

HPLC 测定灯心草中去氢厄弗酚含量

段琼,王杨,林婷婷,孙道涵,简伟杰,黄建梅*

(北京中医药大学中药学院,北京 100102)

[摘要] 目的:建立灯心草中去氢厄弗酚含量的测定方法。方法:采用高效液相色谱法,Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(65:35),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 270 nm,柱温 23 °C。结果:去氢厄弗酚线性范围为 0.017 4~0.870 4 μg,与峰面积线性关系良好。平均加样回收率为 98.3%,RSD 0.61%。结论:所建立的方法分离效果好、操作简便、准确、灵敏度高、重复性好,可用于灯心草中去氢厄弗酚的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法;灯心草;去氢厄弗酚;菲类;含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0092-03

Determination of Dehydroeffusol in *Juncus effusus* by HPLC

DUAN Qiong, WANG Yang, LIN Ting-ting, SUN Dao-han, JIAN Wei-jie, HUANG Jian-mei*

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method of determined the content of dehydroeffusol in *Juncus effusus*. **Method:** The content of dehydroeffusol was determined by HPLC. The separation employed Agilent HC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) in 23 °C, using methanol-water (65:35) as mobile phase at flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and UV detection at 270 nm. **Result:** The method of validation parameters indicate a linear range of between 0.017 4-0.870 4 μg. The recovery was 98.3% (RSD 0.61%). **Conclusion:** The method is simple, accurate and sensitive. It is adoptable for quantitative analysis of dehydroeffusol in *J. effusus*.

[Key words] HPLC; *Juncus effusus* L.; dehydroeffusol; phenanthrene; determination

灯心草为灯心草科灯心草属植物灯心草 *Juncus effusus* L. 的干燥茎髓,具有清心火、利小便之功效,用于心烦失眠、尿少涩痛、口舌生疮^[1]。其主要含有 9,10-二氢菲类、菲类、萘类、三萜类、甘油酯类等成分^[2-4],本课题组通过小鼠高架十字迷宫模型及洞板实验模型,证实灯心草中菲类成分去氢厄弗酚(dehydroeffusol)具有镇静、抗焦虑作用,为灯心草清心除烦作用的物质基础之一^[12]。通过前期对灯心

草化学成分及指纹图谱研究发现,去氢厄弗酚在灯心草药材中含量较高^[13]。本试验利用高效液相色谱法,建立了灯心草中去氢厄弗酚的含量测定方法,并对不同批次的灯心草药材中去氢厄弗酚含量进行测定,为灯心草药材的质量控制及开发利用提供了依据。

1 仪器与试剂

SARTORIUS AG BS110S 型电子天平(德国赛多利斯公司),METTLER AE-240 型电子天平(德国梅特勒-托利多公司),TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),BL-100 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市五金有限公司),岛津 LC20A 型高效液相色谱仪(LC-20AT 高效泵,SPD-20A 检测器,LC solution 工作站,日本岛津公司),Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),去氢厄弗酚对照品(实验室自制,含量

[收稿日期] 20110721(009)

[基金项目] 新世纪优秀人才支持计划

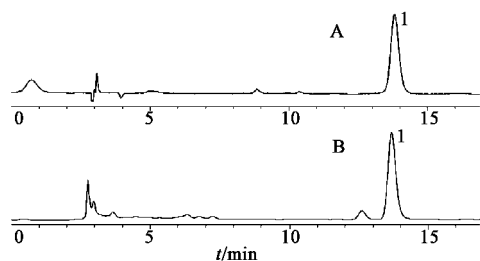
[第一作者] 段琼,从事中药化学成分结构及生物活性分析和体内药物分析,Tel: 010-84738619, E-mail: huangjm@mail.bucm.edu.cn

[通讯作者] * 黄建梅,教授,硕士生导师,从事中药化学成分结构及生物活性分析和体内药物分析,Tel: 010-84738619, E-mail: huangjm@mail.bucm.edu.cn

97.20%) , 甲醇为色谱纯 , 水为去离子水 , 从各地药材市场购买灯心草药材共 11 批 , 经北京中医药大学中药学院生药系杨瑶璐副教授鉴定均为灯心草 *J. effusus* 的干燥茎髓。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent HC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm 5 μm) , 流动相甲醇-水 (65:35) , 流速 1.0 mL·min⁻¹ , 检测波长 270 nm , 柱温 23 °C , 进样量 10 μL。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 去氢厄弗酚

图 1 去氢厄弗酚 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取去氢厄弗酚对照品 21.76 mg , 加甲醇适量使溶解 , 置 250 mL 量瓶中甲醇定容 , 得 87.04 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取供试品粉碎后过 60 目筛 , 混匀 , 称取粉末 0.3 g , 精密称定 , 置 100 mL 具塞锥形瓶中 , 精密加入甲醇 25 mL , 密塞 , 称定质量 , 超声处理 (功率 240 W , 频率 40 kHz) 30 min , 放冷 , 称定质量 , 甲醇补足减失的质量 , 摇匀 , 滤过 , 取续滤液 , 即得。

2.4 线性关系考察 精密量取去氢厄弗酚对照品溶液 0.2 , 0.5 , 1 , 3 , 5 , 8 mL 分别置于 10 mL 量瓶 , 定容稀释至刻度线 , 得 1.74 , 4.35 , 8.70 , 26.11 , 43.52 , 69.63 , 87.04 mg·L⁻¹ 的 7 份去氢厄弗酚溶液。按照拟定的色谱条件测定 , 以峰面积积分值为纵坐标 , 去氢厄弗酚对照品量为横坐标绘制标准曲线 , 计算得回归方程 $Y = 9.075 \times 10^6 X + 19003$ ($r = 0.9997$) , 去氢厄弗酚的线性范围是 0.0174 ~ 0.8704 μg。

2.5 精密度试验 取去氢厄弗酚溶液 (26.11 mg·L⁻¹) , 依上述方法 , 连续进样 5 次 , 测定峰面积 , RSD 1.076% , 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一对照品及供试品 (购自贵州贵阳) 溶液 , 按照所确定的测定方法分别于 0 , 3 , 6 , 9 , 12 , 18 , 24 h 按照上述方法进行测定 , 记录去氢厄弗酚峰面积积分值 , 测得对照品 RSD 2.357% ,

供试品 RSD 1.089% , 表明对照品及供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品 (购自贵州贵阳) 粉末 0.24 , 0.30 , 0.36 g 各 3 份 , 精密称定 , 按 2.3 项下的方法操作 , 制成供试品溶液 , 按上述检测方法测定 , 供试品的平均含量为 2.40 mg·g⁻¹ , RSD 1.27%。

2.8 加样回收率试验 取供试品 (购自贵州贵阳) 精密称定 9 份 , 每份 0.15 g , 每 3 份为 1 组 , 分别加入高、中、低质量浓度的去氢厄弗酚对照品溶液 , 按 2.3 项下的方法制备 , 制成供试品溶液 , 按上述检测方法测定 , 根据测得量和加入量计算回收率。结果去氢厄弗酚的平均回收率 98.3% (RSD 0.61%)。

表 1 去氢厄弗酚加样回收试验

称样量 /g	供试品中含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.560 0	98.1
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.561 1	98.6
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.559 9	98.1
0.150 5	0.361 2	0.336 5	0.688 1	97.1
0.150 9	0.362 2	0.336 5	0.691 6	97.9
0.148 9	0.357 4	0.336 5	0.690 4	99.0
0.149 9	0.359 8	0.474 0	0.825 3	98.2
0.150 4	0.361 0	0.474 0	0.829 7	98.9
0.150 9	0.362 2	0.474 0	0.830 6	98.8

2.9 供试品含量测定 取购自不同购买地的灯心草样品按前述 2.3 项下的方法操作 , 制成供试品溶液 , 按上述检测方法测定 , 计算供试品的含量 (表 2)。

表 2 灯心草供试品去氢厄弗酚含量测定 ($n=2$) mg·g⁻¹

No.	购买地	产地	去氢厄弗酚
1	江西	江西	2.12
2	安徽亳州	四川	2.10
3	广东广州	广东	2.60
4	黑龙江齐齐哈尔	河南	5.47
5	湖南张家界	湖北	0.54
6	河北安国	江西	1.32
7	贵州贵阳	四川	2.44
8	陕西西安	安徽	0.75
9	云南	未知	3.49
10	福建古田	福建	2.01
11	四川成都	四川	0.69

3 讨论

去氢厄弗酚为 9,10-二氢菲类 , 具有联苯骨架结

构。通过 UV-vis 全波长扫描对去氢厄弗酚标准品进行测定,最大吸收波长为 270 nm 左右,故选择 270 nm 作为检测波长。

考察了甲醇-水(80:20),(70:30),(66:34),(65:35),(64:36)5 种溶剂系统,当流动相为甲醇-水(65:35)时,去氢厄弗酚与其他物质色谱峰分离度为 2.0,保留时间 13.8 min,理论塔板数大于 3 000,具有较好分离度及较短的保留时间,故选择甲醇-水(65:35)作为最终的流动相。

市售灯心草中去氢厄弗酚的含量变动范围比较大,从 0.54 mg·g⁻¹到 5.47 mg·g⁻¹。尽管含量不一,但主要集中在 2 个范围内,分别为(2.25 ± 0.25) mg·g⁻¹和(0.66 ± 0.11) mg·g⁻¹。灯心草中去氢厄弗酚的含量差异可能与灯心草生长环境、采收时间及存放方法及时间有关,其影响因素有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:137.
- [2] M Della Greca ,A Fiorentino ,L Mangoni ,et al. 9,10-Dihydrophenanthrene metabolites from *Juncus effusus* L. [J]. Tetrahedron Lett ,1992 ,33(36):5257.
- [3] Corsaro M M , Della Greca M , Fiorentino A , et al. Cycloartane glucosides from *Juncus effusus* [J]. Phytochem ,1994 ,37(2):515.
- [4] M Della Greca ,A Fiorentino ,P Monaco ,et al. Effusides I -V: 9,10-Dihydrophenanthrene glucosides from *Juncus effusus* L.[J]. Phytochem ,1995 ,40(2):533.
- [5] Katsuhito S , Masao T , Yoshinori A. Phenanthrene Derivatives from the Medullae of *Juncus Effusus* L [J]. Phytochem ,1991 ,30(9):3149.
- [6] M Della Greca , A Fiorentino. Tetrahydropyrene Glucosides from *Juncus Effusus* [J]. Nat Prod Lett ,1995 ,7(2):85.
- [7] M Della Greca , A Fiorentino , P Monaco , et al. Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus* [J]. Phytochem ,1994 ,35(4):1017.
- [8] M Della Greca ,A Fiorentino ,P Monaco ,et al. Juncoside I. A new cycloartanelactone glucoside from *Juncus effusus* [J]. Nat Prod Lett ,1994 ,4(3):183.
- [9] Michela Corsaro ,M Della Greca ,A Fiorentino ,et al. Cycloartane glucosides from *Juncus effusus* [J]. Phytochem ,1994 ,37(2):515.
- [10] Li H X , Deng T Z , Chen Y , et al. Isolation and identification of phenolic constituents from *Juncus effusus* [J]. Acta Pharmacol Sin ,2007 ,42(2):174.
- [11] Shan C Y , Ye Y H , Jiang H F , et al. Study on chemical constituents isolated from *Juncus effusus* [J]. J Chin Med Mater ,2008 ,31(3):374.
- [12] Liao J , Zhai HF , Zhang B , et al. Anxiolytic and sedative effects of dehydroeffusol from *Juncus effusus* in Mice [J]. Planta Med ,2010 ,77(5):416.
- [13] 简伟杰 ,段琼 ,段天璇 ,等. 灯心草药材 RP-HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志 ,2011 ,17(10):60.

[责任编辑 蔡仲德]