

滤液,即得。

2.4 线性关系考察:精密称取番石榴苷对照品适量,加甲醇溶解制成质量浓度分别为0.078 7、0.236 1、0.393 5、0.629 6、0.787 0、1.180 5 mg/mL系列对照品溶液。分别精密吸取上述溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积为横坐标,番石榴苷量为纵坐标绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = 3.284 0 \times 10^6 X + 1.940 7 \times 10^5$, $r = 0.999 9$ 。结果表明番石榴苷在0.787~11.805 μ g与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取番石榴苷对照品溶液(0.550 8 mg/mL)10 μ L,注入液相色谱仪,连续测定6次,测定番石榴苷峰面积,其RSD为0.01%。

2.6 稳定性试验:取番石榴叶药材供试品溶液10 μ L,注入液相色谱仪,分别在0.5、1、2、4、8、12、24 h进样,测定其峰面积,其RSD为0.84%,结果表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.7 重现性试验:取番石榴叶药材供试品6份,每份约2 g,分别精密称定,制备供试品溶液,测定番石榴苷峰面积,计算其质量分数RSD为0.92%。

2.8 加样回收率试验:取番石榴叶药材供试品6份,每份约1 g,分别精密称定,加入番石榴苷对照品溶液(0.15 mg/mL)各50 mL,制备供试品溶液,分别测定,计算加样回收率。结果平均回收率为98.02%,RSD为1.21%。

2.9 样品测定:分别精密吸取番石榴苷对照品溶液和供试品溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,测定3批药材样品,测定结果见表1。

3 讨论

表1 样品测定结果(n=3)

批号	番石榴苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	7.47	0.92
2	4.31	1.21
3	5.23	1.04

曾以甲醇-水(36:64)、甲醇-0.2%磷酸溶液(36:64)、甲醇-0.2%冰醋酸溶液(36:64)为流动相进行试验,结果以甲醇-0.2%磷酸溶液(36:64)为流动相,番石榴苷与其他组分色谱峰达到较好分离。以番石榴苷对照品溶液进行紫外(200~400 nm)扫描,在360、257 nm处均有吸收,经实验结果证明番石榴苷在257 nm处吸收较强,且分离效果良好,故选择257 nm作为检测波长。

样品用甲醇溶解,分别考察回流提取、索氏提取及超声提取的效果。结果表明,样品用甲醇超声提取30 min效果较好,方法操作简便,番石榴苷提取完全。番石榴苷可溶于甲醇、乙醇等溶剂,因此采用70%甲醇、70%乙醇、甲醇超声提取30 min比较。结果表明,用甲醇超声提取效果最佳,番石榴苷提取完全。

通过本实验建立了HPLC测定番石榴叶药材中番石榴苷量的方法,该方法准确、可靠。但是由于时间的关系,采集的药材批数有限,所以该方法只作方法学研究。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1992.
- [2] 曾玉兰. 番石榴叶的显微与薄层色谱鉴别[J]. 中药材, 2002, 25(8): 552-553.
- [3] 朱长福, 同利琪, 柯有梅, 等. 番石榴叶的质量标准研究[J]. 中草药, 2006, 37(6): 942-943.

RP-HPLC法测定石仙桃中天麻素和天麻苷元

林丽聪¹, 吴春敏^{2*}, 陈海滨², 张怡评¹

(1. 福建中医学院 药学系, 福建 福州 350003; 2. 福建省药品检验所, 福建 福州 350001)

摘要: 目的 建立石仙桃药材中天麻素及天麻苷元的测定方法, 测定新鲜石仙桃不同药用部位及石仙桃炮制品中天麻素和天麻苷元的量。方法 采用Hypersil C₁₈色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 乙腈-0.05%磷酸溶液(3:97)为流动相, 检测波长为220 nm。结果 不同药用部位中所含的量相差较大; 天麻素、天麻苷元质量浓度与峰面积均呈良好的线性关系; 平均回收率分别为99.61% (n=6)、97.17% (n=6)。结论 本法操作简便、准确、具有良好的重现性, 为石仙桃药材的合理应用及质量控制奠定基础。

收稿日期: 2007-06-10

基金项目: 福建省科技攻关重点项目(2004Y31)

作者简介: 林丽聪(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学及药物质量标准研究。

* 通讯作者 吴春敏 Tel: (0591) 87622202 E-mail: wchmra@yahoo.com.cn

关键词: 石仙桃; 天麻素; 天麻苷元; 高效液相色谱

中图分类号: R 282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0283-03

石仙桃系兰科石仙桃属植物石仙桃 *Pholidota chinensis* Lindl. 的全草, 始载于《生草药性备要》, 广泛分布于福建、广东、广西等省。本品为福建民间常用的一种中草药, 性味甘凉, 具有养阴、清热、利湿消瘀的功效。临床上主要用于治疗高血压、头晕和各种原因引起的头痛, 也可用于咳嗽、吐血、梦遗等^[1]。其提取物制成的单方制剂头痛定糖浆为国家准字号药品, 临床上用于治疗神经机能性头痛、脑震荡后遗症^[2]。石仙桃药材中的镇痛有效成分为天麻素和天麻苷元^[3], 因而测定石仙桃中天麻素和天麻苷元的量对于控制药材质量具有重要的意义。为发掘石仙桃不同部位的药用价值, 本实验分别测定了新鲜石仙桃叶子、假鳞茎、根茎、根及种子中天麻素和天麻苷元的量, 并选择假鳞茎以 100 水煮 20 min, 60 烘烤^[4]进行炮制, 建立其天麻素及天麻苷元的测

定方法, 为石仙桃药材的合理应用及质量控制提供理论依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, CLAS-VP 色谱工作站。

天麻素(批号 110807-200205)、天麻苷元(批号 H20006-10G)对照品由中国药品生物制品检定所提供。石仙桃药材经福建省药品检验所鉴定为兰科石仙桃属植物石仙桃 *P. chinensis* Lindl., 乙腈为色谱纯, 纯净水为 Milli-Q 纯水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液 (3:97); 检测波长: 220 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。色谱图见图 1。

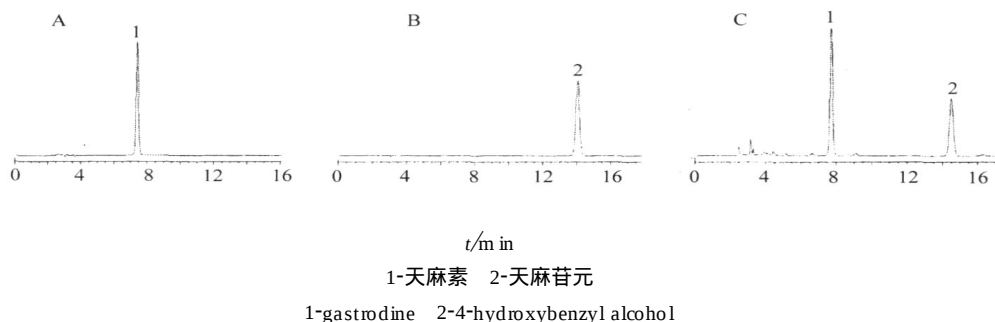


图 1 天麻素对照品(A)、天麻苷元对照品(B)和石仙桃药材(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of gastrodine (A), 4-hydroxybenzyl alcohol (B), and *Pseudobulbus seu Herba Pholidotae Chinensis* (C)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取常温减压干燥 12 h 的天麻素对照品适量, 加乙腈-水 (3:97) 溶液溶解, 制成 100 μg/mL 的溶液。精密称取常温减压干燥 12 h 的天麻苷元对照品适量, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 精密吸取 1 mL 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈-水 (3:97) 溶液制成 10 μg/mL 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 石仙桃鲜品剪碎, 取约 2 g; 炮制品粉碎后过 4 号筛, 取约 0.5 g, 分别精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流提取 4 h, 放冷, 再称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 5 mL, 浓缩至近干, 残渣加乙腈-水 (3:97) 溶液溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加乙腈-水 (3:97) 溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4 标准曲线的制备: 精密称取常温减压干燥 12 h 的天麻素对照品适量, 加乙腈-水 (3:97) 溶液溶

解, 制成 1.140 mg/mL 的溶液。精密吸取上述溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1、2、5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加乙腈-水 (3:97) 稀释至刻度, 摇匀。精密称取常温减压干燥 12 h 的天麻苷元对照品适量, 加甲醇制成 0.1078 mg/mL 的溶液。精密吸取上述溶液 0.1、0.5、1、2、5、10、15、25 mL 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈-水 (3:97) 稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述对照品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪, 以峰面积 (Y) 对进样质量浓度 (X) 回归, 得回归方程。天麻素: $Y = 1883775.55X + 19377.25$, $r = 1.000$, 线性范围为 11.40 ~ 570.0 μg/mL; 天麻苷元: $Y = 3427039.41X - 1776.03$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.1078 ~ 26.95 μg/mL。

2.5 精密度试验: 取同一供试品溶液重复进样 6 次, 每次 10 μL, 测定峰面积。天麻素和天麻苷元 6 次峰面积计算结果的 RSD 分别为 1.24% 和

1.50%。

2.6 重现性试验: 取同一产地石仙桃炮制品 5 份, 每份约 0.5 g, 分别精密称定, 制备供试品溶液, 按上述高效液相色谱条件测定, 结果天麻素和天麻苷元质量分数的 RSD 分别为 2.00% 和 2.27%。

2.7 稳定性试验: 取同一产地石仙桃炮制品 1 份, 制备供试品溶液, 分别在 0、4、6、8、10、12 h 进样, 测定峰面积, 天麻素和天麻苷元峰面积的 RSD 分别为 0.27% 和 2.90%, 结果表明样品在制备供试品溶液后至少 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 精密称取石仙桃炮制品 6 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 5.98 mg/mL 天麻素对照品 1 mL 和 63 μg/mL 天麻苷元对照品 1 mL, 制备供试品溶液, 按上述高效液相色谱条件测定, 计算, 结果天麻素和天麻苷元的平均回收率分别为 99.61% 和 97.17%。RSD 值分别为 3.85% 和 2.01%。

2.9 样品测定

2.9.1 新鲜石仙桃不同部位的测定: 取新鲜石仙桃叶子、粗假鳞茎、细假鳞茎、根茎、根及种子各约 2 g, 分别精密称定, 制备供试品溶液, 按上述高效液相色谱条件测定, 结果见表 1。

表 1 石仙桃不同部位中天麻素和天麻苷元的测定结果(n= 2)

Table 1 Determination of gastrodine and 4-hydroxybenzyl alcohol in different parts of Pseudobulbus seu Herba Pholidotae Chinensis (n= 2)

部 位	天麻素/%	天麻苷元/%
叶子	0.172	0.142
粗假鳞茎	3.280	0.051
细假鳞茎	0.798	0.347
根茎	1.149	0.151
根	0.163	0.030
种子	0.708	0.106

2.9.2 不同产地石仙桃炮制品测定: 取石仙桃炮制品约 0.5 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 按上述高效液相色谱条件测定。结果见表 2。

3 讨论

3.1 供试品溶液的制备: 由于流动相主要成分为水, 用甲醇溶解样品进样分析, 会出现前倾峰, 因此对照品和提取的样品均采用乙腈-水(3 : 97)溶解后进样。

表 2 不同产地石仙桃炮制品中天麻素和天麻苷元的量(n= 2)

Table 2 Contents of gastrodine and 4-hydroxybenzyl alcohol of processed products of Pseudobulbus seu Herba Pholidotae Chinensis from different habitats (n= 2)

编号	产地	天麻素/%	天麻苷元/%
01	福建闽侯	2.489	0.019
02	福建泉州	1.726	0.013
03	福建永泰	1.805	0.012
04	福建宁德	1.863	0.007
05	福建闽清	1.797	0.008

3.2 提取条件的考察

3.2.1 溶剂的选择: 分别用 70% 甲醇及 70% 乙醇回流提取 1 h(n= 2), 结果表明 70% 甲醇提取天麻素的量较高, 天麻苷元的量相差不大, 因此选择 70% 甲醇提取。

3.2.2 溶剂体积分数的选择: 分别用 50%、70%、90% 甲醇回流提取 1 h(n= 2), 结果表明 50% 与 70% 甲醇提取的天麻素的量相近且较 90% 甲醇提取的量高, 由于 50% 甲醇提取的溶液难于滤过, 因此选择 70% 甲醇为提取溶剂。

3.2.3 提取时间的选择: 分别采用 70% 甲醇回流提取 1、2、3、4、5 h(n= 2), 实验表明, 当提取时间超过 4 h 时, 天麻素的量趋于稳定, 因此选择提取时间为 4 h。

3.2.4 不同溶剂用量的选择: 分别采用 25、50、100 mL 甲醇提取, 结果表明溶剂用量为 50 与 100 mL 天麻素的量相差不大, 因此选用 50 mL 提取。

3.3 测定新鲜石仙桃中叶子、假鳞茎、根茎、根及种子中天麻素及天麻苷元的量, 结果以假鳞茎中天麻素的量最高, 根茎次之, 叶子、根及种子的量最低; 且同一植株中粗假鳞茎中天麻素的量明显高于细假鳞茎天麻素的量, 而天麻苷元量则明显较低。

参考文献:

[1] 南京中医药大学. 中药大词典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
[2] 卫生部药品标准中药成方制剂 [S]. 第 9 册. 1994.
[3] 张怡评, 林丽聪, 吴春敏. 天麻素和天麻苷元的镇痛作用研究 [J]. 福建中医学院学报, 2006, 16(6): 30-31.
[4] 林丽聪, 张怡评, 吴春敏. 石仙桃炮制工艺研究 [J]. 海峡药学, 2007, 19(3): 27-30.