

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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液。分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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  $\mu\text{L}$ ,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  $\mu\text{L}$ ,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  $\mu\text{g}/\text{g}$ ),分别精密加入丁香酸葡萄糖苷对照品溶液(98.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 1 mL,按 2.3 方法制备供试品溶液,进样 10  $\mu\text{L}$ ,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,短柱肖菝蕒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, 肖菝蕒化学成分的研究. [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1): 19-20.
- [4] 秦文杰, 王钢力, 林瑞超. 短柱肖菝蕒化学成分的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(8): 959-961.
- [5] 秦文杰, 王钢力, 林瑞超. 短柱肖菝蕒化学成分的研究 [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 C<sub>18</sub> 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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(2006BA106A01-01)

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: jxzyys@163.com

苦木为苦木科植物苦木 *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn. 的干燥枝及叶。收载于《中国药典》2005 年版一部。性寒,味苦。具有清热,祛湿,解毒之功效;用于治疗风热感冒,咽喉肿痛,腹泻下痢,湿疖,毒蛇咬伤等症。药材质量标准尚无定量测定项,目前亦未见苦木药材生物碱定量测定研究报告;苦木主要含生物碱、苦味素、苦木内酯等<sup>[1,2]</sup>,为了有效控制苦木药材质量,比较不同药用部位的差别,从药材中分离得到 4, 5-二甲氧基-铁屎米酮, 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮,经结构鉴定并进行纯度检查和质量分数标定,以其为对照对苦木药材用 HPLC 法进行定量测定研究。

## 1 仪器与试剂

HP—1100 高效液相色谱仪(美国,包括 1322A 在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1315B 二极管阵列检测器、HP 化学工作站);AG135 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),CQ—250 超声波清洗器(上海船舶电子设备研究所,功率 250 W,频率 33 kHz),Simplicity™ 型超纯水系统(Millipore 公司)。

4, 5-二甲氧基-铁屎米酮(自制,HPLC 检测质量分数:99.18%,归一化法),4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮(自制,HPLC 检测质量分数:99.13%,归一化法),苦木药材采收于江西遂川县堆前镇,广东翁源六里镇、广东英德下太镇,经江西中医学院范崔生教授鉴定为苦木科植物苦木 *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn. 的干燥枝及叶,乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

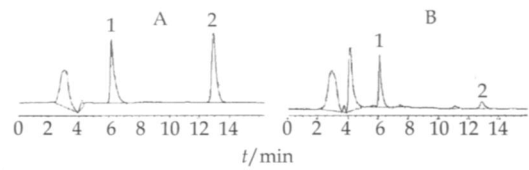
## 2 方法与结果

2.1 色谱条件的选择:采用 Agilent Hypersill C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μm),流动相:乙腈-0.1% 磷酸(35:65),体积流量:1 mL/min,检测波长 210 nm,柱温:室温,对照品及样品 HPLC 图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮 15.6 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(156 μg/mL);精密称取 4, 5-二甲氧基-铁屎米酮 13.8 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,取 25 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(69 μg/mL)。

分别取 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4, 5-二甲氧基-铁屎米酮对照品溶液适量,混合均匀,作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取苦木药材粗粉约 1.0



1-4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮 2-4,5-二甲氧基-铁屎米酮  
1-4-methoxy-5-hydroxycanthir-6-one  
2-4,5-dimethoxy-canthir-6-one

图 1 对照品(A)和苦木药材样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substances (A) and Ramulus et Folium Picrasmae (B)

g,精密称定,置 100 mL 平底烧瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,回流提取 1.5 h,放冷,加甲醇补足减失的质量。滤过,取续滤液适量通过微孔滤膜(0.45 μm),即得。

2.4 线性范围的考察:精密吸取上述 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮对照品溶液 10、8、6、4、2、1 mL,分置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,制成 156、124、8、93.6、62.4、31.2、15.6 μg/mL 的溶液;再精密吸取 4, 5-二甲氧基-铁屎米酮对照品溶液 8、6、4、2、1、0.5 mL,分置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,制成 55.2、41.4、27.6、13.8、6.9、3.45 μg/mL 的溶液。分别吸取上述对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪测定峰面积,将浓度与峰面积进行回归处理,4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮回归方程为:  $Y = 76.48 C - 58.27$ ,  $r = 0.9997$ ,样品在 15.6 ~ 156 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系;4, 5-二甲氧基-铁屎米酮回归方程为:  $Y = 88.65 C - 48.01$ ,  $r = 0.9998$ ,样品在 3.45 ~ 55.2 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 10 μL,按上述色谱条件,重复进样 6 次,测定 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4, 5-二甲氧基-铁屎米酮峰面积值,计算峰面积值的 RSD 分别为 0.52%、0.77%。

2.6 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 10 μL,按上述色谱条件,每隔 1 h 进样测定峰面积,计算供试品中 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4, 5-二甲氧基-铁屎米酮峰面积值的 RSD 分别为 0.63%、0.72%。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取苦木药材粗粉约 1.0 g,共 6 份,精密称定,照 2.3 项下实验方法制成供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮、4, 5-二甲氧基-铁屎米酮质量分数的 RSD 分别为 0.86%、1.15%。

2.8 加样回收率试验:取苦木药材粗粉约 0.5 g,共 6 份,精密称定,置 100 mL 平底烧瓶中,各精密

加入含 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮 (26.8 μg/mL)、4,5-二甲氧基-铁屎米酮 (4.5 μg/mL) 的混合溶液 50 mL,按 2.3 项下方法制成供试品溶液,测定质量分数并计算回收率,结果 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮平均回收率 98.17%,RSD 为 1.98%;4,5-二甲氧基-铁屎米酮平均回收率为 98.40%,RSD 为 1.90%。

2.9 样品测定:精密称取 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮和 4,5-二甲氧基-铁屎米酮对照品适量,加甲醇制成 50 和 15 μg/mL 的混合对照品溶液。取不同产地、不同药用部位苦木药材粗粉,制备供试品溶液,依法测定,以外标法计算质量分数,结果见表 1。

表 1 苦木药材不同部位、不同产地、不同采收季节测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of Ramulus et Folium Picrasmae in different fractions, habitats, and seasons (n=2)

产地	部位	采收时间	4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮/(mg·g <sup>-1</sup> )	4,5-二甲氧基-铁屎米酮/(mg·g <sup>-1</sup> )
江西遂川	茎	2006-11-04	4.066 0	1.536 7
江西遂川	粗枝	2006-11-04	2.709 9	0.430 1
江西遂川	细枝	2006-11-04	0.152 2	0
江西遂川	叶	2006-11-04	0.101 4	0
江西遂川	茎	2006-09	1.058 6	0.847 1
江西遂川	粗枝	2006-09	0.217 8	0.062 8
江西遂川	细枝	2006-09	0.165 9	0.091 9
江西遂川	叶	2006-09	0.562 8	0
广东英德	细枝	2007-11-22	0.099 2	0
广东英德	粗枝	2006-08-14	2.926 2	0.688 9
广东英德	茎	2007-11-22	2.293 2	0.728 6
广东英德	粗枝	2006-08-14	2.250 7	0.313 3

### 3 讨论

3.1 分别比较了 50% 甲醇、乙醇、乙醚、醋酸乙酯及其用量对提取结果的影响,结果以甲醇提取效果最好;甲醇用量以 50 mL 甲醇亦基本提取完全,对

超声提取、回流提取、索氏提取方法进行了比较,回流提取效果最佳;分别考察了提取 1、1.5、2、2.5 h,研究结果表明,回流提取 1.5 h 提取完全。

3.2 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮和 4,5-二甲氧基-铁屎米酮未见定量测定研究报道,经紫外测定其最大吸收波长均为 210 nm 末端吸收,参考文献<sup>[3-5]</sup>分别采用乙腈-0.2% 氨水溶液 (22:78)、甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵水溶液 (80:20)、甲醇-0.05 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (加入 0.5% 的三乙胺用 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 调 pH 3) (30:70) 为流动相进行分离,结果生物碱分离效果不佳,以乙腈-0.1% 磷酸 (35:65) 为流动相进行分离,以上二化合物与其他峰基线达到完全分离。

3.3 测定结果显示,苦木药材中主要含 4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮,4,5-二甲氧基-铁屎米酮的量较低;不同部位、不同产地、不同采收季节测定结果表明,4-甲氧基-5-羟基-铁屎米酮在茎中的量较高,其次为粗枝,细枝和叶的量较低,苦木注射液使用茎作为原料为掠夺式使用资源,既破坏了生态环境,又不利于可持续发展,因此,需从化学、药理作用等多方面进行深入研究,合理利用资源。

#### 参考文献:

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草 [M]. 第 5 册. 上海:上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 陈 锰, 范华英, 戴胜军, 等. 苦木生物碱的化学研究 [J]. 中草药, 2006, 38(6): 807.
- [3] 黄晓丹, 苏子仁, 沈小玲, 等. 消炎利胆片中穿心莲内酯类和苦木碱类的 RP-HPLC 法测定 [J]. 中成药, 2003, 25(6): 451.
- [4] 李 慧, 张 源, 林哲绚, 等. 固相萃取-HPLC/MS/MS 法测定血浆中苦木碱丁的浓度 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(4): 525.
- [5] 田 娟, 王智民, 王维皓. HPLC 测定苦参药材中苦参碱和氧化苦参碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 23.

## 关于召开“第 5 届华人药师临床药学专题研讨会”征文的通知

《中国新药与临床杂志》社主办、上海市药学会协办的“第 5 届华人药师临床药学专题研讨会”拟定于 2009 年 11 月下旬在上海市召开。届时将邀请国内各省市和我国台湾、香港地区及欧美、新加坡等地的医学家、药学家参加此次大会,并进行精彩的学术报告和学术交流。热烈欢迎所有相关领域的专家学者和同道踊跃投稿并参加会议,现将征文相关事项通知如下:

- 1 会议主题:抗肿瘤药物临床药学监护实践。
- 2 征文内容:(1)抗肿瘤药物静脉注射液配制要求与管理;(2)抗肿瘤药物品种配制的配伍及稳定性;(3)抗肿瘤治疗方案的解读;(4)各种新问世抗肿瘤药物的介绍;(5)抗肿瘤药物治疗的新思维与进展;(6)药师在姑息疗法中的作用与地位;(7)抗肿瘤药物临床药学监护实践。
- 3 论文要求:未在国内外公开刊物上发表的论文。论文要有创新性,引证资料可靠。字数一般在 5 000 字以内,并附 400 字以内的摘要。请务必附通讯地址、联系电话、手机、E-mail,以便及时联系。论文入选后,将统一编印论文集。
- 4 论文截止日期:2009 年 9 月 15 日。
- 5 投稿方式:本次大会只接收网上投稿收集论文,E-mail:xyylcb\_tougao@126.com,来稿请注明“CCPF 会议投稿”。
- 6 联系方式:《中国新药与临床杂志》编辑部,Tel:(021) 61673763 (办),E-mail:xyylc\_ldl@126.com