

# 辛夷中辛夷脂素与木兰脂素 高效液相色谱含量测定方法的建立与优化

曹伟国<sup>1,3,4</sup>,陶燕铎<sup>2</sup>,颜学伟<sup>1</sup>,张丹<sup>1\*</sup>,王刚<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学中医药学院,重庆 400016;

2. 中国科学院西北高原生物研究所,青海 西宁 810000;

3. 重庆医科大学中医药学院中医药研究室,重庆 400016;

4. 重庆医科大学中医药学院中医药实验教学中心,重庆 400016)

**摘要:**目的 建立并优化辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量测定方法。方法 采用 HPLC 法同时测定辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量,色谱柱为 hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 柱(5 μm, 250 × 4.6 mm),流动相为甲醇-水(60:40),流速为 1.0 ml · min<sup>-1</sup>,检测波长为 278 nm。结果 木兰脂素在 30~600 μg · ml<sup>-1</sup> 浓度范围内线性关系良好( $r=0.9997$ ),平均加样回收率为 98.72%;辛夷脂素在 20~400 μg · ml<sup>-1</sup> 浓度范围内线性关系良好( $r=0.9995$ ),平均加样回收率为 98.64%。结论 该方法准确、简便、快速,适用于辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量分析,可为辛夷药材及其制剂的质量控制提供参考。

**关键词:** 辛夷; 木兰脂素; 辛夷脂素; 高效液相色谱法

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2014.07.024

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2014)07-1598-02

## Establishment and Optimization of the Method for Determination of Magnolin and Fargesin in *Magnolia biondii* Pamp. by HPLC

Cao Wei-guo<sup>1,3,4</sup>, TAO Yan-duo<sup>2</sup>, YAN Xue-wei<sup>1</sup>, ZHANG Dan<sup>1\*</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>

(1. TCM College of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing, 401331, China; 2. The Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000, China; 3. The Lab of TCM of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing, 400016, China; 4. TCM Experimental Teaching Center of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing, 401331, China)

**Abstract: Objective** To establish and optimize the method for determination of magnolin and fargesin in *Magnolia biondii* Pamp. **Methods** HPLC method was used. Analyses were carried out on Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase was acetonitrile-water at the flow rate of 1 ml · min<sup>-1</sup>. The wavelength of detector was set at 278 nm. **Results** The standard curve was linear with the range of 30~600 g · ml<sup>-1</sup> for magnolin, and the average recovery rate was 98.72%. The standard curve was linear with the range of 20~400 g · ml<sup>-1</sup> for fargesin, and the average recovery rate was 98.64%. **Conclusion** The method is simple and rapid, and suitable to determine the content of magnolin and fargesin in *Magnolia biondii* Pamp. The method can be used for the quality control of *Magnolia biondii* Pamp. and related preparatin.

**Key words:** *Magnolia biondii* Pamp.; Magnolin; Fargesin; HPLC

辛夷是木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp.、玉兰 *Magnolia denudata* Desr. 或武当玉兰 *Magnolia sprengeri* Pamp. 的干燥花蕾<sup>[1]</sup>,具有散风寒、通鼻窍之功效,临床上常与白芷、细辛、防风、苍耳子等配伍,应用于治疗风寒头痛及各种鼻炎<sup>[2-4]</sup>。辛夷的主要有效成分为挥发油、木脂素类和黄酮类化合物<sup>[5,6]</sup>,其中辛夷脂素与木兰脂素为其木脂素类的主要成分,目前《中国药典》只收载木兰脂素的含量测定方法,关于同时测定二者含量的文献报道较少,且样品处理方法较为复杂。本研究拟采用高效

液相色谱法同时测定辛夷中辛夷脂素与木兰脂素的含量,并对分析方法进行优化,为辛夷药材及其制剂的质量控制方法研究提供参考。

### 1 材料

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪,LC solution 色谱工作站,SPD-20A UV-VIS Detector 紫外检测器,Millipore 溶剂过滤系统,METIER TOLEDO AG204 万分之一电子分析天平。

木兰脂素、辛夷脂素(由中国药品生物制品检定研究院提供,批号分别为 110882-200605、111561-200603,供含量测定用),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

辛夷药材购自重庆市中药材市场,经重庆医科大学王刚副教授鉴定为望春花 *Magnolia biondii* Pamp.。

### 2 方法与结果

2.1 高效液相色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS<sub>2</sub> C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm 5 μm);流动相为甲醇-水,流速 1.0 ml · min<sup>-1</sup>;柱温为室温;进样量 20 μl;检测波长 278 nm;理论塔板数按芍药苷峰计

收稿日期: 2013-09-05; 修订日期: 2014-02-10

基金项目: 国家“十一五”国家科技支撑计划(No. 2007BAI45B00);

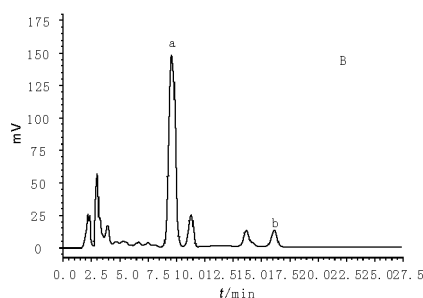
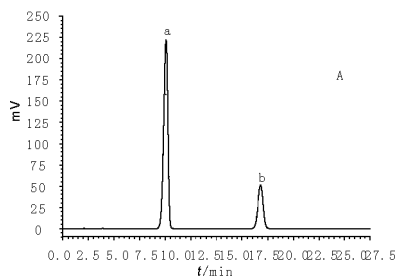
重庆市卫生局中医药科技项目(No. 2010-1-146)

作者简介: 曹伟国(1978-),男(汉族),山东临沂人,重庆医科大学中医药学院副教授,硕士学位,主要从事中药与天然药物研究与开发工作。

\* 通讯作者简介: 张丹(1979-),女(汉族),陕西渭南人,重庆医科大学中医药学院副教授,硕士学位,主要从事药用植物资源开发与利用工作。

算应不低于 4 000,在此条件下各组分得到良好分离,液相色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取木兰脂素对照品 6.0 mg 和辛夷脂素对照品 4.0 mg,各置 10 ml 容量瓶中,分别加甲醇溶解并定容,即得。



A - 对照品; B - 辛夷样品; a - 木兰脂素; b - 辛夷脂素

图 1 样品高效液相色谱图

2.3 供试品溶液的制备 取辛夷药材粗粉约 0.2 g,精密称定,置 50 ml 具塞锥形瓶中,精密加甲醇 30 mL,称重,浸泡过夜后超声提取 30 min,放置至室温,再称重,并用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,再过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,取续滤液即得。

2.4 标准曲线的制备 精密量取木兰脂素对照品溶液(0.6 mg  $\cdot$  ml<sup>-1</sup>) 适量分别制备浓度为 0.03, 0.06, 0.12, 0.24, 0.48 mg  $\cdot$  ml<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液;精密量取辛夷脂素对照品溶液(0.4 mg  $\cdot$  ml<sup>-1</sup>) 稀释制备浓度为 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32 mg  $\cdot$  ml<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液。按上述色谱条件,分别进样,测定峰面积,以色谱峰面积  $A$  为纵坐标,对照品浓度  $C$  为横坐标,计算得木兰脂素的线性回归方程:  $A = 12\ 837 C + 12\ 863$   $r = 0.999\ 7$ ,结果表明木兰脂素在 30 ~ 600  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  进样浓度范围内线性关系良好;辛夷脂素的线性回归方程:  $A = 23\ 160 C - 6\ 761$   $r = 0.999\ 5$ ,结果表明芍药苷在 20 ~ 400  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  进样浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度实验 精密吸取木兰脂素对照品溶液和辛夷脂素对照品溶液,分别进样 20  $\mu\text{l}$ ,各重复进样 6 次,依据上述色谱条件进样并计算,结果表明,木兰脂素峰面积平均值为 7705060,  $RSD$  为 1.13%;辛夷脂素峰面积平均值为 9260004,  $RSD$  为 1.48%,表明精密度良好。

2.6 重复性实验 精密称取辛夷粗粉 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按样品测定方法进行测定并计算。测得木兰脂素和辛夷脂素的平均含量分别为 8.03% 和 0.44%;  $RSD$  分别为 1.37% 和 1.46%。

2.7 稳定性实验 在上述色谱条件下,精密吸取同一供试品溶液 6 份,在室温下分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 进样 20  $\mu\text{l}$ ,测定并计算,结果测得木兰脂素与辛夷脂素含量的  $RSD$  分别为 1.08% 和 1.16%,表明辛夷供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率实验 取已测定含量的辛夷样品 0.1g 共 6 份,分别精密加入木兰脂素和辛夷脂素对照品适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,结果木兰脂素和辛夷脂素的平均加样回收率分别为 98.72% 和 98.64%;  $RSD$  分别为 1.47% 和 2.51%,表明本实验供试品溶液制备方法具有较好的回收率。

2.9 样品含量测定 按照“2.3”项下方法制备辛夷供试品溶液 3 份,分别进样 20  $\mu\text{l}$ ,按照上述色谱条件进行测定,以外标法计算样品中木兰脂素与辛夷脂素的含量。结果见表 1。

供试品	木兰脂素含量	辛夷脂素含量	%
供试品 1	8.04	0.44	
供试品 2	8.06	0.45	
供试品 3	8.03	0.44	

### 3 讨论

本实验建立并优化了 HPLC 法测定辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量,与现有方法相比较<sup>[7]</sup>,其样品制备方法简单,分离效果理想,分析快速准确,专属性强,精密度高,重现性较好,因此本方法可为辛夷药材质量标准的制定或提高提供实验依据。

辛夷主要含有挥发油、木脂素、黄酮类、生物碱类和萜类成分,中国药典中以挥发油与木兰脂素为辛夷的质量评价标准,本实验采用高效液相色谱法同时测定了辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量,可以为加强辛夷的质量控制提供参考。其中木兰脂素的含量远超过中国药典辛夷项下标准,与已知研究相比<sup>[8-11]</sup>,本实验中木兰脂素与辛夷脂素的测得量均高于其他研究结果,究其原因尚需进一步研究。

其他文献报道辛夷中尚含有望春花素、玉兰脂素和望春玉兰脂素等木脂素类成分,辛夷的液相色谱图也可初步判断尚有色谱峰,因此辛夷药材的质量控制还可以增加测定指标,如可以采用“一测多评法”建立辛夷中多种木脂素指标成分的质量控制体系,达到更好的控制辛夷药材质量的目的。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典,一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 169.
- [2] 熊天琴, 秦旭华, 庞龙, 等. 辛夷挥发油对实验性过敏性鼻炎的作用[J]. 中医学刊 2006, 24(6): 1031.
- [3] 李战, 吴敏. 辛夷和苍耳子的临床药理研究进展[J]. 上海第二医科大学学报 2004, 24(5): 393.
- [4] 范欣生, 方泰惠, 徐立, 等. 复方辛夷口服液对实验性哮喘豚鼠气道炎症的影响[J]. 中国实验方剂学杂志 2005, 11(6): 58.
- [5] 王琪, 李洪玲. 中药辛夷质量标准研究 - 比色法测定辛夷中总黄酮的含量[J]. 中草药 2003, 34(5): 424.
- [6] 黄晓刚. 两种药用植物化学成分的研究[D]. 成都: 四川大学硕士学位论文 2006: 05.
- [7] 徐丽华, 崔保国, 于宗渊. RP-HPLC 法测定辛夷中木兰脂素与辛夷脂素的含量[J]. 药物分析杂志 2003, 23(6): 426.
- [8] 方红, 郭群, 苏玮, 等. 高效液相色谱法测定中药辛夷中木兰脂素的含量[J]. 药物分析杂志 2002, 22(5): 342.
- [9] 于宗渊, 张希林, 刘青, 等. HPLC 法测定望春花花蕾中辛夷脂素的含量[J]. 中药材 2005, 28(10): 897.
- [10] 于宗渊, 曲永胜, 苏本正. 薄层扫描法测定辛夷中辛夷脂素的含量[J]. 时珍国医国药 2006, 17(7): 1197.
- [11] 陈成. 辛夷指纹图谱的研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学硕士学位论文 2011.