法和原子吸收光谱法 3 种。紫外吸收法和滴定法测定结果的准确性与样品的质量分数有直接关系, 对于高纯度的金雀花碱产品, 本方法是适用的, 但对于含杂质较多的供试品, 由于杂质的干扰, 测定结果并不理想; 原子吸收光谱法的供试品处理方法比较繁琐, 且操作方法的通用性较差, 不能满足生产和日常检验的需要, 因此有必要探索其他的分析方法。

3.2 实验过程中发现, 2.2.3 项下供试品溶液制备过程中如果用 80% 甲醇定容, 进样后色谱图的分离效果变差, 色谱柱易污染。推测是由于种子类药材含脂溶性成分较多, 在本实验色谱条件下不易洗脱, 改用本实验所述供试品处理方法后, 可明显改善分析效果、保护色谱系统。

3.3 采用本实验的色谱条件, 随机测定了 10 批披针叶黄华药材中金雀花碱的量, 结果令人满意, 本方法可对披针叶黄华药材以及金雀花碱产品的定量测定提供依据。

参考文献:

[1] Coe J W, Brooks P R, Vetelino M G, *et al*. Varenicline: an $\alpha_4\beta_2$ nicotinic receptor partial agonist for smoking cessation [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(10): 3474-3477.

[2] 畅行若, 李 书, 王宏新, 等. 国产披针叶黄华化学成分的研究 Ⅰ 兴奋横纹肌成分的分离与鉴定[J]. 陕西新医药, 1978, 40(4): 55-56, 58

[3] 高文远, 李医明, 朱大元. 牧马豆生物碱成分研究[J]. 中草药, 1998, 29(12): 796-798

[4] 黎 萍, 杨敏丽. 披针叶黄华中金雀花碱类生物碱的提取工艺[J]. 华西药学杂志, 2007, 22(1): 7-8

[5] 雷光继, 林树昌, 迟锡增. 原子吸收光谱法间接测定微量金雀花碱[J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 1991, 27(1): 65-68

[6] 蔡智慧, 倪传根, 贾瑞琴, 等. 超临界二氧化碳萃取披针叶黄华总生物碱工艺的研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(4): 70-72

HPLC 法测定不同采收期栽培藏木香中内酯类成分

董 琦, 马世震, 胡凤祖*

(中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001)

摘 要: 目的 测定不同采收期栽培藏木香中土木香内酯和异土木香内酯的量, 确定最佳采收期, 为提高药材质量提供依据。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 XDB-C_{18}(150 mm × 4.5 mm, 5.0 μm), 流动相为乙腈-0.01% 醋酸水溶液(55∶45), 检测波长 202 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃。结果 栽培藏木香在不同采收期土木香内酯和异土木香内酯的总量不同, 9 月份的量最高。结论 藏木香的最佳采收期为 9 月份。

关键词: 藏木香; 不同采收期; 土木香内酯; 异土木香内酯

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)07-1186-02

藏木香为菊科植物总状土木香 *Inula racemosa* Hook. f. 的干燥根, 藏语中称为"玛奴", 主要分布在四川、青海、甘肃、西藏等省, 以根入药, 具有行气镇痛、健脾消食、温中和胃、胸腔胀痛、食积不消、止痛安胎作用[1~3]。土木香内酯和异土木香内酯是藏木香的主要活性成分[4,5], 其量高低直接影响药材的质量与疗效。本实验以不同采收期的栽培藏木香为对象, 采用 HPLC 法对土木香内酯、异土木香内酯进行定量分析, 为确定最佳采收期从而提高药材质量提供依据。

1 材料、试剂与仪器

试验材料: 栽培藏木香由本所与青海大通宝库林场合作试验基地提供, 采于 2008 年 5 月至 10 月, 由本所陈世龙研究员鉴定。样品经阴干, 粉碎后, 过 80 目筛, 备用。

Agilent 1200 高效液相色谱仪(带 G1315D DAD 检测器), Chemstation 工作站, MOLEMENT 元素型超纯水机(上海摩勒生物科技有限公司)。

土木香内酯对照品(110761-200204)、异土木香内酯对照品(110760-200507), 中国药品生物制品检定所。乙腈(色谱纯), 甲醇(分析纯), 醋酸(分析纯), 水为超纯水。

2 方法与结果

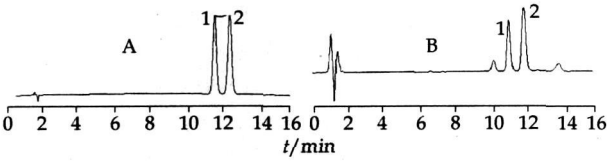
2.1 色谱条件: 色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C_{18}(150 mm × 4.5 mm, 5.0 μm), 流动相为乙腈-0.01% 醋酸水溶液(55∶45), 检测波长 202 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

* 收稿日期: 2009-09-03

作者简介: 董 琦(1980—), 女, 吉林省通化市人, 工程师, 硕士, 从事分析化学工作。

Tel: (0971) 6132750 Fax: (0971) 6143282 E-mail: qdong@nwipb.ac.cn

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取对照品土木香内酯 8.8 mg、异土木香内酯 9.6 mg, 用甲醇分别定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 得对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 5.0 mL, 置于 10.0 mL 量瓶中, 摇匀, 得土木香内酯 0.44 mg/mL、异土木香内酯 0.48 mg/mL 的混合对照品溶液。



1-土木香内酯 2-异土木香内酯
1-alantolactone 2-isoalantolactone

图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

Fig 1 Chromatogram of reference substances (A) and sample (B)

2.3 供试品溶液的制备: 取藏木香药材粉末 0.500 g 于 100 mL 具塞三角瓶中, 加甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声 40 min, 放凉后, 密塞, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密吸取土木香内酯 0.44 mg/mL、异土木香内酯 0.48 mg/mL 的混合对照品溶液, 分别进样 2、4、8、10、16、20 μL, 按照上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 土木香内酯和异土木香内酯质量为横坐标, 进行线性回归。土木香内酯回归曲线方程: $y = 2\,826.5x + 80.983$, $r = 1$; 异土木香内酯回归曲线方程: $y = 2\,781.8x + 106.39$, $r = 1$。测定结果表明, 土木香内酯在 0.88~8.8 μg, 异土木香内酯在 0.96~9.6 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验: 取同一批供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 进样, 测定样品中异土木香内酯和土木香内酯的量, RSD 值分别为 1.05%、1.11% ($n = 6$), 结果表明, 供试品溶液 10 h 内稳定性良好。

2.6 重现性试验: 取同一批藏木香样品 5 份, 按供试品制备方法制得待测溶液, 依照样品测定方法进样, 测定样品中土木香内酯和异土木香内酯的量, RSD 分别为 1.45%、1.93% ($n = 6$)。

2.7 精密度试验: 精密吸取含土木香内酯 0.44 mg/mL 和异土木香内酯 0.48 mg/mL 的对照品溶液 2 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算 RSD 值, 土木香内酯及异土木香内酯峰面积的 RSD 分别为 0.95%、0.98% ($n = 6$)。

2.8 回收率试验: 取已知土木香内酯、异土木香内酯质量分数的样品, 精密加入土木香内酯、异土木香内酯对照品溶液, 按上述样品制备方法制备样品溶液, 进样 10 μL, 测定, 计算回收率。土木香内酯的平均回收率为 100.61%, RSD 为 2.05% ($n = 5$), 异土木香内酯的平均回收率为 100.34%, RSD 为 2.11% ($n = 5$)。

2.9 样品测定: 按上述方法测定藏木香样品中异土木香内酯和土木香内酯的量, 结果见表 1。

表 1 不同采收期栽培藏木香中异土木香内酯和土木香内酯的量($n = 2$)

Table 1 Content of alantolactone and isoalantolactone in cultivated *I. racemosa* at different growing stages ($n = 2$)

采收期	土木香内酯/%	异土木香内酯/%	两内酯总和/%
5 月	2.23	2.49	4.72
6 月	2.24	2.30	4.54
7 月	1.92	1.82	3.74
8 月	2.00	1.97	3.97
9 月	2.29	2.48	4.77
10 月	2.10	2.04	4.14

3 结果与讨论

测定结果表明, 藏木香的有效成分土木香内酯和异土木香内酯总量从 5 月份开始至 7 月份呈下降趋势, 从 7 月份开始有所上升, 至 9 月份达到最高值, 之后又有所下降。总体分析, 9 月份土木香内酯和异土木香内酯总量高于其他月份, 9 月份应为藏木香的最佳采收期, 土木香内酯和异土木香内酯总量达 4.77%。

分别采用不同比例的乙腈-水和甲醇-水作为流动相, 对比试验结果, 乙腈-水对目标峰的干扰较小, 分离度好, 因此流动相采用乙腈-水。另外, 为了改善目标物质色谱峰峰形, 在流动相体系中还加入了少量醋酸。

选用石油醚、氯仿、甲醇这 3 种溶剂提取同一批样品, 结果表明, 甲醇和氯仿的提取率差异不大, 均较石油醚提取率高, 由于甲醇较氯仿毒性小, 因此选用甲醇来提取藏木香中土木香内酯和异土木香内酯。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005.

[2] 杨永昌, 何廷农, 卢生莲, 等. 藏药志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991.

[3] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1987.

[4] 肖远灿, 胡凤祖. RP-HPLC 测定藏木香中土木香内酯和异土木香内酯含量[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(7): 491-493.

[5] 杨月琴, 胡凤祖, 马世震, 等. GC-MS 法测定藏木香栽培品种挥发油的化学成分[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(25): 10950-10951.