

高效液相色谱法测定白鲜皮中 酮含量

朱丹妮 陈 婷 余亚云

(中国药科大学中药研究所, 南京 210038)

关键词 白鲜皮; 酮; 高效液相色谱

白鲜皮为芸香科白鲜属植物白鲜 *Dictamnus dasycarpus* Turcz 的根皮, 为我国常用中药, 主要功效为清热解毒, 祛风止痒, 用于风热疮毒, 皮肤瘙痒以及急慢性黄疸型肝炎等, 也具有抗病原微生物及抗寄生虫作用。白鲜皮中主要含有柠檬苦素类化合物和呋喃喹啉类生物碱, 近年来国内外研究表明, 白鲜皮的水煎剂具有很强的免疫抑制作用^[1], 白鲜皮中所含的 酮和白鲜碱均具有体外抗癌活性^[2], 但未见对这二成分进行含量测定的报道, 本文建立了反相高效液相色谱法分析有效成分 酮, 并对提取条件进行了考察, 为评价药材内在质量提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器和药品

Shimadzu LG-10AT 液相色谱仪, SPD-10A

可见紫外检测器, C-R6A 数据处理机, CQ-250 型超声清洗机 (上海必能信超声有限公司)。

对照品: 自制, 经 IR UV NMR MS 及熔点测定, 鉴定为 酮, 经 TLC 及 HPLC 检测均为单峰。试剂: 甲醇为色谱纯 (江苏淮阴塑料制品厂精细化工研究所), 水为重蒸水, 自制, 其他试剂均为分析纯。药材: 购自南京市药材公司, 产地本溪。经鉴定符合药典规定。

1.2 色谱条件

分离柱 Shim-pack ODS (150 mm × 6 mm); 预柱: CLC G-ODS; 流动相: 甲醇-水 (70: 30), 流速 0.6 ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 240 nm, 在该色谱条件下 酮与其它成分得到满意分离, 见图 1

取适量对照品, 用甲醇溶解, 于 200~ 400 nm 波长进行扫描, 测得最大吸收波长为 240 nm。

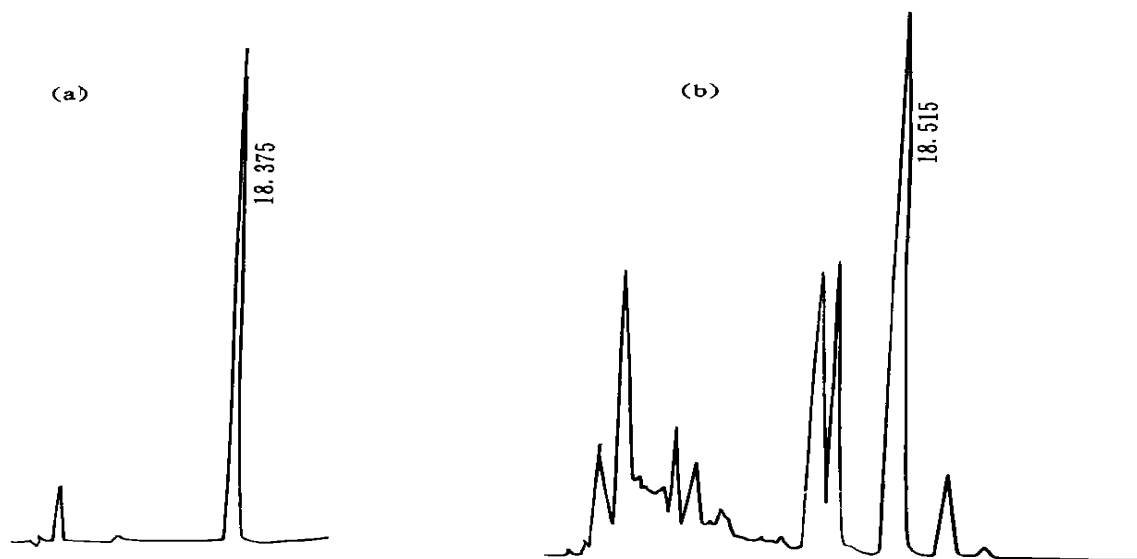


Fig 1. HPLC separation of fraxinellone

1.3 标准曲线及进样精密度测定

精密称定 酮对照品 6.6 mg,置于 10 ml量瓶中,甲醇定容至刻度,配成对照品贮备液 0.66 mg/ml,精密吸取此贮备液 20, 40, 60, 80, 100 μ l分别置于 1 ml量瓶中,甲醇定容至刻度得到系列标准溶液 (0.132, 0.264, 0.396, 0.528, 0.66 mg/ml),各取以上标准溶液 20 μ l按上述色谱条件依次进样,测定峰面积,以对照品量 X 对峰面积 Y 进行线性回归,得回归方程为: $Y=223872X-4433.22$, $r=0.9999(n=5)$ 。结果表明在 0.132~0.66 mg/ml范围内线性关系良好。另取对照品溶液,分别进样 5, 10, 20 μ l,各重复 6次,测定相应峰面积,其 RSD分别为 0.12%, 0.13%, 0.22%。

1.4 样品中 酮的提取方法比较

精密称取白鲜皮粉末 5份,用 95%乙醇在不同温度下及超声提取三次,每次 24 h,过滤,滤液回收乙醇后用甲醇定容,进样,测定峰面积,计算酮含量,结果(表 1)超声提取效果最好。

Tab 1. The effect of extraction methods on the content of fraxinellone

Extraction methods	Content of fraxinellone(%)
25 $^{\circ}$ C ethenol	0.0384
35 $^{\circ}$ C ethenol	0.0473
45 $^{\circ}$ C ethenol	0.0499
Soxhlet's extractor	0.1045
Ultrasonic extraction	0.1234

1.5 加样回收率测定

精密称取白鲜皮药材粉末 5份,每份 0.1 g,加入 酮对照品 0.08 mg,以 95%乙醇 10, 5, 5 ml超声提取三次,滤液减压浓缩至干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 ml,样品液用 0.45 μ m微孔滤膜过滤后进样,计算 酮含量,结果见表 2 结果表明,用

超声方法提取 酮,测定其含量,回收率良好。

Tab 2. Recovery test of fraxinellone

Sample No.	Fraxinellone in sample (mg)	Added (mg)	Tested (mg)	Recovery rate(%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
1	0.1265	0.132	0.2574	99.57	99.15	0.59
2	0.1224	0.132	0.2505	98.47		
3	0.1217	0.132	0.2501	98.58		
4	0.1215	0.132	0.2519	99.37		
5	0.1154	0.132	0.2468	99.75		

1.6 样品分析及方法精密度试验

取白鲜皮样品,粉碎过 40目筛,于 60 $^{\circ}$ C下燥,精密称取此粉末 6份,每份 0.2 g,加入 95%乙醇 10 ml超声提取 30 min,过滤,滤渣再各加 95%乙醇 5 ml超声提取二次,过滤,合并三次滤液,减压挥干乙醇,加入甲醇溶解,并定容至 10 ml,制成供试品溶液,供试品溶液用 0.45 μ m微孔滤膜过滤,进样 20 μ l,测定峰面积,计算相对标准偏差,结果如表 3

Tab 3. Content of fraxinellone in sample and test of repeatability

Weight of sample(g)	Content of fraxinellone(%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
0.2000	0.1248	0.1234	2.29
0.2001	0.1205		
0.2000	0.1278		
0.2000	0.1214		
0.2001	0.1212		
0.2004	0.1245		

参考文献

1 王 蓉,徐 强,徐丽华. 白鲜皮的免疫药理研究I. 对细胞免疫和体液免疫的影响. 中国药科大学学报, 1992, 23(4): 234
2 康胜利,王素贤,朱廷儒. 中药白鲜皮活性成分的研究. 沈阳药学院学报, 1983, (6): 11

Determination of Fraxinellone in *Dictamnus dasycarpus* by HPLC

Zhu Danni, Chen Ting, Yu Yayun
Department of Chinese Medicinal Recipes, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038

Abstract HPLC method of the determination of fraxinellone in *Dictamnus dasycarpus* Turcz was presented, and the established HPLC method(using Shim-park ODS column and MeOH: H₂O= 70: 30 as elution solvent) proved to be a good method in separating fraxinellone and other compounds.

Key words *Dictamnus dasycarpus*; Fraxinellone; HPLC