

RP2HPLC法测定不同生长年份栽培藏木香主要活性成分含量

续艳丽^{1,2}, 董琦¹, 马世震¹, 胡凤祖¹³

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 采用 RP2HPLC法测定不同生长年份栽培藏木香主要活性成分土木香内酯和异土木香内酯含量, 并对其含量进行比较。异土木香内酯和土木香内酯质量浓度在 9.34 ~ 46.67 $\mu\text{g/mL}$, 7.34 ~ 36.67 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与色谱峰面积均呈良好的线性关系, 平均回收率分别为 100.61% 和 100.34%, RSD 为 2.11% 和 1.89%。方法可用于栽培藏木香主要活性成分含量测定。测定结果表明, 异土木香内酯含量高于土木香内酯, 总量随生长年份不断增高, 并主要存在于根部, 茎叶未检测到。

关键词: 栽培藏木香; 活性成分; 土木香内酯; 异土木香内酯; RP2HPLC

藏木香 (*Inula racemosa* Hook f) 为菊科 (*Compositae*) 旋覆花属 (*Inulae*) 植物。以根入药, 是藏医、蒙医常用药材, 具有行气镇痛、健脾消食等功效^[1,2]。现代药理学研究表明, 藏木香中主要活性成分土木香内酯和异土木香内酯, 具有显著的抗炎、抑菌、保肝、调节心脏、抗病毒及抗肿瘤等作用^[2-7]。

近年来, 由于市场对藏药材的需求日益增大, 掠夺式采挖使野生藏木香药材已濒临枯竭。目前, 市售藏木香主要以人工栽培品为主, 但对栽培藏木香的质量品质评价的报道很少, 尚未见对栽培藏木香主要活性成分含量测定及比较的报道。本实验采用 RP2HPLC法测定不同生长年份栽培藏木香中主要活性成分异土木香内酯和土木香内酯的含量, 并对其进行比较。为青海栽培藏木香的质量控制和综合开发利用提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器

Waters 515 高效液相色谱仪、Waters 2996 PAD 二级管阵列检测器、Waters Empower 色谱工作站, MOLELEMENT 元素型超纯水机。

1.2 试剂

土木香内酯标准品 (中国药品生物制品检定所, 110761 - 200204), 异土木香内酯标准品 (中国药品生物制品检定所, 110760 - 200507)。

乙腈 (色谱纯), 甲醇 (分析纯), 乙酸 (分析纯), 水为超纯水。

藏木香药材采自青海省大通县藏木香栽培试验基地。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 水 (75 : 25); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 197 nm; 进样量: 10 μL 。

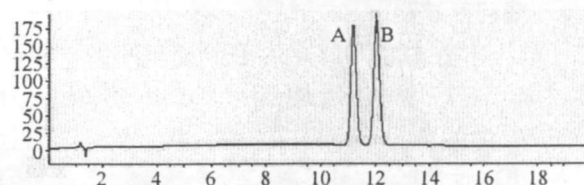


图 1 标准色谱图

A. 异土木香内酯 B. 土木香内酯

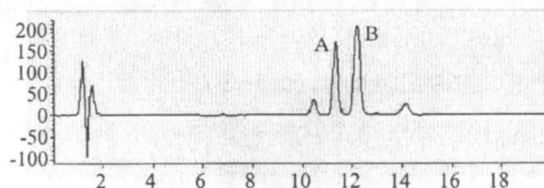


图 2 样品色谱图

A. 异土木香内酯 B. 土木香内酯

3 作者简介: 续艳丽 (1985 -), 女, 硕士研究生; E-mail: hufz@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 1.83 mg, 异土木香内酯 2.33 mg, 用甲醇分别溶于 25 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 得各自的对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 5.0 mL, 置于 10.0 mL 容量瓶中, 摇匀, 得土木香内酯 36.67 $\mu\text{g/mL}$, 异土木香内酯 46.67 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液。

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, 称定重量, 超声 40 min, 放凉后, 密塞, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 标准曲线的制备

取 2.2 项下的土木香内酯和异土木香内酯对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 分别进样 1、3、5、7、10 μL , 记录峰面积, 以对照品重量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。土木香内酯和异土木香内酯的标准曲线分别为: $Y = 19819X - 2182.8$, $R^2 = 0.9998$ $Y = 30054X - 2494.7$, $R^2 = 0.9999$, 在 9.34 ~ 46.67 μg , 7.34 ~ 36.67 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液于 0、1、2、4、6、8、12、24 h 测定土木香内酯和异土木香内酯的峰面积, RSD 值为 1.02%, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 精密度试验

取土木香内酯和异土木香内酯对照品溶液连续进样 5 次, 测定其峰面积, RSD 值分别为 0.97%、0.99% ($n = 5$)。

2.7 重现性试验

取两年生藏木香药材粉末 5 份, 精密称定, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 连续进样 5 次, 测定土木香内酯和异土木香内酯的含量, RSD 值分别为 0.94%、1.03% ($n = 5$)。

2.8 回收率试验

精密称定藏木香药材粉末 0.5 g, 精密加入土木香内酯和异土木香内酯对照品溶液, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 测定峰面积, 计算土木香内酯和异土木香内酯平均回收率分别为 100.61% 和 100.34%, RSD 为 2.11% 和 1.89%。

2.9 样品测定

分别精密称定不同生长年份藏木香根、茎叶样

品粉末适量, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样, 测定不同生长年份藏木香中土木香内酯和异土木香内酯含量, 实验结果见表 1, 色谱图见图 2, 茎叶中未检测到。

表 1 样品测定结果

种类	含量 / %		
	异土木香内酯	土木香内酯	总量
1 年生	2.14	1.37	3.51
2 年生	2.50	2.41	4.91
3 年生	3.37	2.46	5.83
4 年生	4.07	2.83	6.90

3 结论

本实验采用 RP-HPLC 法在 16 min 内同时测定了两种同种分异构体的含量, 该方法简单、快速、准确, 重复性好, 可用于栽培藏木香质量控制。应用 RP-HPLC 法对不同生长年份栽培藏木香根、茎叶中主要活性成分土木香内酯和异土木香内酯含量进行测定, 结果表明: 土木香内酯和异土木香内酯主要存在于藏木香根中, 茎叶中未检测到, 与文献记载藏木香以根入药^[10]相符合; 栽培藏木香中主要活性成分异土木香内酯和土木香内酯总含量随着生长年份不断积累而增高, 其前者随生长年份的积累速度及含量明显高于后者, 这与藏医药习用三年以上藏木香根入药一致。

参考文献

- [1] 中国药典 2005 年版一部. 2005: 13
- [2] 中华藏本草. 北京: 民族出版社, 1997: 254
- [3] 李姚姚, 赵宇新. 国外医学中医中药分册, 2004, 26 (1): 44
- [4] Kalsi, PS, Goyal R, Takwar KK, Chhabra BR. Phytochemistry, 1989, 28: 2093
- [5] Wang Ketai, Liu Huitao, Zhao Yunkun. Talanta, 2000, 52: 1001
- [6] 夏晶, 季申. 中国药学杂志, 2005, 40 (24): 1895
- [7] 李桂兰, 王焕兰, 连儒强. 中国实验方剂学杂志. 2002, 8(6): 62
- [8] 袁倬斌, 邹洪. 分析测试学报, 1998, 17(2): 47
- [9] 肖远灿, 胡凤祖. 中国药学杂志, 2007, 42: 491
- [10] 邹兴强. 四川农业科技, 2006, 9: 29