

HPLC 法测定金雀根中 carasinol B

周 红, 舒 娜, 胡昌奇*

(复旦大学药学院 天然药化教研室, 上海 200032)

金雀根是豆科植物锦鸡儿属植物锦鸡儿 *Caragana sinica* (Buc' hoz) Rehd. 的根或根皮, 味甘微辛、性平, 具有清肺益脾、活血通脉的功效。我国民间主要用于治疗虚损劳热、咳嗽、高血压、妇女白带、血崩、关节痛风、跌打损伤和高血压等^[1]。近年发现金雀根的醋酸乙酯部位具有较强的刺激成骨细胞增殖的活性, 并发现该部位的主要化学成分是二苯乙烯类化合物。其中化合物 carasinol B ($C_{56}H_{44}O_{13}$)^[2]就是从金雀根的醋酸乙酯可溶部位分得的二苯乙烯四聚体, 体外细胞试验证明确实有刺激成骨细胞增殖的活性, 质量分数较高而且性质稳定^[3]。笔者将 carasinol B 制备成对照品, 建立了 HPLC 法测定金雀根中 carasinol B 的分析方法, 并对 3 批不同产地的药材进行了测定。

1 材料

1.1 仪器与试剂: Agilent 1100 series 高效液相色谱仪及 DAD 检测器, 安捷伦科技有限公司; 色谱用硅胶 (160~200 目, 200~300 目), 青岛海洋化工厂分厂。甲醇、乙腈 (色谱纯, DIMA Technology INC), 醋酸钠、冰醋酸 (分析纯)。

1.2 药材: 金雀根分别采集于湖北省黄梅地区 (2004 年 7 月和 12 月) 和云南昆明 (2001 年 12 月), 原植物由华东师范大学生物系冯志坚教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Thermo C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-乙腈-醋酸盐缓冲液 (pH 4.50) (14 : 12 : 74); 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 284 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C。上述色谱条件下 carasinol B 的保留时间为 14 min 左右。

2.2 对照品的制备: 取金雀根醋酸乙酯部位浸膏 240 g, 先用 160~200 目硅胶柱色谱得到化合物 carasinol B, 再用 200~300 目硅胶反复进行柱色谱纯化, 氯仿-甲醇 (7 : 1~5 : 1) 洗脱, 得到 carasinol B 的对照品 160.3 mg, HPLC 法检测质量分数大于

99.0%, 符合作为对照品的要求。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取 carasinol B 的对照品 11.80 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 流动相超声溶解定容, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 作为对照品溶液 (质量浓度为 236 μ g/mL)。

2.4 供试品溶液的制备: 精密称定金雀根粉末 1.000 g, 加入 50% 乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 冷却后, 滤纸滤过, 用 50% 乙醇 50 mL 洗药渣两次, 合并滤液并浓缩, 浸膏溶于 50 mL 蒸馏水中, 同体积醋酸乙酯萃取 3 次, 合并醋酸乙酯层并浓缩, 流动相溶解后定容, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 作为供试品溶液。

2.5 线性关系考察: 将 carasinol B 对照品的储备溶液分别配制成 236、118、94.4、59、47.2、18.88、9.44 μ g/mL 的对照品溶液, 经微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 在上述色谱条件下, 进样 20 μ L, 记录色谱图。质量浓度 (C) 与峰面积值 (A) 的回归方程为: $A = 5.9598C - 4.5291$, $r = 0.9999$, 线性范围 9.44~236 μ g/mL。

2.6 精密度试验: 精密吸取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 每次 20 μ L, 以 carasinol B 的峰面积计, RSD 为 1.34%。

2.7 重现性试验: 精密称取供试品 5 份, 制成供试品溶液, 测定 carasinol B 的峰面积, 结果 RSD 为 1.29%。

2.8 稳定性试验: 供试品溶液每隔 24 h 测 1 次, 共测 3 次, carasinol B 峰面积的 RSD 为 1.03%。

2.9 加样回收率试验: 精密称取样品 0.5 g, 5 份, 加入 47.2、18.88、9.44 μ g/mL carasinol B 对照品溶液 1 mL, 按供试品测定方法测定, carasinol B 的平均回收率为 98.39%, RSD 为 1.09% ($n=5$)。

2.10 样品测定: 分别精密称取样品 3 批各 1.000 g, 制成供试品溶液, 进行测定, 记录 carasinol B 的峰面积, 计算质量分数, 结果见表 1。

收稿日期: 2005-10-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270155)

作者简介: 周 红 (1981—), 女, 在读硕士生, 主要从事天然药物化学的研究。

Tel: (021) 54237339 E-mail: lzhouhong800829@yahoo.com.cn

* 通讯作者 胡昌奇

表 1 金雀根中 carasinol B 的测定 (n=3)
Table 1 Determination of carasinol B in Radix Caraganae Sinicae (n=3)

药材产地	采集时间	Carasinol B/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
湖北黄梅	12 月	0.42	1.34
湖北黄梅	7 月	0.72	0.28
云南昆明	12 月	0.31	1.45

3 讨论

本实验将 carasinol B 制备成对照品,并建立了金雀根中 carasinol B 的测定方法(图 1)。本实验建立的分析方法快速、简便,具有良好的精密性、稳定性和重现性。

Carasinol B 体外细胞试验证明具有刺激成骨细胞增殖的活性,它属于二苯乙烯类化合物,是金雀根的活性成分之一,主要存在于金雀根的醋酸乙酯可溶部位,性质稳定,可以作为金雀根的质量控制样品。

本实验同时分析了不同产地不同采集时间的金雀根中 carasinol B 的量。得到的结论是采集于相同时间都是 12 月份的,湖北黄梅的量高于云南昆明

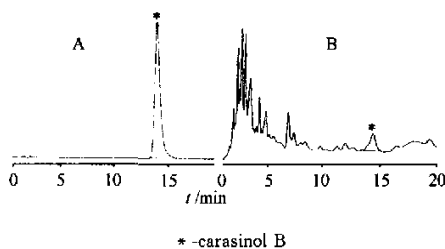


图 1 Carasinol B 对照品(A)及金雀根(B)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of carasinol B (A) and Radix Caraganae Sinicae (B)

的,而采集于相同地点都是湖北黄梅的 7 月份的量高于 12 月份的。有效成分量的不同可能是由于土壤、气候、水份、温度等的不同造成的。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1975.
- [2] Ma D Y, Lou H F, Hu C Q. Three stilbenes from the roots of *Caragana sinica* [J]. *Chin J Chem*, 2004, 22, 207-221.
- [3] Luo H F, Zhang L P, Hu C Q. Five novel oligostilbenes from the roots of *Caragana sinica* [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57: 4849.

HPLC 法测定羌活中阿魏酸、羌活醇、苯乙基阿魏酸酯和异欧前胡素

古丽娜·沙比尔^{1,2}, 郭洪祝¹, 郭 慧¹, 马晓驰¹, 王 炜¹, 果德安^{1*}

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 新疆中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002)

羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. I. Chang、宽叶羌活 *N. forbesii* Boiss. 或川羌活 *N. franchetii* Boiss. 的根及根茎,有散表寒、祛风湿、利关节等功效,用于治疗感冒风寒、头痛无汗,风寒湿痹、项强筋急、骨节酸痛、风水浮肿、痲痘疮毒等^[1]。本属植物的主要活性成分为香豆素类化合物。羌活为《中国药典》2005 年版一部收载品种,但对羌活药材未作定量测定要求,其质量仅通过测定挥发油的量来控制,规定总挥发油不得少于 0.028 mL/g^[2]。为了有效地控制羌活药材的质量,本实验选择羌活药用部分中量较高的 4 种有效成分(阿魏酸、羌活醇、苯乙基阿魏酸酯、异欧前胡素)作为定量指标,建立羌活的 RP-HPLC 测定法,为中药羌活内在质量的评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Agilent 1100 型高效液相色谱仪(德国 Agilent Technologies)。配二级管阵列检测器和 ChemStation 色谱工作站,四元溶剂系统、在线脱气机、自动进样器、柱温箱。Sardoris 电子天平(德国 Statarius 公司)。HPLC 级乙腈(加拿大 LTD 公司);色谱纯甲醇(北京市华准化学试剂科技开发部);冰醋酸为分析纯(北京化学试剂公司);双蒸水(Millipore simplicity 纯水制备系统)。

羌活对照药材购自中国药品生物制品检定所(批号:120935-200405)。四川羌活药材从四川阿坝州采集,其他 23 批羌活药材均购自当地药店或医院,由本室果德安教授鉴定。对照品羌活醇(notopteroI)、苯乙基阿魏酸酯(phenethyl ferulate)和异欧前胡素(isoimperatorin)3 种成分均为笔者分离所得,并经 4 大光谱(UV、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR)

收稿日期: 2005-11-10

作者简介: 古丽娜·沙比尔(1963-),女(维吾尔族),新疆伊犁人,副研究员。2002-2005 年在北京大学药学院特培,访问学者,研究方向: 中药质量控制及天然药物化学研究。 Tel: (0991)2637505 E-mail: gulnar_sabir@163.com

* 通讯作者 果德安 Tel: (010)82801516 Fax: (010)82802700 E-mail: gda@bjmu.edu.cn