

HPLC 法测定壮药剑叶龙血树中 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪

闵建国^{1,3}, 周艳林^{2,3}, 邹准³, 尹文清^{1*}, 刘华钢², 邹节明^{3*}

1. 广西师范大学 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室, 广西 桂林 541004

2. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021

3. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004

摘要: 目的 建立一种同时测定壮药剑叶龙血树中 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的方法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 YMC pack ODS-AQ C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.2%磷酸 (36:64) 为流动相, 检测波长分别为 281、306 nm, 柱温 35 °C。结果 7-羟基-4'-甲氧基黄烷、紫檀芪分别在 0.407 6~1.528 5 μg ($r=0.999\ 8$)、1.640 8~6.153 0 μg ($r=0.999\ 7$) 内呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 97.88%、97.10%, RSD 分别为 0.82%、0.59%。结论 该方法操作简便、重复性好, 可用于剑叶龙血树及其提取物的质量控制。

关键词: 剑叶龙血树; 7-羟基-4'-甲氧基黄烷; 紫檀芪; 质量控制; HPLC

中图分类号: R286.022 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)17-2471-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.17.024

Simultaneous determination of 7-hydroxy-4'-methoxyflavane and pterostilbene in *Zhuang* Medicine *Dracaena cochinchinensis* by HPLC

MIN Jian-guo^{1,3}, ZHOU Yan-lin^{2,3}, ZOU Zhun³, YIN Wen-qing¹, LIU Hua-gang², ZOU Jie-ming³

1. Key Laboratory for Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

3. Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of 7-hydroxy-4'-methoxyflavane and pterostilbene in *Zhuang* Medicine *Dracaena cochinchinensis*. **Methods** The determination was developed on C₁₈ column. Acetonitrile-0.2% phosphoric acid (36:64) was used as mobile phase and the detective wavelength was set at 281 and 306 nm, respectively. **Results** The linear ranges of 7-hydroxy-4'-methoxyflavane and pterostilbene were 0.407 6—1.528 5 μg ($r = 0.999\ 8$) and 1.640 8—6.153 0 μg ($r = 0.999\ 7$), respectively. The average recovery was 97.88% (RSD = 0.82%) and 97.10% (RSD = 0.59%), respectively. **Conclusion** The method is simple and accurate, which could be used for the quality control of *D. cochinchinensis* and its extract.

Key words: *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen; 7-hydroxy-4'-methoxyflavane; pterostilbene; quality control; HPLC

剑叶龙血树是百合科植物剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含脂木材, 收载于《广西壮族自治区壮药质量标准》第 1 卷, 壮药名为榧勒莖, 具有活血散瘀、定痛止血、敛疮生肌等功效, 用于跌打损伤、瘀血作痛、妇女气血凝滞、外伤出血和脓疮久不收口^[1]; 主产于广西、云南石灰岩地区, 用作提取龙血竭的原料。现

代研究表明剑叶龙血树主要含有黄酮类、二苯乙烯类、甾醇类、皂苷类等化合物, 具有抗菌、抗炎、抗氧化、镇痛、止血、活血等药理作用^[2]。有关原药材剑叶龙血树的质量控制标准研究报道较少, 而有关其提取物龙血竭的质量控制也多集中在测定二氢查耳酮的代表性成分龙血素 A 和龙血素 B^[3], 对其中低极性代表性成分黄烷类、二苯乙烯类的质量

收稿日期: 2013-05-14

基金项目: 广西科技攻关项目 (桂科攻 0630002-2M, 10124000-15); 广西医药产业人才小高地资助项目 (0802)

作者简介: 闵建国, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药化学与质量控制。Tel: (0773)5843106 E-mail: 67493023@qq.com

*通信作者 尹文清 Tel: (0773)5826789 E-mail: yinwq000@yahoo.com.cn

邹节明 Tel: (0773)5842588 E-mail: zjm@sanjin.com.cn

控制研究尚未见报道。研究表明紫檀芪具有显著的抑菌和抗氧化作用，也是剑叶龙血树药材及其提取物中的主要成分^[4]。本实验以分离纯化得到的 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪为对照品，采用高效液相色谱建立其测定方法，可以更全面评价药材及相关提取物的质量。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪，DAD 二极管阵列检测器 (Waters, 美国); BUG—40 超声仪 (必能信, 上海 Branson)。

剑叶龙血树均采自广西崇左，经桂林三金药业股份有限公司钟小清工程师鉴定为剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含脂木材 (批号 20080901、20090101、20090201、20090301、20110901、20110902、20110903、20120201); 紫檀芪、7-羟基-4'-甲氧基黄烷对照品均为自制 (质量分数均大于 98%)。乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: YMC pack ODS-AQ C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.2%磷酸 (36:64); 体积流量: 1 mL/min; 7-羟基-4'-甲氧基黄烷检测波长为 281 nm, 紫檀芪检测波长为 306 nm; 柱温: 35 °C; 在上述色谱条件下, 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪对应的保留时间为 35.8 min 和 41.7 min, 分离度良好, 色谱图见图 1。

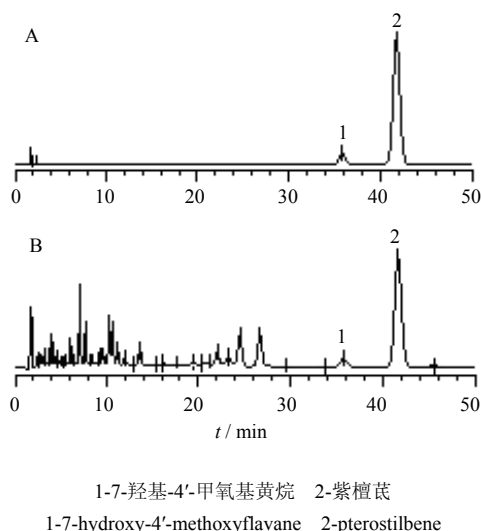


图 1 混合对照品 (A) 及剑叶龙血树 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *D. cochinchinensis* (B)

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取 60 °C 干燥至恒质量的 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪适量, 置棕色量瓶中, 加甲醇超声溶解并定容至刻度, 摇匀, 作为对照品储备溶液 (质量浓度分别为 1.019 mg/mL 和 2.051 mg/mL)。分别吸取 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的储备液各 1 mL 和 2 mL 移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取剑叶龙血树粉末 (过 3 号筛) 约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 加入三氯甲烷 20 mL, 称其质量, 超声处理 45 min, 放冷, 称其质量, 加三氯甲烷补足减失质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 蒸干, 残渣用甲醇 5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 4、6、8、10、15 μL 注入液相色谱仪, 以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 得 7-羟基-4'-甲氧基黄烷回归方程为: $Y=1.074 \times 10^5 X - 1.129 \times 10^5$ ($r=0.9998$); 紫檀芪回归方程为: $Y=6.878 \times 10^7 X + 2.566 \times 10^5$ ($r=0.9997$)。结果表明, 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪分别在 0.4076~1.5285 μg 和 1.6408~6.1530 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密称取剑叶龙血树粉末 (过 3 号筛) 约 0.5 g, 制备供试品溶液, 进样 10 μL, 重复进样 6 次, 测定 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的峰面积, 分别计算质量分数, 测得质量分数的 RSD 分别为 0.03%、0.12%。

2.6 稳定性试验

精密称取剑叶龙血树粉末 (过 3 号筛) 约 0.5 g, 制备供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0、4、8、16、24、48 h 精密吸取供试品溶液 10 μL, 测定 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的峰面积值, 并分别计算质量分数, 测得其质量分数的 RSD 值分别为 1.03%、0.41%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

精密称取同一批剑叶龙血树粉末 (过 3 号筛) 6 份, 分别制备供试品溶液, 分别测定并计算 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的量, 测得样品中 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪平均质量分数分别为 0.329%、1.685%, RSD 分别为 1.36%、1.04%, 结果表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测定的剑叶龙血树粉末(过3号筛) 0.25 g, 平行6份, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入7-羟基-4'-甲氧基黄烷(0.917 mg/mL)对照品溶液1 mL和紫檀芪(2.138 mg/mL)对照品溶液2 mL, 制备供试品溶液, 测定并计算加样回收率, 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的平均回收率分别为97.88%、97.10%, RSD分别为0.82%、0.59%。

2.9 样品测定

取各批次剑叶龙血树粉末(过3号筛)约0.5 g, 各3份, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别测定其中7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的质量分数, 结果见表1。

表1 7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的质量分数 (n=3)
Table 1 Determination of 7-hydroxy-4'-methoxyflavane and pterostilbene in samples (n=3)

批次	7-羟基-4'-甲氧基黄烷 / %	紫檀芪 / %
20080901	0.329	1.69
20090101	0.341	1.53
20090201	0.317	1.65
20090301	0.325	1.78
20110901	0.217	1.12
20110902	0.308	1.14
20110903	0.201	0.94
20120201	0.301	1.34

3 讨论

供试品溶液制备时, 曾考察不同提取溶剂, 发现甲醇、乙醇虽能较好地提取相关成分, 但同时提

取较多非测定成分, 干扰目标成分的检测, 故选择三氯甲烷作为提取溶剂, 经超声处理能够有效地提取目标成分。

由于待测成分的极性相对较小, 经不同流动相配比, 发现以乙腈-0.2%磷酸(36:64)作为流动相, 目标峰的分离度良好、保留时间合适。

紫外光谱扫描发现, 紫檀芪、7-羟基-4'-甲氧基黄烷最大吸收波长分别为306、281 nm, 若在单一波长下测定, 对吸收峰影响较大, 故利用DAD检测器, 采取变换波长法, 分别在各自最大吸收波长下测定。

剑叶龙血树在受到真菌侵染后才形成的树脂, 是自身应激反应而产生的植物防卫素, 其主要成分类型包括二氢查耳酮、黄烷、异黄烷、二苯乙烯等化合物, 研究发现紫檀芪是其中主要抗氧化活性成分。本研究建立的低极性成分7-羟基-4'-甲氧基黄烷和紫檀芪的测定方法, 可为建立剑叶龙血树药材及其提取物的质量标准提供参考。

参考文献

- [1] 广西壮族自治区壮药质量标准 [S]. 2008.
- [2] 何 兰, 王竹红, 屠鹏飞, 等. 龙血树属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 221-228.
- [3] 李忠琼, 向 东. HPLC测定龙血竭中龙血素A和龙血素B的含量 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(4): 349-351.
- [4] 胡迎庆, 屠鹏飞, 李若瑜, 等. 剑叶龙血树中芪类化合物及其抗真菌活性研究 [J]. 中草药, 2001, 32(2): 104-106.