

高效液相色谱法测定祁木香药材中异土木香内酯和土木香内酯

侯志飞¹, 张勉之², 李洪¹, 王刚^{1*}, 张利敏¹

1. 河北化工医药职业技术学院 制药工程系, 河北 石家庄 050026

2. 天津市公安医院, 天津 300040

摘要: 目的 建立祁木香药材中有效成分异土木香内酯和土木香内酯的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Kromacil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 检测波长为 194 nm, 以乙腈-0.05%磷酸水溶液 (60:40) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min。结果 异土木香内酯和土木香内酯的线性范围分别为 0.475~4.75 μg ($r=0.999\ 2$) 和 0.38~3.8 μg ($r=0.999\ 3$); 平均回收率分别为 98.3%和 98.0%。所收集的 5 个来源的祁木香药材中异土木香内酯和土木香内酯的量无明显差异, 且异土木香内酯的量均高于土木香内酯的量。结论 该法简便、可靠、准确, 可用于祁木香药材的质量控制。

关键词: 祁木香; 异土木香内酯; 土木香内酯; 高效液相色谱法; 土木香

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0916-03

Determination of isoalantolactone and alantolactone in *Inulae Radix* by HPLC

HOU Zhi-fei¹, ZHANG Mian-zhi², LI Hong¹, WANG Gang¹, ZHANG Li-min¹

1. Department of Pharmaceutical Engineering, Hebei Chemical and Pharmaceutical Vocation College, Shijiazhuang 050026, China

2. Tianjin Gong'an Hospital, Tianjin 300040, China

Key Words: *Inulae Radix*; isoalantolactone; alantolactone; HPLC; *Inula helenium* L.

祁木香为菊科植物的干燥根,《中国药典》中以土木香 *Inula helenium* L. 收载, 由于在河北安国大量种植, 故冠以“祁”字。祁木香是八大祁药之一, 该药辛、苦, 温, 归肝、脾经, 具有健脾和胃、行气止痛、安胎的作用, 用于治疗胸胁、脘腹胀痛、呕吐泻痢、胸胁挫伤、岔气作痛、胎动不安^[1]。2010 年版《中国药典》中土木香仅有性状鉴别、显微鉴别和薄层鉴别, 无定量鉴别。由于土木香中所含挥发油成分较多^[2-3], 近几年多见利用 GC 法对土木香及其制剂进行测定的报道^[4-7], 应用 HPLC 法的报道较少^[8-9], 所研究的药材多为青海、西藏等地所产藏木香。为更好地控制祁木香药材及其制剂的质量, 并为其制定质量标准提供依据, 本实验对祁木香中土木香内酯和异土木香内酯的测定方法进行了研究。

1 仪器与试剂

美国 SSI PC—2000 高效液相色谱仪 (美国 SSI 分析仪器有限公司), JD110—4 型电子天平

批号 (沈阳龙腾电子有限公司)。土木香内酯对照品 (批号 110760-200507)、异土木香内酯对照品 (批号 0761200-002) 均由中国药品生物制品检定所提供, 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 其余试剂均为分析纯。祁木香药材由市场购买和野外采集, 经鉴定均为菊科植物土木香 *Inula helenium* L. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromacil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 天津市兰博实验仪器设备有限公司); 流动相: 乙腈-0.05%磷酸水溶液 (60:40); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长 194 nm; 柱温: 30 °C; 进样量 20 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品的制备 精密称取干燥至恒定质量的异土木香内酯和土木香内酯对照品适量, 加甲醇配制得异土木香内酯和土木香内酯的混合对照品储备

收稿日期: 2010-12-12

基金项目: 河北省科技支撑计划项目 (10276431); 河北化工医药职业技术学院院级课题 (YZ1010)

作者简介: 侯志飞 (1982—), 女, 讲师, 从事中药质量标准研究。Tel: 13230128533 E-mail: ffxlt@163.com

*通讯作者 王刚 Tel: (0311)85110165 E-mail: gwez6997@163.com

液, 其质量浓度分别为 475 $\mu\text{g/mL}$ 和 380 $\mu\text{g/mL}$ 。精密吸取对照品储备液 2 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 摇匀, 得异土木香内酯和土木香内酯质量浓度分别为 95 $\mu\text{g/mL}$ 和 76 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 祁木香药材于 40 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 40 min, 粉碎后取约 0.2 g, 精密称定, 加 85%乙醇 50 mL, 回流提取 1 h, 滤过, 残渣加 85%乙醇 30 mL, 继续回流 1 h, 合并滤液, 减压浓缩至约 40 mL, 定量转移至 50 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取滤液 25 mL, 浓缩至近干,

残渣加甲醇溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 续滤液作为供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图 (图 1), 可见异土木香内酯和土木香内酯的保留时间分别为 19.726 和 20.999 min, 在此条件下异土木香内酯与土木香内酯达到基线分离, 且与其他组分峰分离良好, 异土木香内酯和土木香内酯的理论板数分别为 11 481 和 11 434。

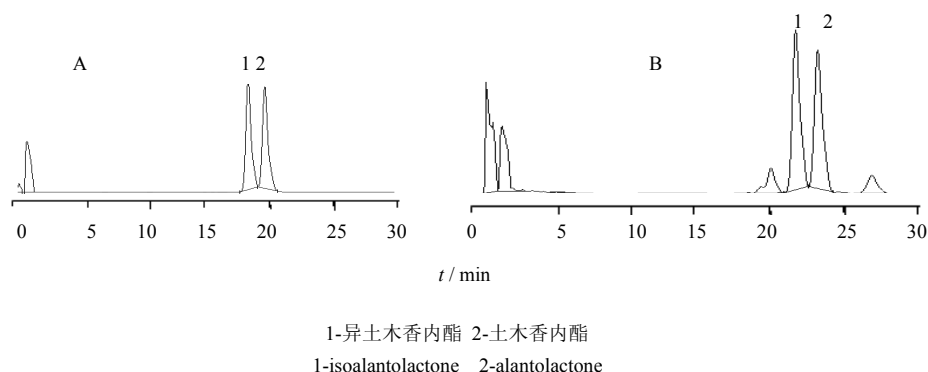


图 1 混合对照品 (A) 和祁木香样品 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and *Inulae Radix* (B)

2.4 线性关系考察

精密吸取对照品储备液 5 mL, 采用倍比稀释法制得系列混合对照品溶液, 分别进样 20 μL , 测定其峰面积, 以进样质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得异土木香内酯和土木香内酯的标准曲线方程分别为: 异土木香内酯 $Y=82\,464 X-10^6$, $r=0.999\,2$, 在 0.475~4.75 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好; 土木香内酯 $Y=110\,438 X-859\,049$, $r=0.999\,3$, 在 0.38~3.8 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验

取对照品溶液, 按“2.1”项条件测定, 连续进样 6 次, 异土木香内酯峰面积的 RSD 为 0.93%, 土木香内酯峰面积的 RSD 为 0.86%, 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液, 分别于 0、3、6、10、16 h 进样测定, 结果异土木香内酯峰面积的 RSD 为 0.83%, 土木香内酯峰面积的 RSD 为 0.91%, 表明供试品溶液在所考察的 16 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一药材, 按“2.2.2”项方法制备 6 份供试品溶液, 依法测定, 供试品溶液中异土木香内酯质

量分数的 RSD 为 0.95%, 土木香内酯质量分数的 RSD 为 0.88%, 表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测定的祁木香药材 6 份, 每份 0.1 g 分别加入异土木香内酯和土木香内酯对照品适量, 按“2.2.2”项方法制备供试品溶液, 依法测定。异土木香内酯的平均回收率为 98.3%, RSD 为 1.30%; 土木香内酯的平均回收率为 98.0%, RSD 为 2.05%。

2.9 样品测定

将不同来源祁木香药材按“2.2.2”项方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得各样品中土木香内酯和异土木香内酯的量, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 流动相的选择

实验中对流动相的组成和比例进行了研究, 分别考察了不同比例的甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸水溶液等流动相系统, 结果表明以乙腈-0.05%磷酸水溶液 (60:40) 作为流动相时异土木香内酯和土木香内酯达到基线分离, 峰形较好, 且保留时间适中, 分离度较好。

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination of isoalantolactone and alantolactone

药材来源	异土木香内酯/%	土木香内酯/%
河北安国大营村 (采集)	2.50	1.63
河北安国霍庄村 (采集)	2.31	1.61
河北安国马古村 (采集)	2.26	1.50
河北安国药材市场 (购买)	2.32	1.56
河北安国药材市场 (购买)	2.28	1.54

3.2 检测波长的确定

分别取异土木香内酯和土木香内酯对照品溶液, 在 190~400 nm 扫描, 均在 193~195 nm 有最大吸收, 检测波长定为 194 nm。

3.3 提取方法

通过对不同提取方法 (超声、加热回流)、不同溶剂 (甲醇、氯仿、醋酸乙酯、乙醇)、不同提取时间的考察来选择最佳提取方法。经比较采用 85 %乙醇进行加热回流的方法能完全提取药材中的异土木香内酯和土木香内酯, 且价廉、无污染, 因此确定 85%乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h 为最佳提取条件。

4 结论

本实验中仅对 5 个不同来源的祁木香药材进行了测定, 结果表明所收集药材中异土木香内酯和土木香内酯的量较为稳定, 无明显差异, 且异土木香

内酯的量均高于土木香内酯的量。

本实验建立的祁木香中异土木香内酯和土木香内酯的定量测定方法简便、快速, 可用于祁木香药材的质量控制, 并为其质量标准的制定提供了依据。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 李雪莲, 朴惠善. 土木香的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2007, 9(6): 28-29.

[3] 李 勇, 丛 斌, 董 玫, 等. 土木香中倍半萜内酯抗肿瘤活性及构效关系研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1336-1338.

[4] 夏 晶, 季 申. 气相色谱法测定土木香中的同分异构体 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(24): 1895-1896.

[5] 热增才旦, 王英锋, 郭雪清, 等. 气相色谱法测定藏木香药材中土木香内酯的含量 [J]. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2008, 29(5): 34-36.

[6] 陈晓红. GC 法测定不同产地藏木香药材中异土木香内酯含量 [J]. 青海医学院学报, 2009, 30(1): 51-53.

[7] 童 丽, 热增才旦, 李文渊. 不同产地玛努巴扎中土木香内酯含量比较 [J]. 中药材, 2009, 32(1): 22-23.

[8] 董 琦, 马世震, 胡凤祖. HPLC 法测定不同采收期栽培藏木香中内酯类成分 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1186-1187.

[9] 张曼丽, 霍长虹, 刘 丽, 等. 土木香药材 HPLC 指纹图谱研究及土木香内酯和异土木香内酯测定 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1539-1542.