

不同产地水辣蓼药材中 两种黄酮类成分含量的测定及聚类分析

李明

(河北省沧州市食品药品检验所, 沧州 061000)

摘要 目的 比较不同产地水辣蓼药材中两种黄酮类成分芦丁、槲皮素的含量, 为最佳产地的确定提供实验依据。方法 采用高效液相色谱法测定药材中芦丁、槲皮素含量, 测定得到的 16 批药材含量数据采用 SAS 9.0 版软件进行离差平方和聚类分析, 将结果与产地进行分类。结果 建立的方法稳定良好, 线性、精密度、重复性、加样回收率均合格。测得 16 个产地来源药材芦丁含量 $0.657\ 8\sim 0.997\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 槲皮素含量 $0.498\ 7\sim 0.686\ 0\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。聚类分析可将 16 个产地分为两大类, 前 9 类为南水辣蓼, 后 7 类为北水辣蓼, 南水辣蓼两种成分含量均比北水辣蓼高。结论 不同产地水辣蓼质量有差异, 与地域呈一定相关性。

关键词 水辣蓼; 含量测定; 聚类分析

中图分类号 R282.71; R927.2

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2019)01-0089-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.01.020

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Determination and Cluster Analysis of Two Flavones in *Polygonum Hydropiper* Linn from Different Localities

LI Ming(Institute of Food and Drug Control of Cangzhou City, Hebei Province, Cangzhou 061000, China)

ABSTRACT Objective To identify the content of rutin and quercetin in *Polygonum hydropiper* Linn in 16 different locations. To provide a reference for determining the best producing area of *Polygonum Hydropiper* Linn. **Methods** The contents of rutin and quercetin were determined by HPLC. Producing areas were classified by the method of Ward clustering analysis using SAS 9.0. **Results** The established HPLC method was stable, accurate, and reproducible. Linearity, precision, reproducibility, sample recovery rate were qualified. The contents of rutin and quercetin from 16 localities were determined. The content of rutin was $0.657\ 8\sim 0.997\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, the content of quercetin was $0.498\ 7\sim 0.686\ 0\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. *Polygonum hydropiper* L. from 16 localities were divided into two categories by cluster analysis, the first 9 were South *Polygonum Hydropiper* Linn and the latter 7 were North *Polygonum Hydropiper* Linn. The contents of rutin and quercetin were higher in the first 9 categories.

Conclusion Different areas result in different qualities. There is a certain correlation between locality and quality.

KEY WORDS *Polygonum hydropiper* Linn; Content determination; Ward clustering analysis

水辣蓼为蓼科植物水辣蓼(*Polygonum hydropiper* Linn)的全草,味辛,性温,有祛风散瘀、祛湿止痛、消肿解毒等功效。可用于痢疾、肠胃炎、腹泻、脚气、疥癣、风湿关节痛、跌打肿痛等;外用治毒蛇咬伤、皮肤湿疹等^[1]。研究发现,水辣蓼全草主要含黄酮类、挥发油类、鞣质类等^[2],其中黄酮类成分主要为黄酮苷及苷元类,具有抗氧化、抗菌等活性^[3-5]。在医药、食品、植物源农药等方面有着良好的开发前景。芦丁、槲皮素作为对照品控制水辣蓼的质量^[6-8],在《中华本草》中是以槲皮素作为水辣蓼的薄层对照成分。水辣蓼并无特定道地产区,全国大部分地区均可种植。笔者以芦丁和槲皮素的含量为指标对 16 批药材进行质量检测,并进行聚类分析,可为水辣蓼的产区选择提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津高效液相色谱仪(LC-20AD 泵, SIL-20A 自动进样器, SPD-M20A 检测器); KQ5200DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);分析天平(赛多利斯仪器系统有限公司,型号:BSZZ4S,感量:0.001 mg)。

1.2 试剂 16 批不同产地来源的水辣蓼药材(表 1);芦丁、槲皮素对照品(中国食品药品检定研究院);乙腈(Sigma 公司,色谱纯);纯净水(娃哈哈集团有限公司);甲醇、乙醇、乙酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的配制 精密称取芦丁和槲皮素对照品 10 mg,用甲醇溶解于 10 mL 量瓶中,配制成 $1\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取干燥水辣蓼药材粉碎,粉末过孔径 250 μm (四号)筛,精密称 1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 50 mL,45 $^{\circ}\text{C}$ 超声提取

收稿日期 2017-11-06 修回日期 2017-12-03

作者简介 李明(1983-),男,河北沧州人,主管药师,学士,研究方向:中药质量评价。ORCID:0000-0003-2166-4124。电话:0317-2061669, E-mail:3166425349@qq.com。

30 min,冷却至室温后,60%乙醇补足重量。滤过,将续滤液水浴蒸干,甲醇溶解至5 mL量瓶中,过孔径0.45 μm 微孔滤膜,续滤液进入高效液相色谱中检测。

表 1 16 批水辣蓼产地

Tab.1 Origin of 16 batches of *Polygonum hydropiper*

Linn

编号	产地	编号	产地
1	广东茂林	9	吉林白城
2	广东广州	10	吉林通化
3	广西玉林	11	辽宁锦州
4	广西南宁	12	辽宁大连
5	贵州湄潭县	13	河北白洋淀
6	贵州六盘水盘县	14	河北邯郸
7	贵州黔东南荔波县	15	陕西商洛
8	贵州安顺	16	陕西汉中

2.2 色谱条件 Hypersil ODS2 C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流速 1.0 mL·min⁻¹;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:360 nm;进样量:10 μL ,流动相:乙腈-0.1%乙酸溶液(20:80)等度洗脱。分离色谱见图 1。芦丁在约 8 min 出峰,槲皮素在约 17 min 出峰。

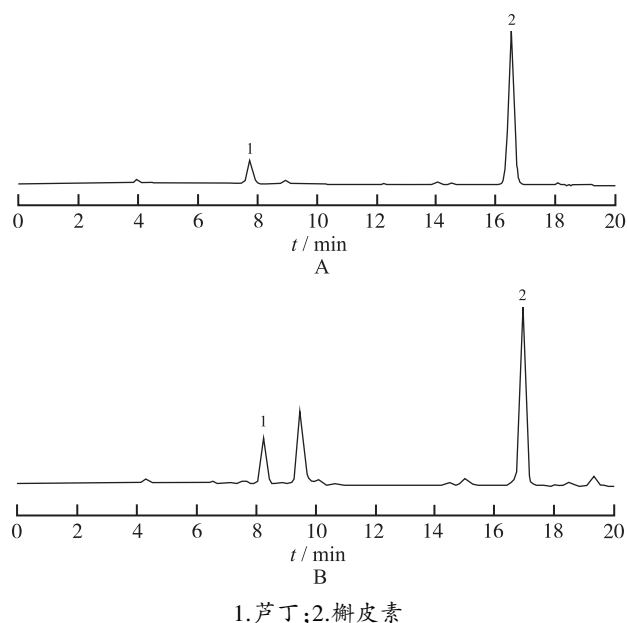


图 1 芦丁、槲皮素对照品(A)和水辣蓼药材(B) HPLC 色谱图

1. rutin; 2. quercetin

Fig.1 HPLC chromatograms of rutin and quercetin reference (A) and *Polygonum hydropiper* Linn (B)

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察

照品储备液配制成芦丁浓度 5.213, 10.23, 20.56, 50.12, 100.5, 200.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 槲皮素浓度 5.182, 10.16, 20.33, 50.82, 101.6, 203.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准混合对照液。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得到回归方程分别为 $Y = 26\ 802X + 20\ 123$, $r = 0.999\ 5$; $Y = 30\ 256X + 12\ 456$, $r = 0.997$ 。结果表明芦丁、槲皮素分别在 5.213~200.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 5.182~203.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 两个范围内线性良好。

2.3.2 重复性实验 精密称取同一批药材粉末 6 份(编号 1),按照供试品溶液制备方法制备,HPLC 测定得到 6 份芦丁、槲皮素的含量,RSD 分别为 0.213% 和 0.356%,均小于 3%,符合要求。

2.3.3 精密度实验 取同一对照品溶液(芦丁 50.12 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,槲皮素 50.82 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)按照上述色谱条件连续进样 5 次,芦丁和槲皮素日间精密分别为 1.211% 和 1.233%,日内精密度分别为 0.155% 和 0.215%。

2.3.4 稳定性实验 取同一份对照品溶液(芦丁 50.12 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,槲皮素 50.82 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),按照上述色谱条件分别于 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 进样,RSD 分别为 0.233% 和 0.456%,表明样品在 48 h 内稳定。

2.3.5 回收率实验 精取同一已知含量的水辣蓼分别置 9 个三角瓶中,每 3 份一组,按样品中芦丁和槲皮素含量的 120%, 100%, 80% 分别加入适量芦丁和槲皮素对照品溶液,然后按“2.1.2”项方法制备,测定,芦丁和槲皮素对照品平均加样回收率分别为 99.78% 和 97.281%,RSD 分别为 0.123% 和 1.451%,加样回收率合格。

2.4 聚类分析 本实验采用离差平方和方法对数据进行聚类分析。此法效仿方差分析的基本思想,即合理的分类使得类内离差平方和较小,而类间离差平方和较大^[9]。数据统计分析软件为 SAS 9.0 版。

按照“2.2”项方法对 16 批药材中芦丁、槲皮素含量进行测定,对比见表 2。16 个产地来源药材芦丁含量为 0.6578~0.9975 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,槲皮素含量为 0.4987~0.686 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。芦丁含量最高的药材来自 1 号(广东茂林),为(0.9975±0.0280) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;槲皮素含量最高的药材来自 3 号(广西玉林),为(0.7816±0.0112) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

将上述结果经过聚类分析可分为两类:1~9 号一类,10~16 号为一类,基本可以分为南水辣蓼(芦丁平均含量为 0.818 7 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,槲皮素平均含量为 0.585 7 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)和北水辣蓼(芦丁平均含量 0.715 4 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,槲皮素平均含量为 0.554 9 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),两类对比,南水辣蓼两种成分含量均比北水辣蓼高。见图 2。

表 2 16 批药材来源及成分含量

Tab.2 Origin and component content of 16 batches of *Polygonum hydropiper* Linn

产地编号	芦丁	槲皮素
1	0.997 5±0.028 0	0.678 5±0.013 1
2	0.876 4±0.020 0	0.597 4±0.000 9
3	0.954 2±0.045 0	0.781 6±0.011 2
4	0.876 3±0.059 0	0.527 8±0.006 1
5	0.762 4±0.032 0	0.521 3±0.009 9
6	0.685 3±0.032 0	0.498 7±0.008 7
7	0.876 2±0.040 0	0.612 3±0.012 0
8	0.657 8±0.037 0	0.541 2±0.004 0
9	0.682 3±0.051 0	0.512 3±0.026 0
10	0.647 2±0.004 0	0.459 1±0.031 0
11	0.715 6±0.016 0	0.612 3±0.015 0
12	0.714 3±0.004 0	0.458 9±0.013 0
13	0.756 8±0.049 0	0.513 8±0.003 0
14	0.749 5±0.040 0	0.612 3±0.014 0
15	0.697 8±0.037 0	0.542 1±0.006 0
16	0.726 8±0.017 0	0.685 6±0.009 0

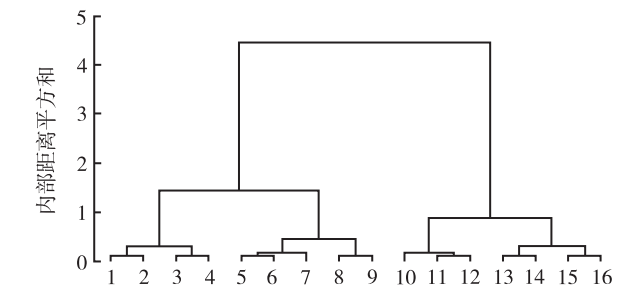


图 2 16 批水辣蓼聚类分析

Fig.2 Clustering analysis on 16 batches of *Polygonum hydropiper* Linn

3 讨论

中药材辣蓼通常指蓼科植物水辣蓼或旱辣蓼的干燥全草,产于我国南北各地,多生于溪边、山坡、湿地^[10]。本

实验研究了解不同产地水辣蓼中两种黄酮成分含量差异,当聚类分析分成两类时,按地区分为南北两大类,南水辣蓼含量更高。其中 9 号产地为吉林白城湿地附近,含量较北水辣蓼高,可被分到第一类中。当聚类分析分为四类时,即 1~4 号产地、5~9 号产地、10~12 号产地、13~16 号产地,产地明确被分为我国东南、西南、东北、中部地区,其中西南贵州地区水辣蓼芦丁、槲皮素含量最高。提示湿度高的地区水辣蓼质量更高,为水辣蓼的种植和质量提升提供理论依据。

参考文献

[1] 张宏武,任恒春,丁刚,等.水辣蓼中 2 种黄酮类成分含量测定[J].药学实践杂志,2012,30(5):378-379,389.

[2] 黄红泓,甄汉深.中草药辣蓼近年来的研究进展[J].中国民族民间医药,2013,22(1):38-40.

[3] 巩忠福,杨国林,严作廷,等.蓼属植物的化学成分与药理学活性研究进展[J].中草药,2002,33(1):82-84.

[4] 沈冰冰,王敏,罗娟,等.蓼属药用植物的化学成分及其药理活性研究进展[J].湖南中医药大学学报,2015,35(7):63-70.

[5] 石跃武,刘启志,蒋红,等.辣蓼总黄酮提取工艺及其抗菌活性[J].现代畜牧兽医,2017,46(4):5-8.

[6] 罗杰,陆霞.HPLC 法测定水辣蓼中芦丁的含量[J].中草药,2004,35(3):51-52.

[7] 高雅,张可锋,朱华.HPLC 测定不同产地辣蓼中槲皮素的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(21):89-91.

[8] 谷俐媛,陶俊宇,曾芸,等.辣蓼黄酮中芦丁、槲皮素与槲皮苷的含量分析[J].中国兽药杂志,2017,51(10):39-45.

[9] 孙振球,徐勇勇.医学统计学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2010:340-341.

[10] 柳春梅,吕鹤书,师光禄,等.辣蓼不同种间植物次生代谢产物种类及差异[J].天然产物研究与开发,2012,24(S1):193-197,113.