

文章编号: 1004-4353(2008)04-0276-03

HPLC-MS 厚朴有效成分研究

王大力¹, 孙艳涛², 杜长青³

(1. 延边大学理学院 化学系, 吉林 延吉 133002; 2. 吉林师范大学 化学学院, 吉林 四平 136000;
3. 吉林烟草工业有限责任公司 技术中心, 吉林 长春 130000)

摘要: 为分析厚朴有效成分, 建立了厚朴药材中厚朴酚与和厚朴酚的 HPLC-MS 快速分析方法. 鉴定出厚朴的有效成分为厚朴酚、和厚朴酚和 Obovatol, 并测定了其含量, 为提高厚朴质量控制提供参考.

关键词: 厚朴; 厚朴酚; 和厚朴酚; Obovatol; HPLC

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

Determination of Honokiol and Magnolol in Magnolia Officinalis by HPLC-MS

WANG Da-li¹, SUN Yan-tao², DU Chang-qing³

(1. Department of Chemistry, College of Sciences, Yanbian University, Yanji 133002, China;
2. College of Chemistry, Jilin Normal University, Siping 136000, China;
3. The Technical Center of Jilin Tobacco Co. Ltd, Changchun 130000, China)

Abstract: To analyze the active components of *Magnolia officinalis*, a fast HPLC-MS method was developed. Magnolol, Honokiol and Obovatol were identified and qualified by HPLC-MS. The method provides a reference for the quality control of *Magnolia officinalis*.

Key words: *magnolia officinalis*; magnolol; honokiol; obovatol; HPLC

0 引言

厚朴为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd)或凹叶厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. Wils)的干燥干皮、根皮及枝皮, 主产于四川、湖北、浙江、贵州、湖南等地. 厚朴具有燥湿消痰、下气除满的功效, 常用于湿滞伤中、脘痞吐泻、食积气滞、腹胀便秘、痰饮喘咳等症. 厚朴生长周期长, 一般需 15~20 年, 刮皮后的厚朴树极易死亡, 故市场上该药材长期供不应求^[1]. 目前, 全国各地出现了近 30 种药用植物的皮混作厚朴使用, 给药材收购、检定、临床应用带来很大的混乱.

近年来, 关于厚朴药材中成分分析的报道较多, 例如紫外分光光度法、薄层扫描法、高效液相色谱法^[1-3]、气相色谱法^[4-5]和气-质联用法^[6]等.

本实验利用 HPLC 对厚朴药材的提取成分进行分离, 根据质谱提供的各化合物的分子量信息, 结合厚朴药材化学成分的有关报道, 鉴定其化学成分, 为厚朴药材的鉴别真伪和分析优劣提供有用的信息和方法.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器 HITACHI 液相色谱仪, 包括 HITACHI Integrator D-7500, HITACHI Pump L-7150, HITACHI Detector L-7420 UV-VIS; 美国安捷伦公司(惠普公司)制造的 HP 1100 LC/MS 1949A; AS 系列超声波清洗器; AL-01 溶剂过滤器.

试剂 厚朴药材为市售, 厚朴酚及和厚朴酚的对照品由日本和光纯药工业株式会社提供, 甲

收稿日期: 2008-06-13

作者简介: 王大力(1971—), 男, 讲师, 研究方向为食品及中药中活性成分分析.

醇为分析纯,水为重蒸馏水,所有溶剂都经过0.45 μm 的过滤器过滤并脱气。

1.2 实验条件

色谱条件 色谱柱为 Alltima C₁₈ 150 mm×4.6 mm, 5 μm , 流动相甲醇-水的体积比为 75 : 25, 柱温为室温, 检测波长为 254 nm, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 25 μL 。

质谱条件 记录总离子流(TIC)色谱图, 离子扫描方式为 APCI(-), 质量扫描范围为 m/z 100—500。毛细管电压为 6 000 V, 传输/裂解电压为 70 V, 干燥气(N_2)流速为 4 L/min, 雾化气(N_2)压力为 275.8 kPa, 干燥气温度为 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 对照品及样品溶液的制备

对照品 配制 0.2 g/L 厚朴酚、和厚朴酚的甲醇溶液, 取配制的厚朴酚与和厚朴酚溶液等量混合, 即得对照品混合溶液, 浓度均为 0.1 g/L。

样品 精称 1.00 g 厚朴粗粉, 置于 50 mL 的具塞锥形瓶中, 加甲醇溶液 20 mL, 振摇, 超声 10 min 后滤过, 定容在 25 mL 的容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 即得样品。

2 结果与讨论

2.1 提取方法的选择

表 1 中给出了不同提取方法的提取结果。从表中可知, 在提取量相差不大的前提下, 超声法可明显缩短浸取时间, 且设备简单, 只需常温常压操作。同时, 以超声法提取时超过 30 min 厚朴酚与和厚朴酚的含量变化不大, 因此提取时间以 10 min 为宜。

表 1 不同提取方法测定厚朴酚与和厚朴酚的结果

提取方法	提取时间	厚朴酚 /(mg/g)	和厚朴酚 /(mg/g)
直接超声	10 min	2.75	0.31
直接超声	30 min	2.76	0.34
室温静置	24 h	2.79	0.34

2.2 色谱条件的优化

分别以甲醇-水和乙腈-水为流动相进行实验, 记录不同比例、不同波长、不同流速的色谱图。结果表明: 用甲醇-水体积比为 75 : 25, 流速为 1.0 mL/min, 波长为 254 nm 为最佳条件, 且此时所要分析的峰达到基线分离, 见图 1。

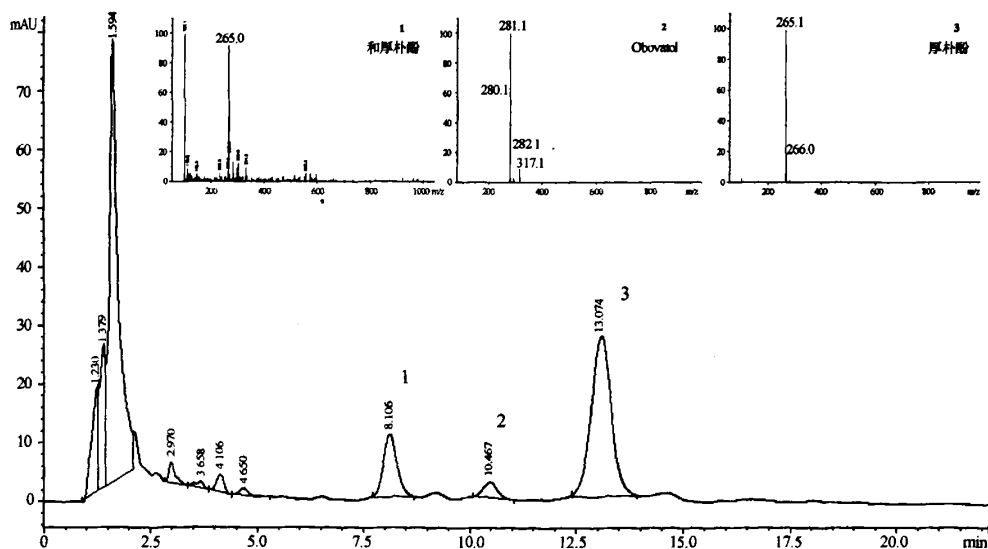


图 1 厚朴药材的 HPLC-MS 谱图

2.3 重现性实验 平行操作配制 5 份同一厚朴提取物的供试品溶液, 分别进样。结果显示, 相对保留时间 RSD 小于 0.03%, 相对峰高的 RSD 小于 1.6%, 说明重现性较好。

2.4 样品稳定性 取一新配制的供试品溶液, 分

别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时进样分析。结果显示, 相对保留时间 RSD 小于 0.01%, 相对峰高的 RSD 小于 2.3%, 表明样品稳定性较好。

2.5 线性关系

用厚朴酚与和厚朴酚不同浓度与对应的峰面

积做图,其浓度与峰面积关系由 Origin 6.0 软件处理的回归方程分别为:

和厚朴酚 $A = 37\,754.8C - 6.5$, $R^2 = 0.99$;
厚朴酚 $A = 17\,415.7C - 17.2$, $R^2 = 0.99$.

取对照品溶液进样,测得最低检出量分别为:厚朴酚 0.08 μg ,和厚朴酚 0.01 μg ;最低检测浓度分别为:厚朴酚 0.004 g/L,和厚朴酚 0.0005 g/L.

2.6 定性分析

厚朴中主要含有木脂素类成分,大部分属于新木脂素类,主要包括厚朴酚(Magnolol)、和厚朴酚(Honokiol). 根据对照品及样品的 HPLC-MS 图谱及得到的各色谱峰的光谱图——一级质谱图(各成分相对分子量)和二级质谱图(某成分的特征碎片),确定:1 号峰为和厚朴酚, m/z 265.0 为 $[M-1]^{-1}$ 峰; 3 号峰为厚朴酚, m/z 265.0 为 $[M-1]^{-1}$ 峰. 查对有关质谱资料,在质谱中的碎片峰与有关 Obovatol 的文献^[7]中的碎片峰质量数和紫外吸收都一致($UV \lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 206, 272),故鉴定 2 号峰为 Obovatol, m/z 281.1 为 $[M-1]^{-1}$ 峰, m/z 164.1 为 $[(M-1)-C_9H_9]^{-1}$ 峰, m/z 133.1 为 $[(M-1)-C_9H_9O_2]^{-1}$ 峰. 厚朴酚、和厚朴酚与 obovatol 的结构图见图 2.

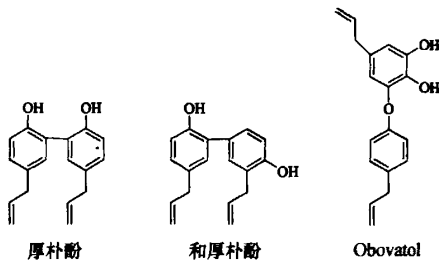


图 2 厚朴酚、和厚朴酚与 obovatol 的结构图

2.7 定量分析

分析 6 批厚朴药材,测得厚朴酚与和厚朴酚的含量,见表 2. 由于 Obovatol 无标准品,故其含量是根据与厚朴酚的峰面积比值来计算,因此仅供参考.

表 2 厚朴酚、和厚朴酚与 obovatol 含量测定结果

样品号	厚朴酚 /(mg/g)	和厚朴酚 /(mg/g)	Obovatol /(mg/g)
1	2.15	0.46	0.14
2	0.04	0.02	0.04
3	1.24	0.73	0.07
4	0.05	0.02	0.01
5	0.01	0.02	—
6	0.26	0.41	—

3 结论

本研究对厚朴药材中的主要色谱峰进行了特征成分的表征,研究结果表明此方法能够快速有效地评价厚朴的质量. 运用本方法能够初步鉴定含有的其他化合物 Obovatol,确证含有厚朴酚及和厚朴酚,并可测定其含量.

参考文献:

[1] 裴学军,芦金清,刘毅,等. 厚朴药材高效液相指纹实验研究[J]. 中药材,2002,25(9):631-634.
[2] 宋万志,崔建芳,章观德. 厚朴类有效成分的含量测定及高效液相色谱图[J]. 天然产物研究与开发,1990,2(4):1-8.
[3] 芦金清,刘毅,李竣,等. 湖北道地药材厚朴的高效液相对照图谱研究[J]. 中国医院药学杂志,2003,23(10):589-591.
[4] 李国权,甄汉深,唐文武. 厚朴不同炮制品中厚朴酚与和厚朴酚的气相色谱测定[J]. 中药材,1994,17(3):32-33.
[5] 叶崇义,冯燕芹,滕建昌. 程序升温气相色谱法测定厚朴类药材中主要成分 β -桉油醇、厚朴酚与和厚朴酚[J]. 药物分析杂志,1992,12(3):151-152.
[6] 王勇. 厚朴的气象色谱质谱分析[J]. 海峡药学,1998,10(2):45-46.
[7] Ito K, Iida T, Ichino K, et al. Obovatol and Obovatol, Novel Biphenyl Ether Lignans from the Leaves of Magnolia Obovata Thunb[J]. Chem Pharm Bull, 1982,30(9):3347-3353.

作者: [王大力](#), [孙艳涛](#), [杜长青](#), [WANG Da-li](#), [SUN Yan-tao](#), [DU Chang-qing](#)
作者单位: [王大力, WANG Da-li \(延边大学理学院, 化学系, 吉林, 延吉, 133002\)](#), [孙艳涛, SUN Yan-tao \(吉林师范大学, 化学学院, 吉林, 四平, 136000\)](#), [杜长青, DU Chang-qing \(吉林烟草工业有限责任公司, 技术中心, 吉林, 长春, 130000\)](#)
刊名: [延边大学学报 \(自然科学版\)](#)
英文刊名: [JOURNAL OF YANBIAN UNIVERSITY \(NATURAL SCIENCE\)](#)
年, 卷(期): 2008, 34 (4)
被引用次数: 1次

参考文献(7条)

1. 宋万志;崔建芳;章观德 [厚朴类有效成分的含量测定及高效液相色谱图](#) 1990 (04)
2. 裴学军;芦金清;刘毅 [厚朴药材高效液相指纹实验研究](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2002 (09)
3. Ito K;Iida T;Ichino K [Obovatol and Obovatal, Novel Biphenyl Ether Lignans from the Leaves of Magnolia Obovata Thunb](#) 1982 (09)
4. 王勇 [厚朴的气相色谱质谱分析](#) 1998 (02)
5. 叶崇义;冯燕芹;滕建昌 [程序升温气相色谱法测定厚朴类药材中主要成分 \$\beta\$ -桉油醇、厚朴酚与和厚朴酚](#) 1992 (03)
6. 李国权;甄汉深;唐文武 [厚朴不同炮制品中厚朴酚与和厚朴酚的气相色谱测定](#) 1994 (03)
7. 芦金清;刘毅;李竣 [湖北道地药材厚朴的高效液相对照图谱研究](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2003 (10)

引证文献(1条)

1. 胡乐乾. 尹春玲. 杨颖. 崔丽伟 [三维荧光结合二阶校正技术对厚朴酚及和厚朴酚的定量分析](#)[期刊论文]-[平顶山学院学报](#) 2010 (5)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ybdxxb-zrkb200804014.aspx