

# HPLC法测定麻口皮子药中桉脂素的含量<sup>Δ</sup>

彭 帅\*,贺卫军,刘年珍,周小江<sup>#</sup>(湖南中医药大学药学院,长沙 410208)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4688-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.28

**摘要** 目的:建立测定麻口皮子药中桉脂素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(56:44, V/V),流速为1.0 ml/L,检测波长为221 nm,柱温为25 ℃。结果:桉脂素检测进样量线性范围为0.208~2.08 μg( $r=0.999\ 8$ );精密性、重复性、稳定性试验的RSD<2.0%;加样回收率为96.18%~103.04%(RSD=2.58,  $n=6$ )。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于麻口皮子药中桉脂素含量的测定。

**关键词** 麻口皮子药;高效液相色谱法;含量测定;桉脂素

## Content Determination of Eudesmin in *Zanthoxylum simulans* by HPLC

PENG Shuai, HE Wei-jun, LIU Nian-zhen, ZHOU Xiao-jiang (College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of eudesmin in *Zanthoxylum simulans*. METHODS: HPLC was performed on the column of Kromasil C<sub>18</sub> with mobile phase of acetonitrile-water (56:44, V/V) at flow rate of 1.0 ml/L, detection wavelength was 221 nm, column temperature was 25 ℃. RESULTS: The linear of eudesmin was 0.208-2.08 μg ( $r=0.999\ 8$ ); RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 2.0%; recovery was 96.18%-103.04% (RSD=2.58,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple and good reproducibility, and can be used for the content determination of eudesmin in *Z. simulans*.

**KEYWORDS** *Zanthoxylum simulans*; HPLC; Content determination; Eudesmin

麻口皮子药收载于2009年版《湖南省中药材标准》,为芸香科植物野花椒 *Zanthoxylum simulans* Hance 的干燥干皮及枝皮,具有祛风散寒、活血止痛、解毒消肿的功效,主要用于风寒湿痺、腹痛泄泻、咽喉疼痛、牙龈肿痛、无名肿毒等症的治疗<sup>[1-2]</sup>。麻口皮子药中主要含木脂素和生物碱类成分<sup>[3-6]</sup>,具有抗炎、抑制关节滑膜细胞增殖、免疫抑制等作用<sup>[3,6]</sup>。但对其质量控制标准研究还不够完善,尚无其含量测定的相关规定。为了开发利用麻口皮子药这一药用资源,进一步完善其质量控制标准,本试验采用高效液相色谱(HPLC)法建立了麻口皮子药中桉脂素的含量测定方法,以为该药材的合理利用提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪,包括二级管阵列检测器(美国Agilent公司);As3120型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);AUW220D型电子天平(日本岛津公司)。

### 1.2 试剂

桉脂素对照品为笔者自制,经核磁共振谱(NMR)分析,同时参考文献<sup>[7]</sup>确定结构,并经HPLC峰面积归一化法检测纯度

为98.2%;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 药材

分别于2015年2~4月购于湖南中医药大学附属医院(No.1)、湖南邵东廉桥药材市场(No.2)、长沙市高桥药材市场(No.3),均由湖南中医药大学药学院周小江教授鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验<sup>[8]</sup>

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(56:44, V/V);流速:1.0 ml/L;检测波长:221 nm;柱温:25 ℃。在上述色谱条件下,理论板数以桉脂素峰计算应大于4 000,分离度大于1.5,各成分基线分离良好,详见图1。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取干燥至恒质量的桉脂素对照品适量,加乙腈制成每1 ml含0.104 mg的对照品溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品粉末(过3号筛)约2.0 g,精密称定,精密加入无水乙醇50 ml,称定质量,回流提取90 min,冷却后补足减失的质量,摇匀,静置,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 以流动相作为阴性对照溶液。

### 2.3 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液2、5、10、15、17.5、20 μl,按“2.1”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以桉脂素进样量( $x, \mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=1\ 858.9x+93.275$ ( $r=0.999\ 8, n=6$ )。

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31170336)

\* 硕士研究生。研究方向:中药资源与质量。E-mail:664769987@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授,博士生导师。电话:0731-88458234。E-mail:gale9888@163.com

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

No.	桉脂素含量, %
1	0.262
2	0.244
3	0.287

不同体积分数的溶剂(甲醇和乙醇)、不同提取时间,最终确定为文中所述供试品溶液制备方法。

本试验分别考察了甲醇-水和乙腈-水的流动相系统,结果,后者的分离效果优于前者,并且柱压较低,因此确定采用乙腈-水作为流动相;同时,桉脂素在221、233和283 nm处均有最大吸收波长,但在221 nm波长处峰形清晰、无干扰,因此选择221 nm为检测波长。

由表2可知,3个不同来源的麻口皮子药中桉脂素含量分别为0.262%、0.244%和0.287%,表明桉脂素为麻口皮子药的主成分之一,而本文通信作者周小江教授拥有麻口皮子药总木脂素提取物的知识产权<sup>[9]</sup>,这为我校开发治疗关节炎的创新中药打下了较坚实基础。

综上所述,该方法操作简便、重复性好,可用于麻口皮子药中桉脂素含量的测定。

### 参考文献

- [1] 湖南省食品药品监督管理局.湖南省中药材标准:2009年版[S].长沙:湖南省科技出版社,2009:217.
- [2] 贾敏如,李星炜.中国民族药志要[M].北京:中国医药科技出版社,2005:651.
- [3] Wang JF, Deng YF, Yang SH, et al. Characterization and biological evaluation of six new dimeric lignans with an unusual-unsaturated ketone motif from *Zanthoxylum simulans*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(19):4 667.
- [4] Peng CY, Liu YQ, Deng YH, et al. Lignans from the bark of *Zanthoxylum Simulans*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(3):232.
- [5] Yang SH, Liu YQ, Wang JF, et al. Isoquinoline alkaloids from *Zanthoxylum simulans* and their biological evaluation[J]. *J Antibiot*, 2015, 68(4):289.
- [6] Zhou XJ, Chen XL, Li XS, et al. Two dimeric lignans with an unusual-unsaturated ketone motif from *Zanthoxylum podocarpum* and their inhibitory effects on nitric oxide production[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(1): 373.
- [7] Latip J, Hartley TG, Waterman PG. Lignans and coumarins metabolites from *Melicopehayesii*[J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(1):107.
- [8] 滕建北,谢凤凤,梁雁,等.HPLC法测定瑶药鸢尾中绿原酸的含量[J].中国药房,2015,26(6):797.
- [9] 周小江.一种治疗关节炎的麻口皮子药总木脂素提取物:中国,ZL 201110030813.1[P]. 2012-2.

(收稿日期:2015-05-08 修回日期:2015-07-02)

(编辑:张静)

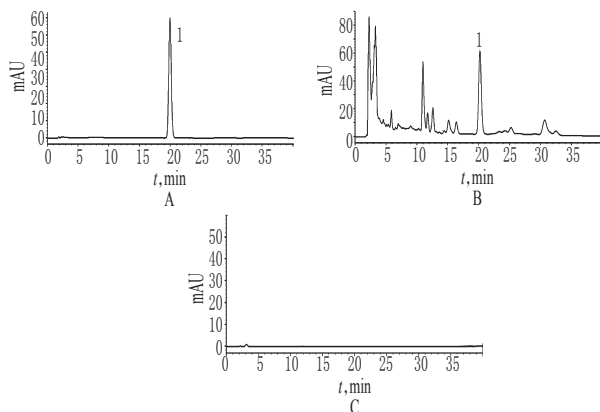


图1 高效有效色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.桉脂素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance;B.test sample;C.negative control;1.eudesmin

结果表明,桉脂素检测进样量线性范围为0.208~2.08 μg。

### 2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,桉脂素峰面积的RSD为1.34%(n=6),表明仪器精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(No.2)适量,分别于放置0、2、4、8、12、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,桉脂素峰面积的RSD为1.92%(n=6),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

### 2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(No.2)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,桉脂素峰面积的RSD为1.71%(n=6),表明本方法重复性良好。

### 2.7 加样回收率试验

取样品(No.2)适量,共6份,分别加入一定质量的对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1.038 5	2.533 9	2.470 0	5.079 0	103.04	99.68	2.58
0.994 1	2.425 6	2.470 0	4.849 6	98.14		
1.001 2	2.442 9	2.470 0	4.863 7	98.01		
0.982 8	2.398 0	2.470 0	4.773 6	96.18		
1.027 0	2.505 9	2.470 0	5.039 0	102.55		
0.998 4	2.436 1	2.470 0	4.894 0	99.51		

### 2.8 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

## 3 讨论

笔者前期分别考察了不同提取方法(超声和加热回流)、