

RP-HPLC 法测定不同采收期黄花岗头中 关附甲素的含量

中国药科大学天然药物化学教研室(南京 210009)

冯 锋* 黄 剑 刘静涵

摘 要 采用 RP-HPLC 方法对黄花岗头 *Aconitum coreanum* 抗心律失常有效成分关附甲素(guanfu base A)的含量进行了测定。并对不同采收期黄花岗头的不同部位中关附甲素的含量进行比较,结果显示关附甲素在 8 月份采收的根中含量最高。实验采用 C_{18} 柱,以乙腈-磷酸三乙胺缓冲液为流动相,检测波长 208 nm,以外标法定量,为合理有效地利用药物资源提供了参考。

关键词 黄花岗头 关附甲素 RP-HPLC 含量测定

关白附子为毛茛科乌头属植物黄花岗头 *Aconitum coreanum* (Lévl.) Rapaics 的块根,具有祛风、燥湿、化痰、止痛的功效,主治中风痰壅、口眼歪斜、头痛、癫痫、风寒湿痹等,为中医临床常用中药之一^[1,2]。据文献报道,已从关白附子中得到了十几种生物碱,且大多数具有较显著的生理活性^[1]。药理研究表明,其主要成分关附甲素、关附庚素、关附壬素具有抗心律失常、抗炎、镇痛作用^[1],其中盐酸关附甲素注射液由中国药科大学申报国家一类新药,现已进入一期临床研究末期,有望成为一个疗效显著的新型抗心律失常药。本实验应用 RP-HPLC 法测定关附甲素的含量,具有分离度好、准确、快速等优点,并根据不同采收期黄花岗头的不同器官中该生物碱含量,提出黄花岗头的最佳药用部位及最佳采收期,为有效合理地利用生药资源提供了参考。

1 仪器与药品

1.1 仪器:岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪,岛津 SPD-10AV 型紫外-可见光检测器,WDL-95 色谱工作站(中科院大连化学物理研究所,国家色谱研究分析中心),CQ250 型超声清洗器,pHS-25 型数显酸度计。

1.2 药品:对照品:关附甲素由植化教研室

刘静涵教授提供;供试品:共 11 种,由沈阳药材公司宁绍智提供。

试剂:乙腈、甲醇为色谱纯,无水乙醚、浓氨水、三乙胺、磷酸均为分析纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件:色谱柱:Alltech alltima C_{18} 5 μ 150 mm $\times$ 4.6 mm 色谱柱和 Alltechpellicular C_{18} refill 3 grs 预柱。

流动相:乙腈-磷酸三乙胺缓冲液(pH 3.04)(2:8),流速 1.0 mL/min。

检测波长与灵敏度:检测波长 208 nm, AUFS=0.05。

2.2 样品溶液的制备:取生药粉末约 1 g,精密称定,置于锥形瓶中,加 10%氨溶液 0.5 mL 及乙醚 15 mL,冷浸 40 h,滤过。残渣用乙醚洗涤 3 次,每次 5 mL,合并醚液,挥干。残渣加少量甲醇溶解,移入 2 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀即得。

2.3 标准曲线的制备:精密称定关附甲素对照品约 10 mg,甲醇定容至 10 mL,制成浓度约为 1.0 mg/mL 的关附甲素对照品溶液。分别量取该对照液 2.0、1.0、0.8、0.5、0.3 mL,甲醇定容至 2.0 mL 容量瓶,得系列关附甲素对照品溶液。在选定的色谱条件下各进样 10 μ L,测定峰面积,以平均峰面积 A 对进样

* Address: Feng Feng, China Pharmaceutical University, Nanjing

量 $W(\mu\text{g})$ 计算回归方程:

$A = 1.5415 + 1.6380 \times 10^4 W$ ($n = 5, r = 0.9998$), 线性范围: $1.55 \sim 10.3 \mu\text{g}$ 。

2.4 精密密度试验

2.4.1 进样精密密度试验: 取浓度约为 1.0 mg/mL 对照液 $10 \mu\text{L}$, 连续进样 5 次, $RSD = 2.9\%$ 。

2.4.2 方法精密密度试验: 平行称取同种药材 (1997-8-24 采集根) 3 份, 依“供试品制备”项下方法制备溶液, 在上述色谱条件下测定含量, $RSD = 0.9\%$ 。

2.5 稳定性试验: 将关附甲素对照液放置 $0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 \text{ h}$ 后, 按上述色谱条件进行测定, 其峰面积的 $RSD = 3.3\%$, 表明关附甲素甲醇溶液在 3 h 内稳定。

2.6 回收率试验: 精密称取 2 份 1997 年采老根样品各 2 g , 分别加入浓度为 0.992 mg/mL 的关附甲素对照液 1 mL 和 0.5 mL , 依“供试品制备”项下方法制备溶液, 在上述色谱条件下测定含量, 结果回收率为 92.1% 、 97.2% 。

2.7 样品关附甲素含量测定: 分取供试品溶液进样, 依法测定, 按标准曲线计算含量。结果见表 1。

3 结论与讨论

由本实验的数据结果可知, 不同采收期黄花乌头的不同部位中关附甲素的含量有显著差异, 其中根中含量最高, 尤以 8 月份采集的根中含量最高。因此建议黄花乌头的最佳采集部位是根, 最佳采集期为 8 月份。

表 1 不同采收期黄花乌头不同部位的关附甲素含量

供试品编号	采集部位	采集时间	甲素含量(%)
1	小枝	1997-08-24	0.2088
2	主干	1997-08-24	0.1360
3	花	1997-08-24	0.1999
4	根	1997-08-24	1.1580
5	地上茎	1997-10	0.1352
6	根	1997-10	0.4480
7	地上茎	1997-11	0.1053
8	根	1997-11	0.08009
9	老根	1997	0.07354
10	根	1997-08-30	1.072
11	根	1997-07-25	0.9166

在实验过程中, 注意到关附甲素在甲醇中长时间放置不稳定, 易分解成为胺醇。因而在实验过程中尽量缩短样品在甲醇中的时间, 对照品溶液最好现配现用, 以保证实验结果的准确性。

参考文献

- 1 刘静涵, 等. 中草药, 1981, 12(3): 1
- 2 孙友富, 等. 中国中药杂志, 1991, 16(12): 738
(1998-09-21 收稿)

Assay of Guanfu Base A in Korean Monkshood (*Aconitum coreanum*) at Different Stages of Reaping by RP-HPLC

Feng Feng, Huang Jian and Liu Jinghan (Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

Abstract A method for the determination of guanfu base A, the active anti-arrhythmic principle in *Aconitum coreanum* (Lévl.) Raipaics by RP-HPLC was reported. Results showed that its content was higher in the root collected in August. A good separation and quantitative determination method was accomplished on an ODS column with UV detector at 208 nm . $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}-\text{H}_3\text{PO}_4-\text{NEt}_3$ ($2:8 \text{ v/v}$, $\text{pH } 3.04$) was used as the mobile phase.

Key words *Aconitum coreanum* (Lévl.) Raipaics guanfu base A RP-HPLC

敬告读者

本刊编辑部尚有部分过刊精装合订本, 包括: 1991~1994 年 (50 元/年); 1995~1997 年 (102 元/年); 1998 年 (120 元); 1996 年增刊 (50 元); 1997 年增刊 (45 元); 1998 年增刊 (55 元)。欢迎来电订购。