column temperature was 30 ℃ and the detection wavelength was 310 nm. Results Notopterol and isoimperatorin showed good linearity in the ranges of 0.240 8—1.505 0 μg and 0.117 6—0.735 0 μg with average recoveries rate (n=6) of 0.98% and 1.42% respectively. The content of notopterol and isoimperatorin in crude drugs of notopterygium from different habitat marked difference, and harvest period and growth years made effect to content of two components. Conclusion HPLC method is easy and fast, and can be used as a basis for confirming the best habitat and harvest period of notopterygium.

**Key words:** notopterygium; notopterol; isoimperatorin; HPLC

羌活又名羌青、护羌使者、胡王使者、羌滑、退风使者、黑药, 为常用中药, 最初见于《神农本草经》, 主要分布于四川、甘肃、青海、陕西、云南等地, 其味辛、苦, 性温, 具有解表散寒、祛风除湿、止痛等功效, 可用于风寒感冒、头痛项强、风湿痹痛、肩背酸痛等的治疗<sup>[1-4]</sup>。在《中国药典》2010 年版羌活药材含量测定项下, 新增了羌活醇和异欧前胡素, 2 种成分的测定已有报道, 但是不同产地及采收期羌活药材中 2 种成分的比较研究未见报道<sup>[5]</sup>, 因此本研究对不同时采自不同产地的羌活药材中 2 种成分的含量进行比较研究。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

**1.1.1 仪器** Agilent 1200 高效液相色谱(HPLC)仪; Agilent 1200 G1316A TCC DE63067867 检测器; Agilent Chem-station 数据处理系统; AL-104 型电子天平; KQ-250E 型超声波清洗器。

**1.1.2 药材** 对照品羌活醇(111820-201102)、异欧前胡素(110827-201109)均购自中国食品药品检定研究院(供含量测定用); 羌活药材分别采自四川、甘肃、陕西、云南等地, 经江西中医学院杨武亮教授鉴定为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的干燥根茎和根; 乙腈为色谱纯(Dikma 公司), 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 色谱条件**<sup>[6-7]</sup> Waters symmetry C18 色谱柱

(4.6 mm × 250.0 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(45 : 55), 流速 1 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 310 nm, 进样量 10 μL。

**1.2.2 对照品溶液的制备** 取羌活醇对照品、异欧前胡素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含羌活醇 60.2 μg、异欧前胡素 29.4 μg 的混合溶液, 即得。

**1.2.3 供试品溶液的制备**<sup>[1]</sup> 取羌活药材粉末(过 3 号筛), 约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过(0.45 μm 微孔滤膜), 取续滤液, 即得。

### 1.2.4 方法学考察

**1.2.4.1 系统适应性试验** 按照 1.2.1 项下的色谱条件进行操作: 精密吸取 1.2.2 项下混合对照品溶液、1.2.3 项下供试品溶液各 10 μL, 注入 HPLC 仪中进行测定, 记录色谱图。

**1.2.4.2 线性关系考察**<sup>[8]</sup> 精密吸取 1.2.2 项下混合对照品溶液, 分别进样 4、8、12、16、20、25 μL, 按 1.2.1 项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。

**1.2.4.3 精密度试验** 将 1.2.2 项下混合对照品溶液按照 1.2.1 项下色谱条件进样, 连续测定 5 次, 记录峰面积。结果羌活醇和异欧前胡素峰面积的 RSD 分别为 0.54%、0.59%, 表明仪器精密度良好。

**1.2.4.4 重复性试验** 取羌活药材粉末(产地四川绵阳, 2 年生, 春季采), 按 1.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按此方法平

行制备 5 份,按 1.2.1 项下色谱条件进样,测定、计算羌活醇和异欧前胡素的含量。结果羌活醇和异欧前胡素的平均含量分别为 4.21 和 3.06 mg/g, RSD 分别为 1.8% 和 1.8%,表明此方法重复性良好。

**1.2.4.5 稳定性试验<sup>[9]</sup>** 精密吸取 1.2.4.4 项下供试品溶液,分别在第 0、2、4、8、12 小时进样,测定记录羌活醇和异欧前胡素的峰面积。结果羌活醇和异欧前胡素的峰面积的 RSD 分别为 0.84% 和 0.87%,表明室温放置 12 h 内供试品溶液稳定。

**1.2.4.6 加样回收试验<sup>[10]</sup>** 取羌活药材粉末(产地四川绵阳,2 年生,春季采)约 0.2 g,精密称定,平行操作 6 份,置具塞锥形瓶中,分别精密加入混合对照品溶液(羌活醇 0.084 mg/mL、异欧前胡素 0.062 mg/mL)10 mL 和甲醇 40 mL,其余操作按照 1.2.3 项下方法进行,对制得的供试品溶液按照 1.2.1 项下色谱条件进行进样,测定、计算加样回收率。

**1.2.5 含量测定** 取不同产地及采收期的羌活药材,按 1.2.3 项下方法制备供试品溶液,然后按 1.2.1 项下色谱条件进样,测定,记录峰面积,用外标法计算含量<sup>[11]</sup>。

## 2 结 果

**2.1 线性关系考察结果** 以峰面积积分为纵坐标(Y),进样量( $\mu\text{g}$ )为横坐标(X)进行线性回归,得羌活醇和异欧前胡素的回归方程分别为: $Y = 6.41 \times 105X + 3.03 \times 103, r = 0.9998$ ;  $Y = 5.97 \times 105X + 2.66 \times 103, r = 0.9998$ 。结果表明,羌活醇在 0.240 8~1.505  $\mu\text{g}$  范围内线性关系良好,异欧前胡素在 0.117 6~0.735  $\mu\text{g}$  范围内线性关系良好。

**2.2 加样回收率** 见表 1。

**2.3 不同产地采收期羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量测定结果** 四川绵阳、甘肃天祝、西安西安和云南丽江 4 个产地的羌活药材中,羌活醇和异欧前胡素的含量存在一定差异,但均符合《中国药典》2010 年版标准(本品按干燥品计算,含羌活醇和异欧前胡素的总量不得少于 0.40%)。羌活醇的含量在 2.63~7.13 mg/g,异欧前胡素的含量在 1.23~4.62 mg/g。各组含量比较,以四川绵阳(3 年生,秋季采)和云南丽江(3 年生,秋季采)两组药材含量最高。不同产地、采收期羌活药材中羌活醇和异欧前胡素测定结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

成分	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
羌活醇	0.862 2	0.84	1.686 8	98.17	99.03	0.98
	0.836 1	0.84	1.667 9	99.02		
	0.856 3	0.84	1.701 3	100.60		
	0.832 7	0.84	1.655 4	97.94		
	0.838 6	0.84	1.675 1	99.58		
	0.842 4	0.84	1.672 7	98.85		
异欧前胡素	0.626 7	0.62	1.259 7	102.10	99.51	1.42
	0.607 7	0.62	1.219 9	98.74		
	0.622 4	0.62	1.240 7	99.73		
	0.605 3	0.62	1.218 1	98.84		
	0.609 6	0.62	1.227 1	99.60		
	0.612 3	0.62	1.220 1	98.03		

表 2 不同产地、采收期羌活药材中羌活醇和异欧前胡素测定结果(mg/g, n=3)

产地	采收期	羌活醇含量	异欧前胡素含量
四川绵阳	2 年生,春季采	4.21	3.06
	2 年生,夏季采	3.17	1.88
	2 年生,秋季采	5.05	3.14
	3 年生,秋季采	7.13	4.52
甘肃天祝	2 年生,秋季采	2.63	1.44
	3 年生,春季采	2.84	1.23
陕西西安	3 年生,春季采	2.98	2.06
	3 年生,秋季采	3.26	3.43
云南丽江	2 年生,秋季采	2.95	2.26
	3 年生,春季采	4.63	3.37
	3 年生,秋季采	5.81	4.62

## 3 讨 论

羌活药材主产于四川、甘肃、陕西、云南等地,一般春、秋两季采挖,因此先后收集了四川绵阳、甘肃天祝、陕西西安、云南丽江 4 个产地不同采收期的药材,然后对羌活药材中羌活醇和异欧前胡素的含量进行测定。

通过对比发现,4 个产地的羌活药材,羌活醇和异欧前胡素含量差别较大,其中以四川绵阳和云南丽江所产的羌活药材质量更佳;同一产地的羌活药材,生长年限越长,两物质含量越高;同一生长年限的羌活药材,以秋季采收的含量最高,秋季采收的含量高于春季采收,春季采收的含量高于夏季采收,这提示羌活药材的最佳采收期为秋季,其次为春季,在夏季的含量最低,因此应当避开夏季采收。

除羌活醇和异欧前胡素以外,挥发油的含量也是评价羌活药材质量的重要指标,羌活药材的不同部位所含的挥发油含量不同,以蚕羌和须根中最多<sup>[12]</sup>。前期考察发现,不同采收期的羌活药材中,春季和秋季采挖的羌活药材所含挥发油的量相似,夏季采挖的羌活药材挥发油含量略低,提示应当避开夏季对羌活药材进行采收。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 284.
- [2] 王珍, 陈士林, 黄林芳, 等. 羌活的质量控制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(3): 209-214.
- [3] 孙辉, 蒋舜媛, 陈士林, 等. 高寒山区濒危药用植物羌活产地适宜性及生产区划分析[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(5): 535-538.
- [4] 王冬梅, 王珍, 黄林芳. 栽培与野生羌活中 4 种化合物含量及抗炎作用比较[J]. 中国药房, 2014, 25(3): 199-202.
- [5] 陈燕, 易进海, 刘云华, 等. 中药羌活质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 945-949.
- [6] 高森, 李正翔, 王志涛, 等. 九龙化风丸中升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、羌活醇、异欧前胡素和细辛脂素的 HPLC 梯度洗脱法测定[J]. 中成药, 2014, 36(3): 541-547.

(下转第 4773 页)

及采集与匹配时间分别为(120±8)s 和(240±10)s,表明新型图像引导放射治疗系统 XGS 不仅能改善摆位精度,在图像采集时间及采集与匹配时间方面均明显小于 CBCT 系统,可缩短定位时间,减少患者接触射线的辐射剂量,更有利于放射治疗技师对患者进行放射治疗实时定位。

Subburaj 等<sup>[11]</sup>在研究立体定向 X 线的 NTX 基础设置与 CBCT 系统的比较中指出,基于 X 线设备容易进行骨匹配,且剂量比 CBCT 系统成像低。虽然 CBCT 系统可以得到三维图像信息及清楚显示软组织结果,但服从国际放射防护委员会提出始终遵循“合理使用低剂量”原则,即以最低的辐射剂量来获取满足临床需要的诊断性影像的原则,应该谨慎考虑其高辐射剂量。Song 等<sup>[12]</sup>比较了 Elekta XVI 系统和 CBCT 系统的平均剂量得出 CBCT 系统最高剂量测量为 1.100 0~8.300 0 cGy。在图像引导放射治疗系统中,光束对准信息来源于图像用于的目标肿瘤,它依赖于成像频率而较少依赖图像质量。另外,在剂量校准时大量的图像会产生较小的错误,但同时会增加正常组织更多的成像辐射剂量。据国外相关文献报道,采集 1 幅 CBCT 图像大约需要 0.000 3 cGy,1 套标准模式的 CBCT 图像(125 kV)是 3.000 0~8.000 0 cGy,而头部可能达 9.000 0 cGy。而 XGS 收集 2 张 X 线片所需剂量仅为 CBCT 的 1/80~1/40,因此,在保证正常治疗的情况下,可优先选择辐射剂量较小的机器。

综上所述,图像引导放射治疗系统是近年用于精确放射治疗的新型技术。本研究结果揭示国产 XGS 系统与进口 CBCT 系统摆位误差差值均在可接受范围内,但是由于重庆伟渡医疗设备股份有限公司生产的新型图像引导放射治疗系统 XGS 具有更快的扫描时间和更少的成像剂量,操作更简便,价格便宜,更方便放射治疗技师对鼻咽癌患者进行实时放射治疗精确定位。但由于国内尚无同类产品,国外同类产品也很少,本研究只做了头部鼻咽癌的精确定位,要广泛推广,还需要更多学者对其他部位的定位进行研究。

#### 参考文献:

- [1] 胡逸民. 调强放射治疗的最新进展[J]. 中国医疗器械信息, 2005, 11(2): 1-5.
- [2] 殷蔚伯, 肿瘤学, 谷铎之. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京: 中

国协和医科大学出版社, 2002.

- [3] Mackie TR, Kapatoes J, Ruchala K, et al. Image guidance for precise conformal radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2003, 56(1): 89-105.
- [4] Xing L, Thorndyke B, Schreiber E, et al. Overview of image-guided radiation therapy[J]. Med Dosim, 2006, 31(2): 91-112.
- [5] 于金明, 袁双虎. 图像引导放射治疗研究及其发展[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(2): 81-83.
- [6] 戴建荣, 胡逸民. 图像引导放射治疗的实现方式[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2006, 15(2): 132-135.
- [7] Siewerdsen JH. Cone-Beam CT with a Flat-Panel detector: from image science to Image-Guided surgery[J]. Nucl Instrum Methods Phys Res A, 2011, 648(S1): S241-250.
- [8] Brock RS, Docef A, Murphy MJ. Reconstruction of a cone-beam CT image via forward iterative projection matching[J]. Med Phys, 2010, 37(12): 6212-6220.
- [9] Thephamongkhon K, Laebua K, Dankulchai P, et al. A Pilot Comparison Study of Setup Verification Between Two-Dimensional Kilo-Voltage (2DkV) Matchand Kilo-Voltage Cone-Beam Computed Tomography (kV-CBCT) Match for Nasopharyngeal Cancer Patients[J]. Siriraj Medical Journal, 2011, 63: 47-51.
- [10] Ottosson W, Baker M, Hedman M, et al. Evaluation of setup accuracy for NSCLC patients; studying the impact of different types of cone-beam CT matches based on whole thorax, columna vertebralis, and GTV[J]. Acta Oncol, 2010, 49(7): 1184-1191.
- [11] Subburaj K. CT Scanning-Techniques and Applications [M]. InTech, 2011: 299-311.
- [12] Song WY, Kamath S, Ozawa S, et al. A dose comparison study between XVI and OBIVarian CBCT systems[J]. Med Phys, 2008, 35(2): 480-486.

(收稿日期: 2014-07-11 修回日期: 2014-09-29)

(上接第 4770 页)

- [7] 沈燕, 韩超, 黄芙蓉, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定羌活中异欧前胡素和紫花前胡苷[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(12): 2088-2091.
- [8] 彭玲芳, 夏伟军, 崔涛. 密脉鹅掌柴提取物中总皂苷及齐墩果酸的含量测定[J]. 中国药师, 2012, 15(11): 1551-1553.
- [9] 史万忠, 李世芳, 刘瑾, 等. 复方灵通胶囊稳定性试验中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量变化[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1356-1360.

- [10] 张华, 董立莎, 陈虎彪, 等. 断面红棕色及类白色土茯苓药材中总鞣质的含量分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(6): 852-855.
- [11] 王培香, 邢跃文, 罗岩, 等. HPLC 法测定异福酰胺片中有关物质的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(2): 126-131.
- [12] 刘卫根, 周国英, 徐文华, 等. 不同商品等级羌活挥发油的比较研究[J]. 中药材, 2012, 35(7): 1042-1045.

(收稿日期: 2014-07-08 修回日期: 2014-09-26)