

HPLC 法测定广玉兰中小白菊内酯

丁林芬¹,郭亚东¹,吴兴德²,秦智彬¹,张菊³,马银海^{4*}

(1. 昆明医科大学药学院 暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500;
2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204,
3. 云南中医学院 药学院, 云南 昆明 650500;4. 昆明学院 化学科学与技术系, 云南 昆明 650214)

摘要:建立高效液相色谱法测定广玉兰中小白菊内酯含量的方法. 采用 ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇(A) — 水(B) 为流动相, 梯度洗脱(0~10 min, 10% →48% A; 10~20 min, 48% →80% A), 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 210 nm. 结果表明, 小白菊内酯的线性范围为 0.188~2.820 μg (r=0.9999), 平均回收率(n=9) 为 99.3%. 证实该方法简便、准确、重复性好, 可用于广玉兰中小白菊内酯的含量测定.

关键词:高效液相色谱法; 广玉兰; 小白菊内酯; 含量测定

中图分类号:O657.7 文献标识码:A 文章编号:1674-5639(2012)06-0079-02

Determination of Parthenolide in *Magnolia Grandiflora* L. by the Method of HPLC

DING Lin-fen¹, GUO Ya-dong¹, WU Xing-de², QIN Zhi-bin¹, ZHANG Ju³, MA Yin-hai^{4*}

(1. College of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Yunnan Kunming 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Yunnan Kunming 650204, China; 3. College of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Yunnan Kunming 650500, China; 4. Department of Chemistry Science and Technology, Kunming University, Yunnan Kunming 650214, China)

Abstract: To develop a HPLC method for determination of Parthenolide in *Magnolia Grandiflora* L., a ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column was adopted. The mobile phase consists of methanol (A) — water (B) for gradient elution (0—10 min, 10% →48% A; 10—20 min, 48% →80% A), which was pumped at 1.0 mL/min. The detection wavelength was at 210 nm, and the column temperature was maintained at 30 ℃. The results suggested that the linear ranges was 0.188—2.820 μg (r=0.9999) and the average recovery (n=9) was 99.3%. The method is simple, rapid, reliable, and can be used for the determination of *Magnolia Grandiflora* L..

Key words: HPLC; *Magnolia Grandiflora* L.; parthenolide; content determination

广玉兰 (*Magnolia Grandiflora* L.) 为木兰科木兰属植物^[1], 又称荷花玉兰, 原产于北美, 现在我国各地均有栽培. 其叶为入药部位, 主治高血压^[2]. 关于广玉兰叶中化学成分研究的报道较多, 但主要是挥发油、萜类、生物碱、木脂素、黄酮类等^[3-5]. 且常采用紫外分光光度法测定其黄酮类的含量^[6], 拟建立反相高效液相色谱法测定广玉兰中小白菊内酯含量(质量分数, 下同)的方法, 旨在寻求更好的测定方法.

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪; 超声提取器 (HS-10260D, 250 W, 50 KHz); 电子天平 (梅特勒—托利多 AL204).

1.2 试剂

小白菊内酯对照品 (自制, 经¹H-NMR, ¹³C-NMR 鉴定, HPLC 分析, 用面积归一化法测定其含量 > 98%), 甲醇为色谱纯 (美国 Merk 公司), 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯. 广玉兰叶于 2012 年 3 月购买于江苏省.

1.3 色谱条件设定

色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇(A) — 水(B), 梯度洗脱(0~10 min, 10% →48% A; 10~20 min, 48% →80% A), 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 210 nm.

1.4 对照品溶液的配制

称取小白菊内酯 4.7 mg, 置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得对照品储备液.

收稿日期: 2012-09-24

作者简介: 丁林芬 (1985—), 女, 云南曲靖人, 助理实验师, 硕士, 主要从事药物分析研究.

*通讯作者: 马银海 (1964—), 男, 云南昆明人, 教授, 主要从事天然产物研究. E-mail: myh5929251@163.com.

1.5 供试品溶液的配制

取广玉兰粉末约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声(250 W, 50 KHz) 45 min,静置放冷,再称定质量,用 70% 的甲醇补足其损失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得到供试品溶液。

2 结果与分析

2.1 对照品和样品的色谱图

在 1.3 项下方法设定的色谱条件下,对对照品和样品进行测定,其色谱图见图 1。

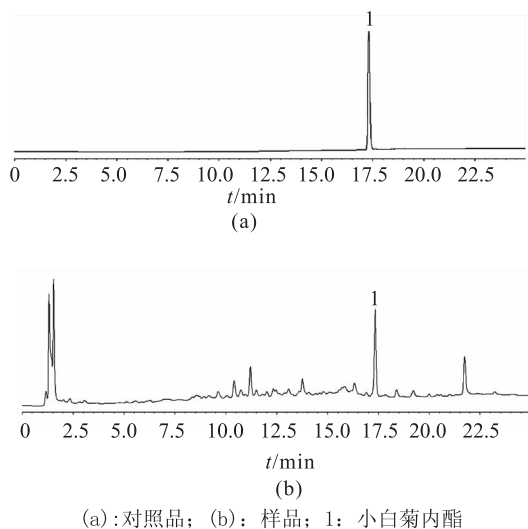


图1 HPLC色谱图

2.2 测定方法考证试验

2.2.1 线性关系考证

分别精密吸取按 1.4 项下方法制备的对照品溶液 1,3,5,8,10,15 μL ,分别注入高效液相色谱仪,测定其峰面积,以峰面积 Y 为纵坐标,对照品进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为:

$$Y = 2\,663.2X - 2.26, r = 0.999\,9.$$

结果表明,小白菊内酯进样量在 0.188 ~

2.820 μg 范围内线性关系良好。

2.2.2 精密度考证试验

分别精密吸取按 1.4 项下方法制备的对照品溶液 5 μL ,注入按 1.3 项下所设定色谱条件的高效液相色谱仪,测定小白菊内酯的峰面积,且连续以同样方法操作 6 次,计算得到小白菊内酯峰面积的 RSD 为 0.36%,结果表明仪器的精密度良好。

2.2.3 稳定性考证试验

按 1.5 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8 h 进样 20 μL ,计算得小白菊内酯峰面积的

RSD 为 0.94%,结果表明本方法供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.2.4 重复性考证试验

按 1.5 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,注入按 1.3 项下所设定色谱条件的高效液相色谱仪,结果表明小白菊内酯含量的 RSD 为 0.24%,结果表明本方法的重复性良好。

2.2.5 回收率考证试验

精密称取已知含量(质量分数为 1.43 mg/g)的广玉兰样品 1 g,共 9 份,平均分成 3 组,分别按低(80%)、中(100%)、高(120%)3 个水平准确加入小白菊内酯对照品,按 1.5 项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果显示,小白菊内酯低、中、高 3 个的回收率($n = 3$)分别为 98.4%,100.3%,99.1%,平均回收率($n = 9$)为 99.3%。

2.3 样品含量测定

分别精密称取广玉兰粉末 3 份,每份 2 g,按 1.5 项下方法制备供试品溶液,进样 20 μL ,注入按 1.3 项下所设定色谱条件的高效液相色谱仪,测定小白菊内酯的峰面积,并由其线性方程计算各自含量,结果显示,3 份样品中小白菊内酯的含量(质量分数)分别为 1.43,1.48,1.40 mg/g。

3 结论

1)用甲醇—水二元系统进行等度和梯度洗脱,结果表明,以甲醇—水梯度洗脱所得色谱峰的峰形好,且分离效果最佳。

2)经紫外扫描,小白菊内酯在 210 nm 处有最大吸收,所以宜选用 210 nm 的检测波长对小白菊内酯的含量进行检测。

3)广玉兰中小白菊内酯的含量很高,本研究所采用的方法简单、快速,可用于广玉兰中小白菊内酯含量的测定。

[参考文献]

- [1] LENAZ G. Coenzyme Q [M]. New York: John Wiley and Sons, 1985:68-78.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 30 卷第 1 分册[M]. 北京:科学出版社,1996:125.
- [3] 刘艳清,汪洪武. 超临界萃取荷花玉兰叶挥发油及其成分分析[J]. 精细化工,2008,25(6):573-575,586.
- [4] 陈兴荣,魏春红. 荷花玉兰化学成分研究[J]. 中药材,2000,23(3):159-160.
- [5] 王琪,李洪玲. 木兰属植物花蕾总黄酮含量测定及提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践,2003,17(2):32-33.
- [6] 刘易芬,李咏梅,李平,等. 双波长分光光度—K 系数法同时测定荷花玉兰花叶中三种黄酮成分[J]. 理化检验:化学分册,2008(7):668-669.