

## · 研究报告 ·

高效液相色谱法测定不同产地假药中的  $\alpha$ -细辛脑含量

李 清, 何明月, 瞿发林, 谭兴起, 董文燊, 倪玉佳, 邵留英 (中国人民解放军联勤保障部队第九〇四医院, 江苏 常州 213003)

**[摘要]** 目的 采用高效液相色谱(HPLC)法测定不同产地假药中  $\alpha$ -细辛脑的含量。方法 色谱柱为 Lichrospher C<sub>18</sub> 柱 (150 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(47:53), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长 313 nm, 柱温 30  $^{\circ}$ C。结果  $\alpha$ -细辛脑在 0.0970~1.934  $\mu$ g 范围内与峰面积有良好线性关系( $r=0.9998$ ), 平均回收率为 99.94%(RSD=1.13%), 样品在 24 h 内稳定, 且该方法重复性较好。结论 本方法简便准确, 可用于假药药材中  $\alpha$ -细辛脑的含量测定, 以控制其质量; 我国不同产地的假药中  $\alpha$ -细辛脑含量有明显差异, 其中以广西产假药含量最高。

**[关键词]** 假药;  $\alpha$ -细辛脑; 高效液相色谱; 含量测定

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)04-0348-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.012

## Determination of content of $\alpha$ -Asarone in *Piper sarmentosum* Roxb. from different habitats by HPLC

LI Qing, HE Mingyue, QU Falin, TAN Xingqi, DONG Wenshen, NI Yujia, SHAO Liuying (Hospital 904 of Joint Logistic Support Force of PLA, Changzhou 213003, China)

**[Abstract]** **Objective** To determine the content of  $\alpha$ -Asarone in *Piper sarmentosum* Roxb. from different habitats by HPLC. **Methods** The chromatographic column was Lichrospher C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m). The mobile phase was acetonitrile-0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution (47:53) with a flow rate of 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, the UV detection wavelength at 313 nm and the column temperature at 30  $^{\circ}$ C. **Results** There was a good linear relationship for  $\alpha$ -Asarone in the range of 0.097 0~1.934  $\mu$ g ( $r=0.9998$ ). The average recovery was 99.94% (RSD=1.13%). The sample was stable within 24 h. The method had good repeatability. **Conclusions** This method is simple and accurate for the content assay of  $\alpha$ -Asarone in *Piper sarmentosum* Roxb. It can be used to control the quality of *Piper sarmentosum* Roxb. There was a significant difference of  $\alpha$ -Asarone content in *Piper sarmentosum* Roxb. from different provinces in China. The *Piper sarmentosum* Roxb. from Guangxi province has the highest content of  $\alpha$ -Asarone.

**[Key words]** *Piper sarmentosum* Roxb.;  $\alpha$ -Asarone; HPLC; content determination

### 0 引言

假药系胡椒科假药 (*Piper sarmentosum* Roxb.) 的干燥茎、叶或全草, 又称蛤药、假薯、蛤薯、假葵、蛤葵等, 始载于清·何谏《生草药性备要》<sup>[1]</sup>。其植物资源丰富, 全年可采收, 广泛分布于我国广西、广东、云南、海南、福建、贵州等省份, 印度、越南、菲律宾、泰国、马来西亚等国家也有分布, 且药食两用<sup>[2]</sup>, 是极具特色的民族植物药。本品性温、味辛, 主治风寒咳嗽, 风湿腰痛, 心下胀满, 泄泻痢疾, 产后脚肿, 外

伤出血, 跌打损伤等<sup>[3]</sup>。目前, 关于假药药理作用的研究, 有抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗骨质疏松、抗菌、杀虫<sup>[4-8]</sup>和抗抑郁<sup>[9]</sup>等方面的报道。近年来的研究表明假药中挥发油含量较高, 主要含有  $\alpha$ -细辛脑、石竹烯等多种成分, 其中尤以  $\alpha$ -细辛脑的含量最高, 达到了 40.33%<sup>[10-12]</sup>。目前已有关于不同产地假药中  $\alpha$ -细辛脑含量的相关研究报道<sup>[13-15]</sup>, 但这些研究中的假药药材均只采自广西一省, 未能将其他省份所产的假药一同进行研究。为进一步完善假药质量标准, 更好的开发和利用假药的自然资源, 笔者首次对产自不同省份的假药进行了有关  $\alpha$ -细辛脑含量的研究。

**[基金项目]** 原南京军区重大专项课题(15DX005)

**[作者简介]** 李 清, 硕士, 主管药师, 研究方向: 天然药物研究, Email: pear.flowers@163.com

**[通讯作者]** 瞿发林, 主任药师, 研究方向: 医院制剂, Email: qufalin@163.com

### 1 仪器、试剂与材料

#### 1.1 药材与试剂

假药药材采自广西、广东、海南、云南、福建以及

越南等地(详情如表1所示),经联勤保障部队第904医院瞿发林主任药师鉴定为胡椒科假蒟 *Piper sarmentosum* Roxb. 的地上部分; $\alpha$ -细辛脑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100298-201203);乙腈、甲醇为色谱纯;水为纯化水。

表1 假蒟药材的来源

药材编号	采收地区	采收日期
1	广西省贵港市港南区东津镇	2016.01.10
2	广西省贵港市港南区东津镇	2016.02.29
3	广东省广州市天河区	2016.03.10
4	广东省佛山市南海区	2016.03.20
5	广西省贵港市港南区东津镇	2016.04.03
6	广西省贵港市港南区东津镇	2016.03.14
7	广西省贵港市港南区桥圩镇	2016.04.05
8	广西省南宁市青秀区(栽培)	2016.04.07
9	广西省南宁市良庆区平乐村	2016.03.30
10	广西省南宁市上林县巷贤镇(栽培)	2016.04.17
11	广东省开平市江湾	2016.04.10
12	广东省佛山市三水区乐平镇	2016.04.15
13	广西省南宁市西乡塘区	2016.04.26
14	广东省阳春市春城镇	2016.05.16
15	广东省广州市番禺区榄核镇(栽培)	2016.05.17
16	海南省琼海市龙江镇	2016.06.07
17	云南省蒙自市	2016.05.28
18	越南老街	2017.05.31
19	广东省揭阳市	2017.07.07
20	广西省钦州市	2017.07.24
21	福建省福州市闽清县白中镇(栽培)	2016.06.15
22	广东省揭阳市	2017.11.23

## 1.2 仪器

Waters系列高效液相色谱仪(美国Waters公司,Empower2数据处理系统);电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂);XS105型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);FA1004电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用Lichrospher C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(47:53),流速为1.0 ml/min,检测波长313 nm,柱温30℃,进

样量为20 μl。在上述条件下,理论塔板数按 $\alpha$ -细辛脑计算不低于 $1\times 10^4$ , $\alpha$ -细辛脑对照品和假蒟供试品的色谱图如图1。

### 2.2 溶液的制备

精密称取 $\alpha$ -细辛脑对照品19.5 mg置100 ml容量瓶中,用适量甲醇溶解,摇匀并定容后即得浓度为0.1950 mg/ml的对照品溶液。称取假蒟干燥粗粉0.3 g,精密称定,加入50%甲醇20 ml后回流提取1 h,放冷至室温,再用50%甲醇补足减少的量,摇匀静置后吸取上清液,用0.45 μm的微孔滤膜过滤,即得假蒟供试品溶液。

### 2.3 线性范围考察

分别精密吸取0.5、1、2、4、8、10 ml的上述 $\alpha$ -细辛脑对照品溶液(0.1950 mg/ml),置于10 ml容量瓶中,加甲醇稀释、摇匀、定容,随后分别吸取上述6个浓度的稀释液进样,进样量为20 μl,记录下峰面积。以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,并得出回归方程为:

$$Y=4\times 10^7 X+5993.2, r=0.9998$$

结果表明 $\alpha$ -细辛脑的进样量在0.0970~1.934 μg之间时,与峰面积有着良好的线性关系。

### 2.4 精密度考察

取同一批假蒟供试品溶液,重复进样6次,测定 $\alpha$ -细辛脑峰面积值,计算RSD为0.82%,结果表明仪器设备精密度良好。

### 2.5 重复性试验

取同一批次的假蒟药材粗粉6份,每份0.3 g,精密称定,按“2.2”项下的方法制备假蒟供试品溶液,测得 $\alpha$ -细辛脑含量的平均值为2.1254 mg/g,其RSD为1.04%,结果表明该方法重复性良好。

### 2.6 稳定性试验

按“2.2”项下的方法制备假蒟供试品溶液,于制备后0、2、4、8、12、24 h分别进样20 μl测定峰面积,测得 $\alpha$ -细辛脑峰面积的RSD为0.94%,表明假蒟供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.7 加样回收率试验

分别取0.15 g已知 $\alpha$ -细辛脑含量的药材粉末( $\alpha$ -细辛脑含量为2.1254 mg/g)各6份,精密称定,置100 ml的具塞锥形瓶中,分别精密加入与药材相当量的 $\alpha$ -细辛脑对照品(0.330 2 mg/ml)溶液1 ml,按“2.2”项下的方法制备假蒟供试品溶液,按“2.1”项下的方法进行测定,结果如表2所示,计算出 $\alpha$ -细辛脑的平均回收率为99.94%,RSD为1.13%。

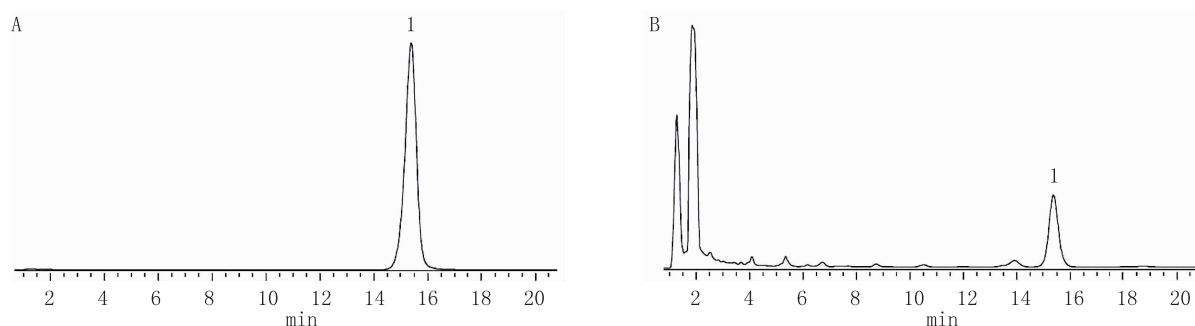


图1  $\alpha$ -细辛脑对照品(A)和假药供试品(B)的HPLC图  
1.  $\alpha$ -细辛脑

表2  $\alpha$ -细辛脑加样回收率试验结果

批次	取样量(g)	样品中的含量(mg)	加入量(mg)	实测值(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.1504	0.3196	0.3302	0.6474	99.57	99.94	1.13
2	0.1502	0.3192	0.3302	0.6483	99.85		
3	0.1503	0.3194	0.3302	0.6459	99.13		
4	0.1501	0.3190	0.3302	0.6519	100.92		
5	0.1500	0.3188	0.3302	0.6441	98.57		
6	0.1500	0.3188	0.3302	0.6541	101.61		

## 2.8 样品的测定

取不同采收地区或采收时间的假药药材22批,按“2.2”项下的方法制备假药供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液各20  $\mu$ l,按“2.1”项下的方法进行测定,按外标法计算 $\alpha$ -细辛脑含量,结果如表3所示。

表3 不同产地假药中 $\alpha$ -细辛脑的含量

药材编号	$\alpha$ -细辛脑含量(mg/g)	RSD(%)
1	3.1195	0.43
2	2.3252	0.71
3	0.2593	0.49
4	0.0489	1.09
5	3.3676	0.68
6	2.5705	0.65
7	3.3296	0.51
8	0.4621	0.78
9	2.4766	1.07
10	0.2117	0.60
11	1.0647	0.15
12	1.2393	0.56
13	2.1125	0.69
14	1.0568	0.43
15	0.2532	1.58
16	0.9934	1.31
17	0.6942	1.69
18	4.1071	0.22
19	0.0000	—
20	2.1723	0.41
21	0.2265	1.05
22	1.3555	0.17

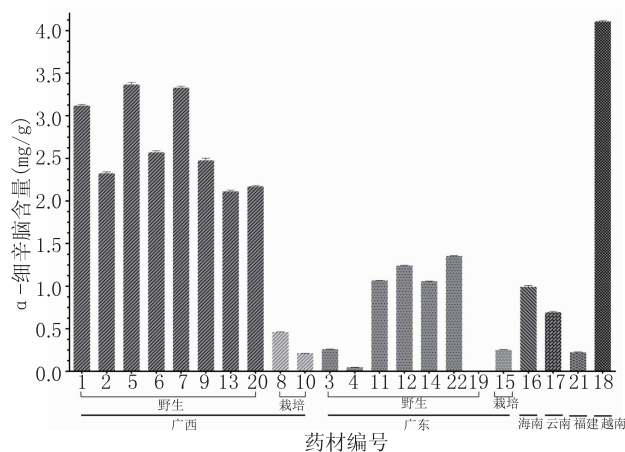


图2 不同产地假药中 $\alpha$ -细辛脑的含量

## 3 讨论

挥发油是一类由萜类、脂肪族和芳香族构成的复杂化合物,具有发散解表、祛风除湿、芳香开窍、清热解毒、止咳祛痰等作用,均有特殊香气与辛辣味。假药气味芳香,其所含挥发油含量也较高,有研究表明假药中挥发油的得油率(%,ml/g)可达1.5%<sup>[16]</sup>。由此可见,在假药质量标准的研究中,对其挥发油含量进行测定有着重要意义。近年来, $\alpha$ -细辛脑因其具有良好的平喘、止咳、祛痰、镇静、解痉以及抗惊厥等作用,逐渐成为大家研究的热点之一<sup>[17]</sup>,而假药挥发油成分中, $\alpha$ -细辛脑含量最高,且在HPLC图谱中与其他化合物分离度良好,信息峰稳定,因此测

量其含量具有一定的研究意义,亦可作为质量控制的方法之一。

关于假蒟中 $\alpha$ -细辛脑含量的研究,已报道的文献中,假蒟药材均取样自广西省境内。但假蒟在我国分布却不只是局限于广西省,其广泛分布于我国大部分热带地区。因此,本研究收集了采自不同省份以及越南的假蒟药材,对其中的 $\alpha$ -细辛脑含量进行了测定,这在我国尚属首次,填补了这方面的研究空白。方法学考察结果显示,本实验所建立的方法简单易行,具有良好的线性、精密度、重复性、稳定性和加样回收率。因此,可对假蒟中 $\alpha$ -细辛脑的含量进行准确地测定,从而对假蒟药材进行有效的质量控制。本实验的研究结果表明(如图2所示),不同产地的假蒟,其 $\alpha$ -细辛脑含量有着较大差别,22批假蒟药材中,采自越南的假蒟所含 $\alpha$ -细辛脑含量最高(4.1071 mg/g)。在所收集的假蒟药材中,有野生的假蒟,也有栽培的假蒟,研究发现采自同一省份的假蒟栽培品中, $\alpha$ -细辛脑的含量要远低于野生假蒟。若以省份来划分产地,产自广西省的假蒟(不包括栽培品)中的 $\alpha$ -细辛脑平均含量(2.6842 mg/g)要明显高于广东(0.8374 mg/g)、云南(0.6942 mg/g)、海南(0.9934 mg/g)及福建(0.2265 mg/g)等省。此外,本文的研究中还发现有一批假蒟药材(编号19,广东揭阳)中 $\alpha$ -细辛脑含量为0 mg/g。分析原因后,推测是由于这批药材干燥处理时,没有采用阴干的方式,将药材直接置于强烈阳光下晒干导致的。然后,本课题组又从19号药材的同一产地采得一批药材(编号22),阴干处理后进行 $\alpha$ -细辛脑含量测定,结果显示这批药材中 $\alpha$ -细辛脑含量为1.3555 mg/g。这一发现与文献报道<sup>[18]</sup>吻合,用晒干方式得到的假蒟药材中不含有 $\alpha$ -细辛脑,因阳光直射的高温会使得 $\alpha$ -细辛脑转化为它的同分异构体 $\beta$ -细辛脑。综上所述,本实验结果,可为进一步完善假蒟质量标准提供参考依据。

### 【参考文献】

[1] 中华本草编委会. 中华本草(第3册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:445-446.  
[2] 郑希龙,孙伟,李榕涛. 黎族野生蔬菜资源的民族植物学研究[J]. 湖北农业科学,2013,52(16):3856-3860.

[3] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准[S]. 南宁:广西科技出版社,2011:270.  
[4] AMRAN A A, ZAKARIA Z, OTHMAN F, et al. Aqueous extract of *Piper sarmentosum* decreases atherosclerotic lesions in high cholesterolemic experimental rabbits[J]. Lipids Health Dis, 2010, 9(1):44.  
[5] HUSSAIN K, ISMAIL Z, SADIKUN A, et al. Standardization and in vivo antioxidant activity of ethanol extracts of fruit and leaf of *Piper sarmentosum* [J]. Planta Med, 2010, 76(5): 418-425.  
[6] ESTAI MA, SUHAIMI FH, DAS S, et al. *Piper sarmentosum* enhances fracture healing in ovariectomized osteoporotic rats: a radiological study[J]. Clinics, 2011, 66(5):865-872.  
[7] SAWANGJAROEN N, SAWANGJAROEN K, POON-PANANG P. Effects of *Piper longum* fruit, *Piper sarmentosum* root and *Quercus infectoria* nut gall on caecal amoebiasis in mice[J]. J Ethnopharmacol, 2004, 91(2-3):357-360.  
[8] MOHAMAD S, ZIN N M, WAHAB H A, et al. Antituberculosis potential of some ethnobotanically selected Malaysian plants[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(3):1021-1026.  
[9] LI Q, QU F L, GAO Y, et al. *Piper sarmentosum* Roxb. produces antidepressant-like effects in rodents, associated with activation of the CREB-BDNF-ERK signaling pathway and reversal of HPA axis hyperactivity[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 199:9-19.  
[10] 蔡毅,董栋,么春艳,等. GC-MS分析广西产4种栽培胡椒属植物叶中的挥发油成分[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(6): 641-644.  
[11] 宋艳平,徐明忠,梁勇. 假蒟挥发油化学成分气质联用分析研究[J]. 分析试验室, 2006, 25(1):24-28.  
[12] 向同寿,梁勇. 中草药假蒟挥发油的色谱-质谱分析[J]. 分析测试学报, 2004, 23(5):80-82.  
[13] 马雯芳,余娇,蔡毅,等. HPLC测定假蒟中的 $\alpha$ -细辛脑及其含量的动态积累[J]. 华西药学杂志, 2013, 28(3):293-295.  
[14] 马雯芳,余娇,蔡毅,等. 壮药假蒟的质量标准研究[J]. 广西中医药, 2012, 35(2):59-61.  
[15] 桂贞才,颜萍花,唐玉荣,等. 壮药假蒟药材质量标准研究[J]. 中国民族民间医药, 2014, 16:21-25.  
[16] 余娇. 壮药假蒟质量标准研究[D]. 广西:广西中医药大学, 2012.  
[17] 赵李宏,吴建梅,武凤兰.  $\alpha$ -细辛脑近10年研究概况[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7):562-565.  
[18] 马雯芳,余娇,邓慧连,等. 不同干燥方法对假蒟挥发油成分影响的研究[J]. 中成药, 2013, 35(6):1270-1274.

[收稿日期] 2018-09-27 [修回日期] 2019-03-07

[本文编辑] 陈盛新