

- [3] Ito H, Muranaka T, Mori K, *et al.* Dryofragin and aspidin PB. piscicidal components from *Dryopteris fragrans* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 10(45): 1720-1722.
- [4] Wei D S, Zeng L L, Wang Y P, *et al.* Propagation and growth of *Neolepisorus truncatus* Ching P. S. Wang [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(9): 524-526.
- [5] Wang Q X, Shao C W, Cao J G, *et al.* Study on the development of gametophytes of ferns from north-eastern China. M. *Dryopteridaceae* [J]. *J Harbin Norm Univ* (哈尔滨师范大学学报), 1995, 4(11): 83-88.
- [6] Momose S. *Prothallia of the Japanese Ferns* [M]. Tokyo, University of Tokyo Press, 1967.
- [7] Kayar B K, Kaur S. Gametophytes of homosporous fern [J]. *Bot Res*, 1971, 37(3): 295-396.
- [8] Miller J H. Fern gametophytes as experimental material [J]. *Bot Res*, 1968, 34: 361-370.
- [9] Yuan Y, Tian S N, Ye A H, *et al.* Studies on the rapid propagation of *Osmunda japonica* Thunb. [J]. *Acta Horticult Sin* (园艺学报), 2002, 29(3): 247-250.

HPLC 法测定不同生长期两面针药材中氯化两面针碱

刘华钢¹, 黄秋洁², 赖茂祥³

(1. 广西医科大学, 广西 南宁 530012; 2. 广西中医学院, 广西 南宁 530001;

3. 广西中医药研究院, 广西 南宁 530035)

两面针是《中国药典》2005 年版收载的常用中药,也是广西大宗主产优势中药材之一,其植物来源为芸香科植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 的干燥根。由于两面针具有良好的行气止痛、活血化瘀、祛风通络作用,故为常用药物,广泛应用于中医处方、中成药及精细化工产品中,两面针药材及其相关产品所属产业已经成为振兴广西经济的特色产业之一。为了更好地合理利用两面针药用资源,本实验对不同月份生长期两面针药材中有效成分氯化两面针碱的量进行考察,探讨两面针中氯化两面针碱成分的变化规律,以便对两面针药材的质量进行综合的评价。

1 仪器与试药

液相色谱仪系统包括:Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(包括 G1131 四元泵, G1313 自动进样器, G1131 脱气机, G1314A 紫外可见检测器, G1316 柱温箱,并配备 HP1100 工作站)。

氯化两面针碱(中国药品生物制品检定所,批号 848-9901);两面针样品 1~12 月采收,所有样品均采自广西南宁市高峰林场,经广西中医药研究院中药室赖茂祥副研究员鉴定为芸香科植物两面针 *Z. nitidum* (Roxb.) DC. 的干燥根。乙腈为色谱纯;水为高纯水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Lichro Sphere C₁₈

(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-缓冲液(0.2%三乙胺+0.2%磷酸)(30:70);柱温:35℃;体积流量:1.0 mL/min;检测波长:272 nm;进样量 10 μL。理论塔板数按氯化两面针碱计算应不低于 3 000。按上述色谱条件,氯化两面针碱对照品,样品的色谱图见图 1。在样品色谱图中,与对照品色谱相应的位置上有一相同保留时间的色谱峰。

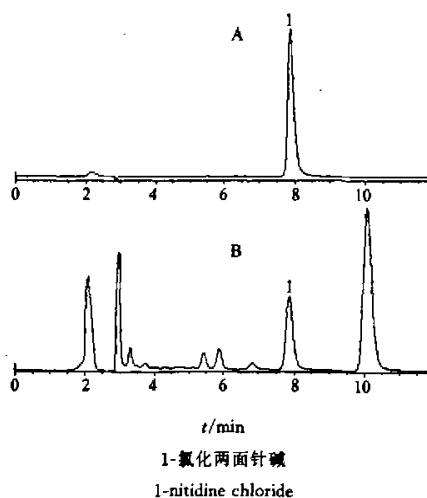


图 1 对照品(A)和药材样品溶液(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and sample solution (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取氯化两面针碱对照品 9.75 mg 置 25 mL 量瓶中,加适量甲醇使之溶

收稿日期:2007-01-10

作者简介:刘华钢(1956—),女,教授,博士生导师,广西医科大学副校长,研究方向为中药新剂型、新制剂及中药药理作用机制的研究。
Tel:(0771)5350964 E-mail:hglu@263.net

解并加至刻度,摇匀,备用。

2.3 供试品溶液的制备^[1]:取各批两面针药材粗粉约1g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇100mL,加热回流提取至回流液无色,提取液回收甲醇至约2mL,转移至10mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀后,精密吸取其2mL,置25mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试液,取10μL注入色谱仪,依法测定。

2.4 线性关系考察:精密吸取对照品溶液0.2、0.3、0.5、0.8、1.0、1.2mL,分别置于10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,配成7.8、11.7、19.5、31.2、39.0、46.8μg/mL一系列对照品溶液,各进样10μL,按上述色谱条件测定,以进样量为横坐标,相应峰面积为纵坐标,作回归曲线,得回归方程: $Y=6427.51X+29.08$, $r=0.9996$,氯化两面针碱在0.078~0.468μg呈良好线性。

2.5 精密度试验:取同一供试液,连续进样6次,测氯化两面针碱质量分数的RSD是0.26%。

2.6 稳定性试验:取同一供试液,每隔3h进样测定1次,共测定5次。氯化两面针碱质量分数的RSD是0.76%。结果表明,供试液至少在12h内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批药材共5份,每份约1g,精密称定,分别制备供试液,测定并计算氯化两面针碱的质量分数,结果氯化两面针碱的RSD是1.32%。

2.8 加样回收试验:精密称取药材约0.5g,共6份,分别精密加入适量对照品溶液,制备供试液,依法测定,计算回收率。结果氯化两面针碱的平均回收率是99.34%,RSD是1.01%。

2.9 样品测定:取不同生长期的两面针药材粗粉约1g,精密称定,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,结果见表1。

3 讨论

以上结果表明,从1月至温度最高的6月,两面针中氯化两面针碱有效成分量持续下降,而温度较

表1 不同生长期样品的量测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of samples from different growing stages ($n=3$)

月份	氯化两面针碱/%	RSD/%	月份	氯化两面针碱/%	RSD/%
1	0.328	0.35	7	0.151	1.32
2	0.305	0.66	8	0.213	1.24
3	0.268	0.65	9	0.283	0.71
4	0.224	0.89	10	0.295	0.90
5	0.196	1.35	11	0.336	0.89
6	0.139	1.51	12	0.387	0.68

为适宜的8月份至12月份两面针中氯化两面针碱有效成分的量平稳上升,12月达到高峰。在两面针生长周期中,随气温和雨水的变化有效成分氯化两面针碱合成积累有明显的变化,这两者之间可能存在某种联系,还有待于进一步深入研究。生物碱是由不同的氨基酸或其直接衍生物合成而来,是次级代谢物之一,也有可能在植株的营养生长旺盛期,其光合同化产物集中供给植物体营养生长,进行自身营养物质积累^[2],造成次生代谢的底物不足,使有效成分的生物合成途径受到影响,合成速率减慢,表现出这一时期两面针中有效成分氯化两面针碱的量较低(在营养生长旺盛期有效成分的量出现低谷);当营养生长旺盛期过后,植物由于积累了较为充足的底物用以合成次生代谢产物,表现出有效成分量的高峰期出现在营养生长高峰期之后。

可见广西两面针的氯化两面针碱的量与采收期有密切关系。氯化两面针碱是两面针中主要生物活性物质,其是衡量两面针质量的重要指标,要控制广西两面针的质量首先要控制好广西两面针的采收期。本实验选择了两面针的代表成分氯化两面针碱作为分析指标,从实验结果看,广西两面针采收期初步定在12月采收为宜。

References

- [1] CA P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Ding S P, Liu Y H, Li J, et al. Study on the chemical constituents of *Isatis indigotica* Fort 1 [J]. *Her Med* (医药导报), 2001, 20(8): 475-476.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年、1976年、1979年、1985-1994年(80元/年),1995-1997年(110元/年)、1998年(120元/年)、1999年(135元/年)、2000年(180元/年)、2001-2003年(200元/年)、2004年(220元/年)、2005年(260元/年)、2006年(280元/年)。1996年增刊(50元)、1997年增刊(45元)、1998年增刊(55元)、1999年增刊(70元)、2000年增刊(70元)、2001年增刊(70元)、2002年增刊(65元)、2003年增刊(65元)、2004年增刊(65元)、2005年增刊(65元)、2006年增刊(65元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821

传真:(022) 23006821

E-mail: zcyzbjb@tjpr.com