

# 结香茎皮中伞型花内酯和西瑞香素的 RP-HPLC 法测定<sup>1</sup>

徐 敏, 颜继忠, 童胜强\*

(浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310014)

**摘要:** 目的 建立测定结香茎皮中两种香豆素有效成分伞型花内酯和西瑞香素的方法。方法 用甲醇超声提取, 反相高效液相色谱法测定药材中各香豆素成分的量。以乙腈-水(0~10 min, 乙腈 35%; 10~30 min, 乙腈 35%~65%) 为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 325 nm, 体积流量 0.6 mL/min。结果 各香豆素成分在测定范围内线性关系良好。结论 该方法准确、快速, 适用于结香药材的质量控制。

**关键词:** 结香; 伞型花内酯; 西瑞香素; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)02-0288-02

结香 *Edgeworthia chrysantha* Lindl. 名出《群芳谱》, 系瑞香科结香属植物, 其花蕾、茎和根皮均可入药<sup>[1]</sup>。结香全株入药, 能消肿止痛, 可治跌打损伤、风湿疼痛。根茎皮在民间用于治疗风湿性关节炎、腰痛、跌打损伤、胃肠炎、泌尿道疾病等。结香茎皮中主要含香豆素类化合物<sup>[2,3]</sup>, 具有植物生长调节作用、抗菌抗病毒作用、平滑肌松弛作用、抗凝血作用等<sup>[4]</sup>。近年来, 人们从中草药和海洋生物体中分离到了具有抑制 HIV 活性的生物碱、萜类、木脂素、皂苷以及香豆素等天然活性物质。其中香豆素类化合物由于相对分子质量小、合成相对简单、生物利用度高等优点, 引起了药物学家们的高度重视<sup>[5]</sup>。

目前尚未有采用反相高效液相色谱测定结香中香豆素成分的文献报道, 大部分是关于结香中化学成分的研究。本实验采用高速逆流色谱分离制备伞型花内酯和西瑞香素对照品, 并建立了 RP-HPLC 法测定结香药材中这两种香豆素成分的方法。

## 1 仪器与试药

TBE-300A 型半制备型高速逆流色谱仪(上海同田生化公司)。岛津高效液相色谱仪(配有 LC-10AT vp 输液泵, SPD-10A vp 紫外检测器, CLASS-VP 色谱数据处理系统)。Sartorius BP211D 型十万分之一电子天平。伞型花内酯和西瑞香素对照品(根据文献<sup>[6]</sup>自制, HPLC 面积归一化法测定其质量分数为 99.5%)。

结香药材取自浙江杭州等地区, 浙江省医学科学院药物研究所叶益萍副研究员鉴定。

乙腈(色谱纯), 重蒸馏水。

## 2 方法与结果

2.1 液相色谱条件: 色谱柱为 Shim-Pack CLC ODS(M) C<sub>18</sub>(250 mm × 6 mm, 5 μm), 以乙腈-水(0~10 min, 乙腈 35%; 10~30 min, 乙腈 35%~65%) 为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 325 nm, 体积流量: 0.6 mL/min。在上述色谱条件下, 样品中各香豆素成分峰形良好且与其他杂质完全分开。

2.2 样品提取方法的选择: 曾比较用不同的提取方法<sup>1</sup> 甲醇回流提取 3 次(1.5、1、1 h), 得到总浸膏; ④甲醇超声提取 3 次(0.5、0.5、0.5 h), 每次 30 min, 得到总浸膏。实验结果表明两种方法无明显差异, 但超声提取时间大大缩短, 因此采用方法④提取样品。

2.3 对照品溶液制备及线性范围的考察: 精密称取伞型花内酯和西瑞香素对照品适量, 加流动相定容至 5 mL, 精密吸取 1、2、4、6、8、10、12 μL 注入液相色谱。结果表明, 伞型花内酯线性范围为 0.031~0.387 μg/μL, 回归方程  $Y_1 = 19\,628 X_1 + 856$ , 西瑞香素线性范围为 0.027~0.296 μg/μL, 回归方程  $Y_2 = 26\,458 X_2 + 243$ , 相关系数均为 0.999 8。

2.4 供试品溶液的制备: 精密称取干燥样品 1.0 g 置圆底烧瓶中, 甲醇超声提取 3 次(0.5、0.5、0.5 h), 合并提取液, 浓缩后置于 50 mL 量瓶中定容、混匀, 微孔滤膜 0.45 μm 滤过。

2.5 精密度试验: 取供试品溶液 1 份, 进样 20 μL, 连续进样 6 次。各香豆素色谱峰面积无明显变化, 伞型花内酯与西瑞香素 RSD 分别为 1.25%, 0.41%。

2.6 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液, 按 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 h 分别测定色谱峰面积。结果表明, 供试品溶液 8 h 内稳定, 色谱峰面积无明显

<sup>1</sup> 收稿日期: 2007-05-10

作者简介: 徐 敏(1973-), 女, 浙江金华人, 助理研究员, 硕士, 主要从事天然药物的研究。

\* 通讯作者 童胜强 Tel: (0571) 88320613 E-mail: sqtong@zjut.edu.cn

变化,伞型花内酯与西瑞香素 RSD 分别为 1.03% 和 0.95%。

2.7 重现性试验:取 5 份样品,制备供试品溶液,进样测定,计算其中各香豆素的量,伞型花内酯与西瑞香素 RSD 分别为 0.88% 和 1.13%。

2.8 加样回收率试验:准确称取药材干燥粉末 5 份各 0.80 g,分别精密加入对照品溶液各 0.2 mL。按上述提取方法进行提取,定容至 20 mL。进样 10  $\mu$ L,按上述色谱方法条件测定。结果平均回收率 ( $n=5$ ) 为:伞型花内酯 98.1% (RSD 为 2.01%),西瑞香素 96.9% (RSD 为 1.75%)。

2.9 样品测定:取样品制备供试品溶液。分别量取供试品溶液和对照品溶液 10  $\mu$ L 进样。按上述色谱条件测定各香豆素成分峰面积,依外标法计算。测定结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 样品测定结果 ( $n=5$ )

Table 1 Determination of two coumarins in *E. chrysantha* ( $n=5$ )

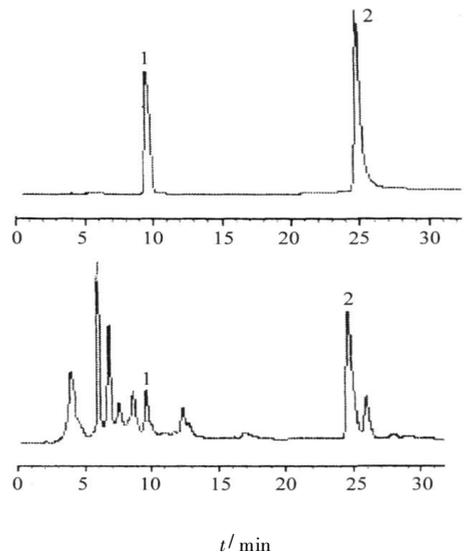
样品	产地	伞型花内酯/ %	西瑞香素/ %
1	杭州	0.076	0.144
2	遂昌	0.089	0.169
3	磐安	0.043	0.101
4	东阳	0.052	0.198
5	衢州	0.033	0.095
6	温州	0.097	0.157

### 3 讨论

3.1 流动相的选择:实验结果表明甲醇-水体系不适合在反相柱上分离结香茎皮的甲醇提取物,由于成分复杂很难做到目标化合物的基线分离;在尝试乙腈-水体系过程中发现以固定比例如乙腈-水(8 2)、(6 4)则两个香豆素成分仍不能分开,若换成乙腈-水(2 8)、(3 7)则西瑞香素长时间不出峰;最后,采用乙腈-水体系梯度洗脱得到了满意的分离效果。

3.2 吸收波长的选择:在 200 ~ 600 nm 对两个化合物的甲醇溶液作紫外扫描,结果发现在 325 nm 下两个化合物有共同的最大吸收波长,且作 HPLC 检测时在该波长下其他杂质对峰型的影响相对也较小。故本实验中吸收波长选用 325 nm。

3.3 在用高速逆流色谱分离制备目标化合物时采



1-伞型花内酯 2-西瑞香素  
1-umbelliferone 2-daphnetin  
图 1 对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substances (A) and samples (B)

用醋酸乙酯作溶剂提取总浸膏,浸膏中杂质相对较少,有利于制备性分离纯化目标化合物;但在测定过程中,为了准确测定药材中香豆素成分的量,应该采用甲醇等溶剂以最大量提取药材中的目标化合物。

3.4 本实验仅仅是建立了一种测定方法,由于药材原产地的不同,结香中各香豆素成分的量也存在差异。本次实验仅测定了浙江各地产的结香中香豆素的量。

#### 参考文献:

- [1] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 北京化学工业出版社, 2002.
- [2] Baba K, Taniguti M, Yoheda Y, et al. Coumarin glycosides from *Edgeworthia chrysantha* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(1): 247-249.
- [3] Baba K, Tabata Y, Taniguti M, et al. Coumarins from *Edgeworthia chrysantha* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(1): 221-225.
- [4] 姚新生. 天然药物化学 [M]. 北京: 北京人民卫生出版社, 2006.
- [5] 杨劲松. 抗 HIV 活性香豆素类化合物的研究进展 [J]. *华西药学期刊*, 2001, 16(4): 285-288.
- [6] Yan J Z, Tong S Q, Sheng L Q, et al. Preparative isolation and purification of two coumarins from *Edgeworthia chrysantha* Lindl by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2006, 29(9): 1307-1315.