

HPLC 法测定短柱肖菝葜药材中丁香酸葡萄糖苷

秦文杰^{1,2}, 陈艾琨¹, 王钢力², 林瑞超^{2*}

(1. 中药复方新药开发国家工程研究中心, 北京 100075; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定短柱肖菝葜药材中丁香酸葡萄糖苷量的方法。方法 采用 C₁₈ 色谱柱。乙腈-0.5% 冰醋酸溶液 (5:95) 为流动相; 体积流量 1 mL/min; 柱温 25℃; 检测波长 255 nm。结果 丁香酸葡萄糖苷在 0.049 4~0.592 8 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。平均回收率为 100.07%; RSD 为 1.74%。结论 该方法简便、准确, 可作为短柱肖菝葜药材的定量测定方法。

关键词:短柱肖菝葜; 高效液相色谱法; 丁香酸葡萄糖苷

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)08-1320-02

短柱肖菝葜为百合科肖菝葜属植物, 具有清热、除湿、解毒之功效。用于湿热淋浊, 带下, 痈肿, 瘰疬, 梅毒及汞中毒所致的肢体拘挛, 筋骨疼痛。民间习称“白土苓”^[1], 与《中国药典》收载的土茯苓不仅药名相近, 且历代本草常以同药名土茯苓记载。目前, 土茯苓及其所属的菝葜属植物的化学成分研究较多, 但肖菝葜属植物的基础研究非常薄弱^[2-3], 短柱肖菝葜的化学成分、质量控制等研究未见报道。经初步活性筛选试验结果表明, 短柱肖菝葜具有较好的抗肿瘤作用, 所以选择短柱肖菝葜为研究对象, 从化学成分、药理活性和质量控制等方面对其进行了较为深入的研究^[4,5]。实验报道了短柱肖菝葜中丁香酸葡萄糖苷的定量测定方法。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪 (日本岛津 CLASS-VP 10 AVP), Hydro-RP80A C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 4 μm, Phenomenex 公司), 试剂: 乙腈 (色谱纯), 其他试剂均为分析纯, 纯净水 (自制)。

丁香酸葡萄糖苷对照品 (为从短柱肖菝葜中提取分离制备纯化所得, 并经理化分析和波谱鉴定, HPLC 面积归一化法计算, 质量分数大于 98%)。短柱肖菝葜药材分别于 2005 年 6 月、2005 年 7 月、2006 年 8 月、2006 年 10 月采集于贵州遵义金顶山镇莲花池片区黄中村印山 (按采集时间先后, 批号分别为 1~4), 经张继副主任药师鉴定为短柱肖菝葜 *Heterosmilax yunnanensis* Gagnep. 的干燥根茎, 标本存于中国药品生物制品检定所标本馆。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: Hydro-RP80A C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 4 μm); 以乙腈-0.5% 冰醋酸溶液 (5:95) 为流动相; 检测波长: 255 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25℃; 进样量 10 μL。理论板数按丁香酸葡萄糖苷计算, 应不低于 3 000。色谱图见图 1。

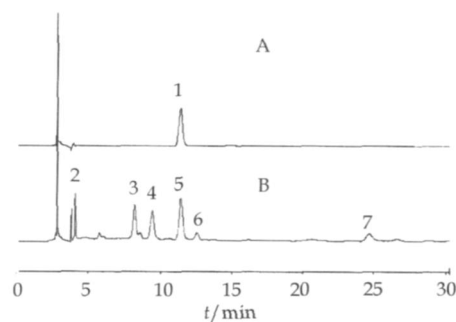


图 1 丁香酸葡萄糖苷 (A) 和短柱肖菝葜样品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatogram of glucosyringic acid (A) and sample of *H. yunnanensis* (B)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取丁香酸葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成 20 μg/mL 的对照品溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取短柱肖菝葜药材粉末 4 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇适量, 加热回流至提取液无色, 用甲醇少量洗涤容器, 洗液并入提取液, 蒸发浓缩并转移至 10 mL 量瓶中, 定容, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密称取丁香酸葡萄糖苷对照品, 加甲醇溶解, 制成 98.8 μg/mL 的对照品溶液,

* 收稿日期: 2008-10-12

基金项目: 北京市科技计划项目 (课题编号: D0206001043491)

作者简介: 秦文杰 (1971—), 女, 博士, 主要研究方向为中药化学成分及质量控制。

Tel: (010) 87632624 E-mail: zzwennjieqin@yahoo.com.cn

* 通讯作者 林瑞超, 男, 教授, 博士生导师。Tel: (010) 67095307 E-mail: Linrch307@sina.com

分别精密吸取 0.5、1、2、3、4、6 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 4.94、9.88、19.76、29.24、39.52、59.28 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。分别进样 10 μL ,按上述色谱条件,测定丁香酸葡萄糖苷峰面积积分值,结果表明,在 4.94~59.28 $\mu\text{g/mL}$ 丁香酸葡萄糖苷的质量浓度与峰面积积分值呈良好的线性关系,回归方程为 $Y = 19\,518 X - 42\,355$, $r = 0.999\,7$ 。

2.5 稳定性试验:照上述色谱条件,每隔 2 h 时进样一次,进样 10 μL ,记录峰面积,结果表明,供试品溶液在 8 h 内基本稳定,峰面积 RSD 为 0.12%。

2.6 精密度试验:按 2.2 方法制备对照品溶液,重复进样测定 5 次,记录峰面积,结果表明峰面积 RSD 为 1.05%。

2.7 重现性试验:取同一批样品(批号:1),按 2.3 方法平行制备 5 份供试液,进样 10 μL ,分别进行定量测定,5 份供试液质量分数 RSD 为 1.64%。

2.8 加样回收率试验:精密取已测定的同一批样品 2 g,共 6 份(批号:1,质量分数 38.91 $\mu\text{g/g}$),分别精密加入丁香酸葡萄糖苷对照品溶液(98.8 $\mu\text{g/mL}$) 1 mL,按 2.3 方法制备供试品溶液,进样 10 μL ,测定,计算回收率。结果丁香酸葡萄糖苷的平均回收率为 100.07%,RSD 为 1.74%。

2.9 样品测定:按 2.3 方法制备供试品溶液,取供试品溶液和对照品溶液,分别进样,测定 4 批药材样品中丁香酸葡萄糖苷的量,测定结果见表 1。

表 1 样品中丁香酸葡萄糖苷测定结果

Table 1 Determination of glucosyringic acid in samples

批号	丁香酸葡萄糖苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	批号	丁香酸葡萄糖苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$
1	38.91	2	33.41
3	29.94	4	22.73

3 讨论

3.1 测定成分的选择:化学成分系统提取分离结果表明,短柱肖菝葜中含有许多酚苷类成分,其中丁香酸葡萄糖苷的得量相对比较大,且单体化合物体外抗肿瘤细胞筛选结果表明,包括丁香酸葡萄糖苷在内的酚苷类化合物对人白血病细胞(U-937)有一定的抑制作用,因此选择丁香酸葡萄糖苷作为指标性成分,采用 RP-HPLC 法对其进行了定量分析。

3.2 检测波长的选择:精密称取丁香酸葡萄糖苷对照品 3 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声使溶解,加甲醇至刻度,摇匀;精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以甲醇为空白,照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2005 年版一部附录 V A),在 200~400 nm 波长进行光谱扫描,根据扫描结果确定本品测定波长为 255 nm。

参考文献:

- [1] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京:化学工业出版社, 2002.
- [2] Chen C T, Chang S M. Studies in nature products (7). A study on the constituents of *Heterosmilax japonica* Kunth [J]. *Bull Inst Chem*, 1976, 23: 9.
- [3] 于江泳, 张思巨, 刘 丽, 肖菝葜化学成分的研究. [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1): 19-20.
- [4] 秦文杰, 王钢力, 林瑞超. 短柱肖菝葜化学成分的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(8): 959-961.
- [5] 秦文杰, 王钢力, 林瑞超. 短柱肖菝葜化学成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1466-1468.

HPLC 法测定苦木药材中铁屎米酮生物碱

吕武清, 黄卫东, 宋友昕*

(江西省中医药研究院, 江西 南昌 330077)

摘要:目的 建立苦木药材中 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4,5-二甲氧基-铁屎米酮 HPLC 测定方法,为苦木质量分析和评价提供依据。方法 用 Agilent Hypersil C₁₈ 色谱柱,以乙腈-0.1% 磷酸 (35:65) 为流动相,210 nm 为检测波长。结果 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4,5-二甲氧基-铁屎米酮与其他生物碱获得较好分离,4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮质量浓度在 15.6~156 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.999\,7$),加样回收率为 98.17%,RSD = 1.98%;4,5-二甲氧基-铁屎米酮在 3.45~55.2 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.999\,8$),加样回收率为 98.40%,RSD = 1.90%。结论 方法简便、稳定、可靠,为控制和评价苦木质量提供了科学依据。

关键词:苦木; HPLC; 铁屎米酮生物碱; 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮; 4,5-二甲氧基-铁屎米酮

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)08-1321-03

* 收稿日期:2008-11-07

基金项目:国家“十一五”支撑计划项目(2006BAI06A01-01)

作者简介:吕武清(1957—),男,硕士研究生导师,研究员,从事中药质量控制技术研究及新药开发。

Tel: (0791) 8512906 E-mail: jxzyyjs@163.com