

不同产地催吐萝芙木中利血平含量的 高效液相色谱分析^①

朱伟伟^② 王 齐^a 邓晰朝 苏 丹^b

(河池学院化学与生命科学系 广西宜州市龙江路 42 号 546300)

^a(昆明理工大学分析测试研究中心 昆明市学府路 253 号 650093)

^b(滇虹制药有限公司 昆明市科医路 45 号 650000)

摘 要 利用高效液相色谱法测定了广西、云南两地不同产区的催吐萝芙木根茎样本中利血平含量, 并与该产区的气候特点进行了对照分析, 比较了不同产区催吐萝芙木药用价值, 分析了光照对催吐萝芙木药用价值的影响。

关键词 高效液相色谱; 催吐萝芙; 利血平; 光照

中图分类号: O657. 7⁺ 2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0708-03

1 引言

萝芙木(*Rawolfia*)为夹竹桃科萝芙木属植物, 大部分分布于热带和亚热带, 在我国主要分布于广西、广东、云南、海南等地^[1-3]。迄今为止, 从萝芙木中分离并确定了结构的生物碱有 91 种, 除了替巴因(Thebaine)和罂粟碱(Papaverine)为非吲哚类生物碱之外, 其余 89 种均为吲哚类生物碱, 其中含量较高并具有经济开发价值的主要有利血平(Reserpine)、育亨宾(Yohimbine)、蛇根碱(Serpentine)等^[4,5]。近年来, 随着萝芙木药用价值逐步被开发, 野生萝芙木资源日益减少, 而野生萝芙木的产量已经远不能满足市场的需求。为了保护萝芙木种群和用药需求, 我国广西、云南、海南等地陆续进行萝芙木的人工栽培与仿野生人工种植。但是人工种植萝芙木的品质, 尤其是药用部分中生物碱的含量受种植地域土壤环境、气候、栽种技术等因素的影响, 使得各地人工种植萝芙木的药用价值各异。本实验利用高效液相色谱法, 通过对云南和广西两地各不同产区广泛种植的催吐萝芙木样品中利血平含量的测定, 分析了光照对催吐萝芙木药用价值的影响, 此结果有利于指导萝芙木的产业化推广。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Waters 600 型高效液相色谱仪, Waters 2487 型紫外检测器, Waters 717 型自动进样器(美国 Waters 公司); SB3200 型超声波清洗器(上海必能信超声有限公司); AE240S 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

四氢呋喃(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、磷酸(分析纯)、利血平对照品(中国药品生物制品检定

① 广西教育厅面上项目(200707MS113)

② 联系人, 电话: (0778) 3141892; E-mail: zhuww1230@yahoo.com.cn

作者简介: 朱伟伟(1981—), 女, 河南省沁阳市人, 讲师, 主要从事分析化学研究工作。

收稿日期: 2010-06-14; 接受日期: 2010-08-04

所)。实验用水为二次蒸馏水。

2.2 实验方法

2.2.1 样品的采集

萝芙木在我国主要有云南萝芙木、催吐萝芙木和印度萝芙木 3 个大的人工种植品种。但印度萝芙木与云南萝芙木生物产量低,故本实验采集生物产量高并在广西和云南两地广泛种植的催吐萝芙木作为实验样本,采集时间均为 10 月份,经河池学院邓晰朝教授鉴定均为三年生萝芙木。

2.2.2 样品溶液的制备

将萝芙木根茎洗净泥沙并低温烘干,打磨成粉状,称取约 2.0g,置于具塞三角烧瓶中,加甲醇 30mL,超声提取 60min,过滤,滤渣用甲醇超声提取并洗涤 2 次,合并滤液,转移至 50mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,即得。

2.2.3 色谱条件^[6]

色谱柱:Kromasil ODS C18 柱(200mm $\times$ 4.6mm,粒径 5 μ m),四氢呋喃:甲醇:0.3%磷酸=20:10:70,流速:1.0mL $\cdot$ min⁻¹,紫外检测器检测波长为 268nm,柱温 25 $^{\circ}$ C。利血平对照品(图 1)及萝芙木样品(图 2)中利血平峰保留时间为 13.8min,具有较好的分离效果,理论塔板数不低于 5000。

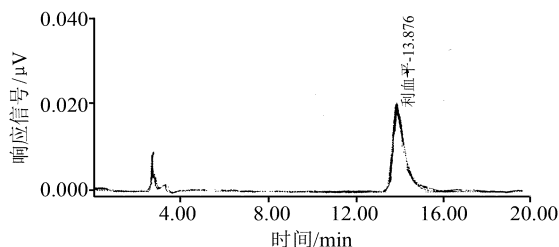


图 1 利血平对照品色谱图

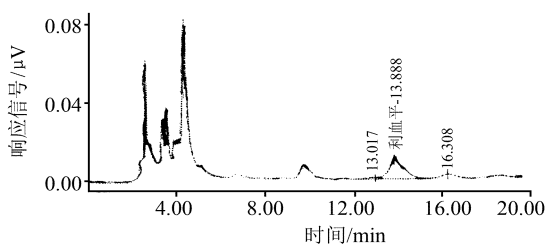


图 2 萝芙木样品色谱图

2.2.4 对照品溶液的制备及校准曲线的建立

准确称取减压干燥至恒重的利血平对照品 10.0mg,用甲醇溶解后定容于 50mL 容量瓶中,配制成浓度为 200.0 μ g/mL 的利血平标准储备溶液,临用时稀释为 4.0、10.0、20.0、40.0 μ g/mL 的标准系列工作液。按上述色谱条件测定峰面积,以对照品的浓度(μ g/mL)为横坐标,以峰面积(μ V $\cdot$ s)为纵坐标,线性回归方程为: $y = 1.91 \times 10^4 x - 2.93 \times 10^2$ ($r^2 = 0.9999$)。

2.2.5 方法学考察

精密度实验:对 20.0 μ g/mL 利血平对照品标准溶液重复进样 5 次,进样量 10 μ L,以峰面积积分值计算,标准品峰面积 RSD 为 0.21%,表明仪器精密度良好。

稳定性实验:对 20.0 μ g/mL 利血平对照品标准溶液分别于 0, 2, 4, 8, 24, 48h 测定,利血平峰保留时间的 RSD= 0.94% ($n = 6$),峰面积的 RSD= 1.07%,说明利血平对照品溶液至少在 48h 内是稳定的,可用于含量测定。

重现性实验:准确称取同一份萝芙木粉末各 2.0g 总共 5 份,按照萝芙木药材样品溶液制备方法制得样液,并测定利血平的含量,利血平含量 RSD= 1.74% ($n = 5$),符合含量测定要求。

加样回收实验:准确称取已测定含量 (0.70mg/g) 的萝芙木药材 2.0g,每组 3 份,共 3 组。分别加入相当于样品含量 50%, 100%, 150% 的利血平,并测定利血平的含量。利血平回收率在

96.8%—103.7% 之间, 平均回收率为 98.4%, RSD= 1.79% ($n= 9$), 符合含量测定要求。

3 结果与讨论

表 1 不同产区罗芙木根中利血平的含量

产地	样本	含量 (mg/g)	均值 (mg/g)	产地	样本	含量 (mg/g)	均值 (mg/g)
广西乐业	A1	0.60	0.61	云南思茅	E1	0.60	0.65
	A2	0.56			E2	0.63	
	A3	0.67			E3	0.71	
广西东兰	B1	0.50	0.57	云南西双版纳	F1	0.73	0.71
	B2	0.57			F2	0.71	
	B3	0.65			F3	0.69	
广西靖西	C1	0.56	0.56	云南德宏	G1	0.80	0.75
	C2	0.54			G2	0.78	
	C3	0.59			G3	0.67	
广西那坡	D1	0.65	0.67				
	D2	0.65					
	D3	0.70					

7 个样品采集点 21 个样本中利血平含量的测定表明, 催吐罗芙木根部中利血平含量范围为 0.50—0.80mg/g, 并且各个产地样品中利血平含量变化有地区性分布变化规律(见表 1), 我们将各个产区样本利血平含量的平均值与该产区的气候环境进行比较, 发现样本利血平含量差异与该产区的年均日照时间变化有相关性(见图 3), 该地区年平均日照时间越长, 罗芙木的利血平药用价值越高。催吐罗芙木是一种喜阳植物, 增加适度光照有利于植物生物产量与利血平含量的提高^[7]。因此在罗芙木的产业化推广中, 应该选择日照充足, 年均日照时间长的地区。

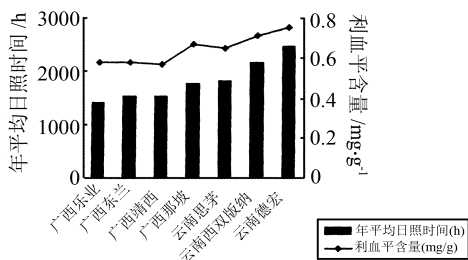


图 3 不同产区罗芙木中利血平含量与日照时间关系图

参考文献

- [1] 李智敏, 张慧颖, 尹华琳等. 利血平(Reserpine)药物资源研究与开发现状[J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(2): 65—67.
- [2] 覃文流. 罗芙木人工栽培及化学成分研究概况[J]. 广西热带农业, 2008, 117(4): 20—21.
- [3] 戴斌丘, 翠嫦. 广西产六种罗芙木的资源调查及鉴定[J]. 中国民族民间医药杂志, 2003, 61(2): 114—116.
- [4] 刘洋洋, 汪春牛, 许琼情等. 罗芙木属植物吲哚生物碱成分研究进展[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2009, 22(4): 425—435.
- [5] 李琳, 何红平, 周华等. 催吐罗芙木中生物碱的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 235—239.
- [6] 张慧颖, 龚云麒, 蔡传涛等. 高效液相色谱法测定罗芙木中利血平的含量[J]. 云南中医学院学报, 2007, 30(2): 7—9.
- [7] Cai Z Q, Wang W H, Yang J et al. Growth, Photosynthesis and Root Reserpine Concentrations of Two Rauvolfia Species in Response to a Light Gradient[J]. Industrial Crops and Products, 2009, 30(2): 220—226.

Determination of Reserpine in the *R. vomitoria* Roots from Different Producing Areas by HPLC

ZHU Wei-Wei WANG Qi^a DENG Xi-Chao SU Dan^b

(Department of Chemistry and Life Science, Hechi University, Yizhou, Guangxi 546300, P. R. China)

^aResearch Center for Analysis and Measurement, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, P. R. China)

^b(Kunming Dianhong Pharmaceutical Co. Ltd, Kunming 650000, P. R. China)

Abstract The content of reserpine was determined in the *R. vomitoria* roots in Guangxi province and Yunnan province by HPLC. The results of the comparison of pharmaceutical value for reserpine and the climatic datas of each samples show that illumination is a great affection to the pharmaceutical value of *R. vomitoria*.

Key words HPLC; *R. vomitoria*; Reserpine; Illumination