

HPLC 测定不同产地禹州漏芦中 α -三联噻吩含量

李喜凤,余云辉,胡春月,胡利欣,邱天宝,高伟利
(河南中医学院,郑州 450008)

〔摘要〕 目的:采用 RP-HPLC 法测定不同产地禹州漏芦中 α -三联噻吩含量。方法:色谱柱为 Hypersil ODS₂ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm,5 μ m),流动相甲醇-0.1% 醋酸溶液(85:15),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 $^{\circ}$ C,检测波长 352 nm。结果: α -三联噻吩在 0.491 6~6.145 0 μ g 峰面积与进样量呈良好线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率为 98.83%。结论:该法简便、快速、准确、专属性强、重现性好,不同产地禹州漏芦中 α -三联噻吩含量均符合《中国药典》(2010 年版)不得少于 0.2% 的规定。

〔关键词〕 反相高效液相色谱;禹州漏芦; α -三联噻吩;含量测定

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2011)06-0060-03

Determination of α -Terthienyl in Radix Echinopsis from Different Places by RP-HPLC

LI Xi-feng, YU Yun-hui, HU Chun-yue, HU Li-xin, QIU Tian-bao, GAO Wei-li
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

〔Abstract〕 **Objective:** Determination of α -terthienyl in Radix Echinopsis from different places by using RP-HPLC. **Method:** The separation was carried out at 25 $^{\circ}$ C on a Hypersil ODS₂ C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m) with MeOH 0.1% acetate solution (85:15) as mobile phase. The detective wavelength was at 352 nm with the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The α -terthienyl was linear within the concentration range of 0.4916 – 6.1450 μ g ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 98.83%. **Conclusion:** This method is simple and practical with strong specificity and good reproducibility. The content of α -terthienyl is up to the regulation of no less than 0.2% in Chinese Pharmacopoeia (Edition 2010) from different places.

〔Key words〕 HPLC; Radix Echinopsis; α -terthienyl; determination

禹州漏芦 Radix Echinopsis 为菊科植物蓝刺头 *E. latifolius* Tausch 或华东蓝刺头 *E. grijsii* Hance 的干燥根,别名华州漏芦、毛头、龙葱、驴欺口、单州漏芦、火绒草、火球花、鹿骊、禹漏芦,具有清热解毒、排脓止血、消痈下乳的功效,临床用于治疗诸疮痈肿,乳痈肿痛,乳汁不通,瘰癧疮毒等症^[1]。《神农本草经》记载其“味苦咸、寒,主皮肤热,恶疮疽痔,

湿痹,下乳汁,久服轻身益气,耳目聪明,不老延年”^[2]。《中国药典》1995 年版首次将禹州漏芦与漏芦分开,另列为独立品种。禹州漏芦与漏芦为同科不同属植物,其化学成分明显不同,禹州漏芦主要含 α -三联噻吩,卡多帕亭,5-(3,4 二羟基丁炔-1)-联噻吩,薄荷酮, δ -愈创烯,十六烷酸,熊果酸等 40 多种成分,药效学表明禹州漏芦主要活性成分 α -三联噻吩具有杀虫、抗 HIV、抗真菌、抗病毒及肿瘤等作用^[3-7], α -三联噻吩的含量高低将直接影响药材的质量。本实验对各地所产禹州漏芦 α -三联噻吩含量进行分析比较,为更好控制禹州漏芦质量提供依据。

1 仪器与试剂

DIONEX 高效液相色谱仪包括 DIONEX P-680 泵、ASI-100 自动进样器、PDA-100 检测器、

〔收稿日期〕 20100721(005)
〔基金项目〕 河南省高校工程技术研究中心资助项目(教科外〔2010〕6 号)
〔第一作者〕 李喜凤,河南中医学院教授,硕士生导师,研究方向:中药新药及质量标准的研究, Tel: 0371-65575823, E-mail: lxf_52@yeah.net

CHROMELON 工作站(美国 DIONEX 公司);YUPING FA2004b 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司);KQ-100E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。甲醇为色谱纯(天津四友),水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

禹州漏芦药材购自不同地区,经河南中医学院生药学科董诚明教授鉴定为菊科植物蓝刺头 *E. latifolius* 的干燥根。 α -三联噻吩对照品(批号 311073)由美国 Sigma 公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil ODS₂ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m)(大连依利特公司);流动相甲醇-0.1% 醋酸溶液(85:15);流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 352 nm;柱温 25 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 α -三联噻吩对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 中含 α -三联噻吩 0.245 8 mg 的溶液,摇匀,过 0.45 μ m 的滤膜,即得。见图 1。

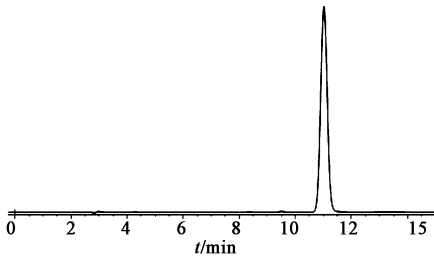


图 1 α -三联噻吩对照品色谱图

2.3 供试品溶液的制备 取禹州漏芦粗粉(过四号筛)约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 10 mL,密塞,称定质量,超声 30min(功率 300 W,频率 40 kHz),放冷,再称定质量,用甲醇补足减少的质量,摇匀,取续滤液,过 0.45 μ m 的滤膜,即得。见图 2。

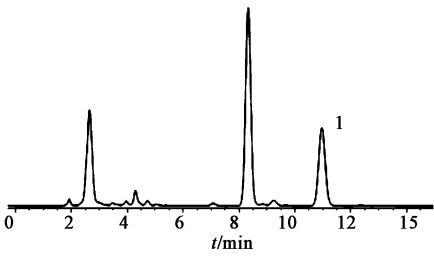


图 2 禹州漏芦供试品 HPLC
1. α -三联噻吩

2.4 线性关系考察 精密吸取 α -三联噻吩照品溶液 2,5,10,15,20,25 μ L 进样,以进样量为横坐标,以 α -三联噻吩的峰面积为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $Y = 99.093X - 67.958, r = 0.9999$, α -三联噻吩在 0.491 6~6.145 0 μ g 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取同一样品溶液,连续进样 5 次,每次 10 μ L,测得 α -三联噻吩峰面积的 RSD 1.34%,表明该方法精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称定同一批次样品 0.25 g,共 5 份,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,进样 10 μ L,测得 α -三联噻吩峰面积的 RSD 1.63%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一批供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,12 h 进样 10 μ L,得 α -三联噻吩峰面积的 RSD 0.68%,表明样品溶液在 12 h 内稳定。

表 1 禹州漏芦中 α -三联噻吩的加样回收率测定

称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.124 5	0.718 4	0.770 0	1.484 7	99.52	98.83	1.53
0.125 3	0.721 3	0.577 1	1.291 8	98.86		
0.126 3	0.730 0	0.730 1	1.448 1	98.36		
0.124 5	0.718 2	0.718 2	1.422 6	98.08		
0.129 3	0.722 5	0.867 0	1.575 6	98.40		
0.126 1	0.726 1	0.871 5	1.595 7	99.78		

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的禹州漏芦药材 6 份,按高、中、低 3 种浓度分别加入 α -三联噻吩对照品溶液,按 2.3 项下供试品处理的方法制备样品溶液,进样 10 μ L,测得含量,计算加样回收率,结果见表 1。

2.9 样品的含量测定 取待测 9 批样品,按 2.3 项供试品处理方法进行处理,平行 3 份,按上述色谱条件测定,用外标法进行计算样品含量。结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长的选择 采用 PDA 检测器在 190~600 nm 扫描, α -三联噻吩在 352 nm 处有最大吸收,因此本实验采用 352 nm 作为检测波长。

3.2 提取溶剂的选择 曾用乙醇、丙酮、乙酸乙酯、石油醚、氯仿溶剂对样品的提取进行考察,发现石油醚在超声过程中易升温暴沸;氯仿、乙醇、丙酮、乙酸乙酯提取物中 α -三联噻吩含量低。甲醇提取物中 α -三联噻吩含量较高。故用纯甲醇作为的提取溶剂。

表 2 禹州漏芦中 α -三联噻吩的含量测定 ($n=3$)			
No.	样品来源	样品量 /g	α -三联噻吩 /mg·g ⁻¹
1	济源	0.250 1	5.768 2
2	焦作	0.249 8	5.078 9
3	洛阳	0.249 1	3.417 6
4	南阳	0.249 9	3.489 2
5	湖北	0.250 1	5.245 7
6	南阳(饮片)	0.250 0	3.181 9
7	山西	0.249 6	6.377 8
8	山东	0.250 4	3.907 0
9	陕西	0.250 2	4.242 6

3.3 流动相的选择 实验中曾对甲醇-0.1% 醋酸溶液(80:20), 甲醇-0.1% 醋酸溶液(85:15), 甲醇-0.1% 醋酸溶液(90:10)等色谱系统进行考察, 结果以甲醇-0.1% 醋酸溶液(85:15)分离效果好, 峰形理想。

6 号样品中 α -三联噻吩含量最低, 该样品为饮片, 实验中发现具有较多的非药用部位纤维状硬毛和根茎, 笔者观察药材市场上禹州漏芦药材饮片大都含有上述非药用部位, 因此, 禹州漏芦饮片的生产还有待进一步规范。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005;244.

[2] 曹元宇. 本草经[M]. 上海: 上海科技出版社, 1987;110.

[3] Marles R J, Hudson J B, Graham E A, et al. Structureactivity studies of Photoactivated antiviral and cytotoxic tricyclic thiophenes [J]. Photochem Photobio, 1992, 56(4): 479.

[4] Hudson J B, Harris L, Teeple A, et al. The anti-HIV activity of the phytochemical α -terthienyl [J]. Antiviral Res, 1993, 20(1): 33.

[5] Hudson J B, Harris L, Marles R J, et al. The anti-HIV activities of photoactive terthiophenes [J]. Photochem Photobiol, 1993, 58(2): 246.

[6] Hudson J B, Graham E A, Towers G H. Antiviral assays on phytochemicals: the influence of reaction parameters [J]. Planta Med, 1994, 60(4): 329.

[7] Nivsarkar M, Kumar G P, Laloraya M, et al. Superoxide dismutase in the analgills of the mosquito larvae of *Aedes aegypti*: its inhibition by α -terthienyl [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 1991, 16(4): 249.

[责任编辑 蔡仲德]