

HPLC 法测定江西省境内粗叶木药材中虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚的含量*

★ 万慧芳** 李斌 赖学文 刘庆华 黄小英 朱英 (江西中医学院 南昌 330006)

关键词:粗叶木;虎刺醇;虎刺醇-11-甲醚;含量测定

中图分类号:R 282.5 文献标识码:A

长尾粗叶木是茜草科粗叶木属植物 *Lasianthus cuminatissimus*, 分布于我国南方各省。其根俗称“铁骨人参”, 民间多用于治疗风湿性关节痛, 腰肌劳损, 跌打损伤等。《全国中草药汇编》记载其功效为“行气活血, 祛湿强筋, 止痛。主治跌打损伤, 风湿关节痛, 腰肌劳损”^[1], 前文^[2]我们已对长尾粗叶木进行了系统的化学成分研究, 结果表明虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚(图 1)2 个萜醌类成分是长尾粗叶木中含量较高的指标性成分。本文采用反相高效液相色谱法, 对江西境内 3 种主要粗叶木药材, 长尾粗叶木、污毛粗叶木 *Lasianthus hartii* 和榄绿粗叶木 *Lasianthus japonicas* 的根和茎中虎刺醇和虎刺醇-

11-甲醚的含量进行了研究, 为有效控制药材质量及合理利用药用植物资源提供了理论依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 Agilent1200 高效液相色谱仪, 大连依利特 Hypersil shim-pack-ODS-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚对照品(长尾粗叶木根中分离得到, 经面积归一化法测定纯度均大于 98%); 分析甲醇及色谱甲醇, 超纯水。

1.2 药材 长尾粗叶木 *Lasianthus acuminatissimus* 药材 2005 年 12 月采于江西省上饶县, 污毛粗叶木 *Lasianthus hartii* 2006 年 1 月采于江西省宜

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(20262003, 20662006)

** 通讯作者:李斌, 教授, Tel:86-791-7118992, E-mail:lily7077@tom.com

3 讨论

(1) 采用分光光度法测定药物的解离常数, 测定方法操作简便, 结果准确可靠。

(2) 从图 1 可看出, 流动相 pH 对延胡索乙素保留值的影响与其 pKa 值有明显的相关性, 即当流动相 pH 低于 pKa-1.5 时, 延胡索乙素主要以离子化状态存在, 保留值较小; 当 pH 到达 pKa±1.5 时, 延胡索乙素由离子化状态逐渐转化为分子化状态, 保留值迅速增加。因此, 由测定成分保留值随流动相 pH 变化关系可推测该成分的酸碱性, 反之, 已知测定成分的 pKa 对其分离条件的选择有重要的指导意义。

(3) 由图 2 可知, 在保留时间较短时, 柱效随保留时间延长而升高, 当保留达到一定程度, 柱效不再升高甚至下降。

(4) 从上述实验可知, 已知药物的解离常数对其分离检测条件选择有重要指导作用, 在延胡索药材中延胡索乙素分离条件的选择过程中, 当流动相 pH 为 6 时, 延胡索乙素大多以分子型存在, 而其他酸性成分(或离子型存在的生物碱)及中

性成分, 较短时间内出柱, 因此, 对延胡索乙素的分离不产生干扰, 故分离效果较好。

参考文献

- [1] 刘芳, 罗跃娥. 延胡索研究概况[J]. 天津中医学院学报, 2005, 24(4): 240-242.
- [2] 高军林, 李通化, 高洪涛. 自动快速地测定药物的电离常数[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(5): 417-418.
- [3] 刘西京, 杨大坚, 罗杰英. 紫外分光光度法测定葛根素的解离常数[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(11): 2206-2207.
- [4] 王国清, 杨波, 刘迎春. 分光光度指示剂法测定槐定碱的电离常数[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(6): 424-426.
- [5] 杜松, 邓英杰, 梁伟. 氧化苦参碱的理化常数[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(2): 80-84.
- [6] Robinson R A et al, The ionization constant of hydroxylamine[J]. J Phys Chem, 1961, 65: 1279.
- [7] 张兰, 陈国南, 方禹之. 毛细管电泳-电化学检测法用于生物碱电离常数线性模型的研究[J]. 化学学报, 2004, 62(10): 975-978.

(收稿日期: 2008-01-05)

丰县,均经江西中医学院赖学文教授鉴定;榄绿粗叶木药材 *Lasianthus japonicus* 2006年2月采于江西省赣州市,经江西中医学院刘庆华高级实验师鉴定。标本存放于江西中医学院药学院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为大连依利特 Hypersil shim-pack-ODS-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);虎刺醇流动相:45%甲醇水溶液、虎刺醇-11-甲醚流动相:50%甲醇水溶液;体积流量:1 ml/min;检测波长:254 nm;柱温:25℃;进样量:10 μl。在上述条件下虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚的保留时间分别为12.303、11.698 min;与其他相邻色谱峰分离度大于1.5,峰形较好。

2.2 线性关系考察 分别精密称定虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚对照品适量,置50 ml容量瓶中加入甲醇至刻度,分别制成虎刺醇浓度为0.1 mg/ml、虎刺醇-11-甲醚浓度为0.15 mg/ml的溶液。

精密吸取上述虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚对照品0.1、0.25、0.5、1、3、5 ml,均配制成10 ml溶液,分别进样10 μl,以峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标,线性回归,回归方程分别为: $Y = 46\,039X - 10\,121$, $r = 0.999\,95$; $Y = 32\,514X - 33\,684$, $r = 0.999\,95$ 。结果表明:虎刺醇在0.01~0.5 mg,虎刺醇-11-甲醚在0.015~0.75 mg范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 分别精密吸取虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚溶液10 μl,连续进样6次,测定其峰面积,计算,得其RSD分别为1.81%、1.01%。

2.5 稳定性试验 分别取虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚对照品溶液分别于0,1,2,4,8,12 h,分别进样10 μl,测定其峰面积,计算,得其RSD分别为2.22%、2.34%。表明两对照品溶液在12 h内都稳定。

2.6 加样回收率试验 分别精密称定粗叶木药材1 g,分别加入虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚对照品10 mg,按上述提取方法制备供试品备用。分别按上述色谱条件,进样10 μl测定,结果虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚的平均回收率分别为93.33%、96.97%,RSD分别为1.32%、1.84%($n=6$)。

2.7 样品测定 取长尾粗叶木药材干燥根粉末2 g,精密称定置50 ml圆底烧瓶中加入10 ml分析甲醇,水浴85℃加热回流提取1 h,趁热过滤,滤液置25 ml的容量瓶中,药渣再提取2次(每次加8 ml分

析甲醇,提取30 min),滤液置同一容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得样品溶液。取经甲醇提取3次后的药渣少量,溶于甲醇中,做碱水反应实验,无橙色出现,甲醇对蒽醌类成分的提取已完全。同样方法制得污毛粗叶木根和茎以及榄绿粗叶木根和茎的样品溶液,每样品制备6份溶液备用。

分别取样品溶液按前述的色谱条件,测定,记录色谱图,结果表明,样品按峰面积用外标法计算含量,结果见表1。

表1 不同粗叶木药材虎刺醇及虎刺醇-11-甲醚含量($n=6$) /μg·g⁻¹

药材	部位	虎刺醇	虎刺醇-11-甲醚
长尾粗叶木	根	31.71	2256.33
	茎叶	—	—
污毛粗叶木	根	—	706.71
	茎叶	—	—
榄绿粗叶木	根	—	681.51
	茎叶	—	87.97

3 讨论

3.1 流动相的选择 考察了甲醇-水,乙腈-水系统,但甲醇-水系统效果更好,所以选用了甲醇-水系统。在此基础上考察了甲醇-水的不同配比,最终虎刺醇选择了甲醇-水(45:55)作为流动相、虎刺醇-11-甲醚选择甲醇-水(50:50),在此条件下,样品分离度较好,杂质峰干扰少,峰形好。

3.2 检测波长的选择 采用紫外分光光度计对虎刺醇对照品进行波长扫描。结果虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚分别在228、257、291 nm;246、281、246 nm下有最大吸收,通过比较发现:虎刺醇和虎刺醇-11-甲醚都在254 nm下灵敏度更高,相邻峰干扰小,峰形好,因此,选择254 nm作为检测波长。

3.3 提取条件的选择 前面^[2]我们对长尾粗叶木进行系统化学成分研究时,以甲醇为提取溶剂,因此,本试验用甲醇为提取溶剂考查三种不同药材的两种蒽醌类成分含量,且经甲醇提取三次后的药渣少量,溶于甲醇中,做碱水反应实验,呈阴性,说明甲醇对蒽醌类成分的提取完全,因此,提取方法可行。

参考文献

- [1]国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].第六卷.上海:上海科学技术出版社,1999:446.
- [2]李斌,张东明,罗永明,等.长尾粗叶木根化学成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(2):133.

(收稿日期:2007-10-16)