

HPLC 测定苏木中的巴西苏木素和原苏木素 B

赵焕新,白虹*,王元书,栾杨,刘拥军

(山东省医学科学院药物研究所 山东省现代医用药物与技术重点实验室,山东 济南 250062)

摘要:目的 建立 HPLC 测定苏木中巴西苏木素和原苏木素 B 含量的方法。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax XDB C₁₈ (150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-0.1%醋酸(20:80),流速为 1.0 mL·min⁻¹,检测波长为 280 nm。结果 巴西苏木素和原苏木素 B 的线性范围均为 0.025~0.50 mg·mL⁻¹,*r* 均为 0.9994;平均回收率分别为 95.44%(*RSD*=2.57%)和 94.69%(*RSD*=1.38%)。结论 新建方法简单、快速、准确,适用于苏木中巴西苏木素和原苏木素 B 的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法;苏木;巴西苏木素;原苏木素 B;含量测定

中图分类号:R917

文献标志码:A

文章编号:1006-0103(2010)03-0363-02

Determination of brazilin and protosappanin B in *Caesalpinia sappan* L. by HPLC

ZHAO Huan-xin, BAI Hong*, WANG Yuan-shu, LUAN Yang, LIU Yong-jun

(Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Key Laboratory for Modern Medicine and Technology of Shandong Province, Jinan, Shandong, 250062 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To develop an HPLC method to determine brazilin and protosappanin B in *Caesalpinia sappan* L. **METHODS** The Agilent Zorbax XDB C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column were used with methanol-water (0.1% acetic acid) (20:80) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 280 nm. **RESULTS** The peak areas and concentrations of brazilin and protosappanin B showed good correlation in the range of 0.025–0.50 mg·mL⁻¹ (*r*=0.9994). The average recoveries were 95.44% for brazilin with *RSD* of 2.57%, and 94.69% for protosappanin B with *RSD* of 1.38%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, suitable and accurate for the determination of brazilin and protosappanin B in *Caesalpinia sappan* L.

Key words: HPLC; *Caesalpinia sappan* L.; Brazilin; Protosappanin B; Determination

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2010)03-0363-02

苏木 *Caesalpinia sappan* L. 为豆科云实属植物,又名苏方木、苏枋、赤木、棕木、红柴等,其干燥心材为中国传统中药,具有活血化淤、消肿止痛、抗菌消炎、利胆消石等功效^[1]。日本学者对苏木的化学成分研究较多,发现酚类化合物是其药效成分,包括高异黄酮类及其衍生物、巴西苏木素类、原苏木素类和查耳酮类^[2]。作者对苏木干燥心材进行了化学成分的研究,从中分离得到 16 个化合物^[3],其中巴西苏木素和原苏木素 B 含量较高,分别具有抗炎和抗氧化活性^[4-5]。文中建立了苏木中巴西苏木素和原苏木素 B 的 HPLC 含量测定法,所建方法操作简便、结果可靠、重复性好,可为苏木的质量标准研究提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

2690 高效液相色谱系统(美国 Waters)。苏木

(市售,原产地为云南)经鉴定;巴西苏木素和原苏木素 B 对照品(自制通过 MS、NMR、HPLC 分析,纯度均大于 99%^[6]);甲醇、醋酸为色谱纯;水为娃哈哈纯净水;其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱采用 Agilent Zorbax XDB C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-0.1%醋酸(20:80),采用 DAD 检测器,检测波长为 280 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,柱温为室温。巴西苏木素和原苏木素 B 的保留时间分别为 7.44、10.43 min,色谱图见图 1。

1.2.2 溶液的制备 取 0.5 g 苏木药材粗粉,精密称定,置圆底烧瓶中,加 30 mL 甲醇,加热回流提取 30 min,放冷,过滤,浓缩,定量转移并定容于 25 mL 量瓶中,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液。分别取 10 mg 巴西苏木素和原苏木素 B,精密称定,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解,定容,摇匀,作为对照品

基金项目:山东省中青年科学家奖励基金(2008BS02013)

作者简介:赵焕新(1983—),女,研究实习员,从事天然药物的研究与开发。Email:jdnl@163.com

* 通信作者(Correspondent author),Email:baihong@gmail.com

贮备液;分别吸取适量贮备液加甲醇配制成 0.025、0.05、0.10、0.20、0.40、0.50 mg·mL⁻¹ 巴西苏木素和原苏木素 B 的混合对照品系列溶液。

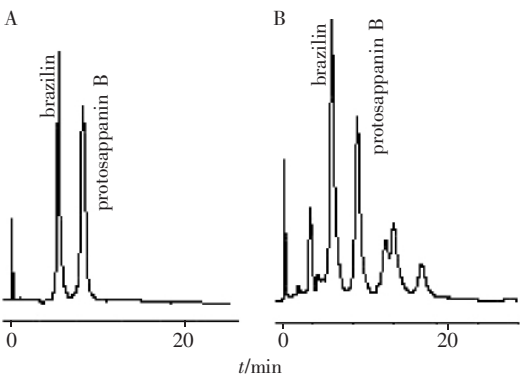


图 1 巴西苏木素和原苏木素 B 对照品 (A) 和供试品 (B) 溶液的 HPLC 图

Fig 1 Chromatograms of control solution (A) and sample solution (B)

1.2.3 线性关系的考察 分取 10 μL “1.2.2”项各浓度的混合对照品溶液进样,分析并记录色谱峰面积。以对照品浓度为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归。巴西苏木素和原苏木素 B 的线性方程分别为: $Y_{\text{巴西苏木素}} = 1.04 \times 10^7 X - 9.22 \times 10^4$ ($r = 0.9994$), $Y_{\text{原苏木素 B}} = 1.07 \times 10^7 X - 1.10 \times 10^5$ ($r = 0.9994$), 线性范围均为 0.025 ~ 0.50 mg·mL⁻¹。

1.2.4 精密度试验 取 10 μL 0.20 mg·mL⁻¹ 巴西苏木素和原苏木素 B 混合对照品溶液,重复进样 6 次。以峰面积计算 RSD,巴西苏木素和原苏木素 B 的 RSD 分别为 0.74%、0.88%,表明精密度良好。

1.2.5 稳定性实验 取 0.5 g 苏木药材,精密称定,按“1.2.2”项的方法制备供试品溶液,分别于 0、2、4、8、16、24 h 时取 10 μL 进样。以峰面积计算 RSD,巴西苏木素和原苏木素 B 的 RSD 分别为 0.93%、1.33%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.2.6 重复性实验 取 0.5 g 同一批苏木药材,精密称定,按“1.2.2”项的方法制备 6 份供试品溶液,进样 10 μL。以标准曲线计算含量,巴西苏木素与原苏木素 B 含量的 RSD 分别为 1.19%、2.22%,表明方法的重复性好。

1.2.7 回收率试验 精密称取 0.2 g 已知含量的苏木药材 5 份,分别加入一定量的对照品溶液,按照“1.2.2”项的方法制备供试品溶液,进样,测定。计算得巴西苏木素的平均回收率为 95.44%,RSD = 2.57%,原苏木素 B 的平均回收率为 94.69%,RSD = 1.38% (表 1),表明样品处理方法可靠。

1.2.8 样品的测定 按“1.2.1”项下的色谱条件,和“1.2.2”项的方法制备供试品溶液。分别取 10

表 1 巴西苏木素与原苏木素 B 的回收率实验结果 (mg)
Table 1 The recoveries of brazilin and protosappanin B (mg)

Components	Original	Added	Detected	Recovery / %	$\bar{X}$ / %	RSD / %
Brazilin	2.223	0.990	3.141	92.78	95.44	2.57
	2.225	0.990	3.164	94.88		
	2.261	0.990	3.232	98.12		
	2.265	0.990	3.234	97.88		
	2.227	0.990	3.153	93.55		
	2.227	0.990	3.153	93.55		
Protosappanin B	1.891	0.970	2.811	94.89	94.69	1.38
	1.915	0.970	2.822	93.46		
	1.917	0.970	2.841	95.23		
	1.864	0.970	2.800	96.50		
	1.908	0.970	2.814	93.39		
	1.908	0.970	2.814	93.39		

μL 的 0.20 mg·mL⁻¹ 巴西苏木素和原苏木素 B 混合对照品溶液及供试品溶液进样,按外标一点法计算含量。巴西苏木素的含量为 1.09%,RSD = 1.27% ($n = 6$);原苏木素 B 的含量为 0.93%,RSD = 2.06% ($n = 6$)。

2 讨论

曾比较加热回流法与超声提取法,巴西苏木素和原苏木素 B 的含量约提高 1.5 倍,故采用了加热回流法进行样品制备。采用 DAD 检测器进行全波长扫描对照品溶液,巴西苏木素在 280 nm 有最大吸收,原苏木素 B 在 254、280 nm 均有较强吸收,因此,选择 280 nm 作为检测波长。文献^[6]采用 HPLC 法对苏木中的巴西苏木红素进行了分析,得出其含量为 0.205% ~ 0.328%。与其相比,文中实验同时测定了苏木中的两个组分,且含量均较高,分别为 1.09% 和 0.93%。文中所用方法处理样品简便、精密度高、重复性好、干扰较小,可为苏木的质量控制提供实验依据。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1983:1083.
[2] 赵焕新,王元书,刘爱芹,等. 苏木研究进展 [J]. 齐鲁药事, 2007,26(2):102-105.
[3] 赵焕新. 苏木降糖活性成分研究 [D]. 济南:山东省医学科学院药物研究所,2008.
[4] Shen J,Zhang H,Lin H Y,*et al.* Brazilein protects the brain against focal cerebral ischemia reperfusion injury correlating to inflammatory response suppression [J]. Eur J Pharmacol,2007,558(1):88-95.
[5] Hu J,Yan XL,Wang W,*et al.* Antioxidant activity in vitro of three constituents from *Caesalpinia sappan* L. [J]. Tsinghua Sci Technol,2008,13(4):474-479.
[6] 王志行,丁怡,杜力军,等. 苏木药材质量标准研究 [J]. 中南药学,2008,6(4):403-405.