

HPLC 法测定川产红毛五加不同药用部位和不同产地茎皮中紫丁香苷

刘 圆, 李厚聪, 孟庆艳

(西南民族大学少数民族药物研究所, 四川 成都 610041)

摘要:目的 测定川产藏药材红毛五加不同药用部位和不同产地中紫丁香苷的量。方法 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水 (20:80) 为流动相, 检测波长 263 nm。结果 紫丁香苷在 0.010 9~1.305 6 μg 呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.16% (n=5), RSD 为 0.92%, 用此条件测得川产红毛五加不同部位紫丁香苷的量: 根 803.2 μg/g, 茎皮 87.66 μg/g, 而叶和茎刺中的量极低; 川产不同产地红毛五加茎皮中紫丁香苷的量普遍较低, 其中有 10 个产地样品中未检测到, 量最高的是阿坝州小金县大板村 101.8 μg/g。结论 该方法简便、快速、准确, 可作为红毛五加药材质量的检测手段之一; 有关红毛五加根开发利用的报道少见, 从紫丁香苷成分的角度考虑, 建议以根入药最好, 而且红毛五加根可以作为紫丁香苷提取物一个新来源。

关键词: 红毛五加; 紫丁香苷; 高效液相色谱; 川产不同药用部位; 川产不同产地茎皮

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0612-02

红毛五加为五加科五加属植物红毛五加 *Acanthopanax giraldii* Harms 的干燥茎皮。资源丰富, 广泛分布于四川、甘肃、青海、宁夏等地, 其中四川为该药材的主要产区; 其茎皮入药, 有祛风除湿、强筋壮骨之功效^[1]; 含有紫丁香苷成分^[2~5]。1977、1987 年已正式载入四川省卫生厅主编的《四川省中药材标准》。德昂族等少数民族中药用^[6]。红毛五加在免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗炎、降血糖、降血脂、抗辐射等方面具有广泛的药理作用^[7,8], 紫丁香苷有止血作用。四川藏族民间传统用其茎皮入药, 在对川产红毛五加药材进行系列研究时, 利用 HPLC 法测定其不同药用部位和不同产地茎皮样品中紫丁香苷的量, 以期科学、合理、可控地开发和利用该药材提供一定的科学实验依据。

1 仪器与材料

Waters 2695/2690 分离系统, 2996 (2487) 检测器, Empower 色谱管理系统; KQ-250B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), METTLER

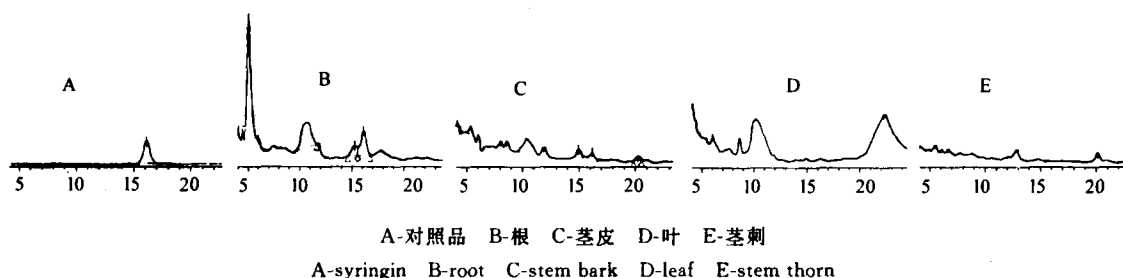
AE240 电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]。紫丁香苷对照品 (111574-200201, 中国药品生物制品检定所, 定量测定用), 甲醇为色谱纯 (美国迪玛公司), 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。红毛五加药材采自四川, 来源见表 1, 经笔者鉴定。

2 方法与结果

2.1 检测波长选择: 取紫丁香苷对照品溶液, 利用二极管阵列检测器检测, 分别在不同波长下提取光谱, 结果其最大吸收波长为 263 nm, 因此确定其检测波长为 263 nm。

2.2 流动相选择: 进行色谱流动相系统选择时, 分别用不同比例的甲醇-水对样品进行分离, 结果以甲醇-水 (20:80) 的分离效果为佳。

2.3 色谱条件: Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 25 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 流动相甲醇-水 (20:80), 检测波长 263 nm。对照品和样品在此条件下有较好的分离度, 结果见图 1。



A-对照品 B-根 C-茎皮 D-叶 E-茎刺
A-syringin B-root C-stem bark D-leaf E-stem thorn

图 1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms

收稿日期: 2007-07-10

基金项目: 国家科技支撑计划重点项目 (2007BAI25B05); 四川省青年基金项目 (07ZQ026-011), 国家中医药管理局 (2007)

作者简介: 刘 圆 (1968—), 女, 副教授, 博士, 从事少数民族药物的研究和教学工作。

Tel: (028) 85528878 13808091609 E-mail: yuanliu163@yahoo.com.cn

2.4 对照品溶液的制备:称取紫丁香苷对照品 1.36 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,精密量取上述溶液 2 mL,溶于 50 mL 量瓶中,定容至刻度,即得对照品溶液。

2.5 供试品溶液的制备:称取干燥的采于阿坝州小金县大板村红毛五加药材的不同药用部位、川产 19 个不同产地茎皮粉末(20 目)各 1.0 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入 70% 乙醇 10 mL,超声处理 30 min,滤过,取滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.6 线性关系考察:分别精密量取对照品溶液 1、2、4、6、8、10、12 μL ,用上述色谱条件进行测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为: $Y=3\ 314\ 278.9 X-1\ 894.9$, $r=0.999\ 3$,线性范围为 0.010 88~1.305 60 μg 。

2.7 精密度试验:精密吸取对照品溶液(10.88 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL 注入液相色谱仪,重复进样 5 次,得峰面积的 RSD=0.35%,表明精密度良好。

2.8 稳定性试验:样品溶液于配制完成时即避光放置,间隔 12 h 重复进样,共 6 次。测得峰面积的 RSD=0.12%,表明对照品溶液避光放置在 10 h 内保持稳定。

2.9 重现性试验:按拟定的测定方法,取同一批样品,平行称取 5 份,进行定量测定。结果表明,5 份样品中紫丁香苷质量分数的 RSD $\leq$ 0.2%,本法具有较好的重现性。

2.10 加样回收率试验:取已知量的样品约 50 mg (5 份),精密称定,加入对照品适量,按本实验测定方法进行测定,计算回收率。紫丁香苷平均回收率为 98.16%,RSD=0.92% ($n=9$)。

2.11 样品测定:分别精密吸取上述样品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,进行测定。

2.11.1 不同药用部位的量:阿坝州小金县大板村红毛五加不同部位药材中紫丁香苷的量结果($n=3$):根 803.2 $\mu\text{g/g}$,茎皮 87.66 $\mu\text{g/g}$,而叶和茎刺中的量极低。

2.11.2 不同产地红毛五加茎皮中紫丁香苷的量:不同产地红毛五加茎皮中紫丁香苷的量普遍较低,其中有 10 个产地样品中未检测到,量最高的是阿坝州小金县大板村 101.8 $\mu\text{g/g}$,结果见表 1。

3 讨论

3.1 红毛五加不同部位紫丁香苷的量,根中 803.20 $\mu\text{g/g}$,茎皮 87.66 $\mu\text{g/g}$,而叶和茎刺中的量极低;不同产地茎皮中紫丁香苷的量普遍较低,其中

表 1 不同产地红毛五加茎皮中紫丁香苷($n=3$)

Table 1 Syringin in stem bark of *A. giraldii* from different habitats ($n=3$)

样品	来源	采样时间	紫丁香苷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	采于阿坝州马尔康沙座村	2006-09	14.0
2	采于阿坝州小金县沙龙沟村	2006-08	无
3	采于阿坝州小金县美沃沟村	2006-08	29.4
4	采于阿坝州小金县板场沟	2006-08	无
5	采于阿坝州小金县太阳村	2006-08	无
6	采于阿坝州马尔康夹丘林村	2006-08	7.2
7	购买于四川雅安	2005-12	无
8	采于阿坝州小金县达维村	2006-09	无
9	采于阿坝州小金县大板村	2006-04	101.8
10	采于阿坝州马尔康砍竹村	2005-12	无
11	购买于阿坝州金川县	2006-04	31.6
12	购买于阿坝州茂县	2006-02	41.3
13	采于阿坝州小金县五都村	2006-09	无
14	采于阿坝州马尔康黄崖村	2006-09	31.0
15	采于阿坝州小金县火地村	2006-09	无
16	采于阿坝州马尔康思鸟村	2006-09	24.8
17	采于阿坝州小金县两河村	2006-09	未检测
18	购买于四川阿坝州	2006-08	无
19	购买于四川阿坝州小金县	2006-08	无

有 10 个产地样品中未检测到,量最高的是阿坝州小金县大板村 101.80 $\mu\text{g/g}$ 。

3.2 该方法简便、快速、准确,可用于红毛五加药材质量的检测手段之一;有关红毛五加根开发利用的报道少见,从紫丁香苷成分的角度考虑,建议以根入药最好,红毛五加根可以作为紫丁香苷提取物一个新来源。

3.3 紫丁香苷对照品浓度对谱图的影响:在进行线性关系考察时,通过对不同进样体积的 HPLC 谱图分析时发现,当进样体积超过 12 μL 时,谱图对称性和分离效果均明显降低。因此在处理样品时料液比对样品分离效果有一定的影响。

3.4 因野外采样的原因,没有对不同产地红毛五加根中紫丁香苷的量进行比较,有待进一步研究。

References:

- [1] 宋立人,洪 恂,丁续亮,等.现代中药学大辞典(下)[M].北京:人民卫生出版社,2001.
- [2] 施亚琴,杨培全,周俊国.红毛五加多糖的提取及含量测定[J].华西药理学杂志,1994,9(2):73-74.
- [3] 孔德云,金慧芳,罗思齐.红毛五加化学成分研究 I [J].中国医药工业杂志,1992,23(5):215.
- [4] 孔德云,罗思齐.红毛五加化学成分研究 II [J].中国医药工业杂志,1990,21(5):202-216.
- [5] 王祝伟,孙毓庆.中药红毛五加化学成分的高效液相色谱/电喷雾电离/质谱/质谱(HPLC/ESI/MS2)分析[J].色谱,2003,11(6):554-557.
- [6] 贾敏如,李星炜.中国民族志要[M].北京:中国医药科技出版社,2005.
- [7] 邓虹殊,孙长勇,李淑玉.红毛五加镇痛解热作用及毒性的实验观察[J].中国中药杂志,1994,19(1):38-40.
- [8] 任 俊,党月兰,李淑玉.红毛五加总苷抗炎机制研究[J].中药药理与临床,2002,18(6):13-14.