

鸡骨香药材中 Chettaphanin II 的含量测定

王佰灵, 王国才, 梁生旺*, 黄天山, 阎微
(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定鸡骨香中的药效成分 chettaphanin II 的含量的方法, 并比较不同批次鸡骨香的含量差异, 为该药材质量标准的制定提供依据。方法: Phenomenex Luna(2) C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-0.1% 磷酸水洗脱系统, 梯度洗脱, 检测波长 355 nm, 柱温 30 °C。结果: Chettaphanin II 的回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X - 166\ 725$ ($r = 0.999\ 8$), 在 0.255 ~ 7.65 μg 线性关系良好。鸡骨香中 chettaphanin II 含量在 0.472 ~ 1.069 mg·g⁻¹。结论: 该法准确灵敏, 稳定可靠, 可用于鸡骨香药材质量控制。

[关键词] 鸡骨香; chettaphanin II; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0061-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130061

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1540.022.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 15:40

Determinations chettaphanin II of Radix Cortonis Crassifolii

WANG Bai-ling, WANG Guo-cai, LIANG Sheng-wang*, HUANG Tian-shan, YAN Wei
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the content of active principle and main content in Radix Cortonis Crassifolii in order to provide some academic basis for quality criterion of Radix Cortonis Crassifolii. **Method:** The method of HPLC was used to determine the content of chettaphanin II in different batches. The method was established on a Phenomenex Luna (2) C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with the mobile phase on stepwise gradient elution of acetonitrile-0.1% H₃PO₄ and the temperature at 30 °C, the detection wavelength was set at 355 nm. **Result:** The calibration curves of chettaphanin II was $Y = 2 \times 10^6 X - 166\ 725$ ($r = 0.999\ 8$), showing good linearity in the range of 0.255-7.65 μg. The content of Radix Cortonis Crassifolii was 0.472-1.069 mg·g⁻¹. **Conclusion:** This method is accurate, sensitive, stable and reliable and can be used for quality control of Radix Cortonis Crassifolii.

[Key words] Radix Cortonis Crassifolii; chettaphanin II; HPLC

鸡骨香在历代本草中均有记载, 但关于其含量测定在《中国药典》2010年版及之前各版均未见收载, 地方标准中也未见其含量测定的报道, 为了确保鸡骨香药材的质量, 有必要对其药效成分和主要成

分进行含量测定。

鸡骨香为大戟科巴豆属植物鸡骨香的根, 别名千人打、山豆根、驳骨消(《岭南采药录》)、土沉香(《生草药性备要》)、黄牛香(广州部队《常用中草药手册》)、过山香(福建)、鸡角香、透地龙等^[1]。味辛、苦, 性温, 入心、肺、肝、胃、肾五经, 具有理气止痛、祛风除湿、舒筋活络的功效^[2-3], 主要用于风湿痹痛、腰腿痛、胃及十二指肠溃疡、胃肠功能紊乱、胃肠胀气、咽喉肿痛、黄疸、疝痛、跌打肿痛、外治毒蛇咬伤等^[4]。分布于我国南部地区及越南、老挝、泰国等国。泰国学者 Laddawan Boonyarathanakomkit

[收稿日期] 20130901(001)

[基金项目] 2015 版中国药典项目

[第一作者] 王佰灵, 在读硕士, 从事中药质量控制研究, Tel: 13760711317, E-mail: wbling6@126.com

[通讯作者] * 梁生旺, 教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 020-39352172, E-mail: swliang371@163.com

等^[5]报道该植物具有抗癌活性。为了补充和丰富该植物的研究内容,为该植物的药用提供理论基础,本实验对鸡骨香药材药效成分 chettaphanin II^[6-7]进行含量测定,并比较不同批次鸡骨香的含量差异,为鸡骨香药材质量评价提供依据。

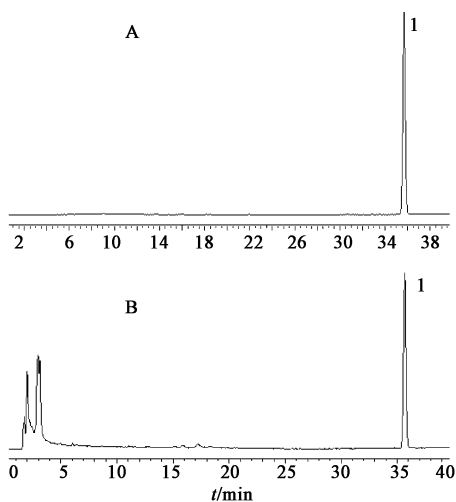
1 材料

1.1 仪器 Waters 2695 型高效液相色谱仪(Waters 2996 二极管阵列检测器,美国 Waters),BP211D 型 1/10 万电子天平(Sartorius)。

1.2 试药 鸡骨香药材购自广西及广州清平药材市场,经广东药学院李书渊教授鉴定为大戟科巴豆属植物鸡骨香 *Croton crassifolius* Geisel 的根; Chettaphanin II^[8]对照品由暨南大学提供,甲醇、乙腈均色谱纯(欧普森),其他试剂为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex Luna (2) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B) 梯度洗脱(0 ~ 25 min, 60% A; 25 ~ 40 min, 60% ~ 90% A),检测波长 355 nm,流速 1 mL·min⁻¹。



1. chettaphanin II; A. 对照品; B. 鸡骨香样品

图 1 鸡骨香药材的 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称定对照品 chettaphanin II 5.10 mg,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,配成 1.02 g·L⁻¹的储备液。吸取上述对照品储备液 0.5 mL,置于 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密称定鸡骨香药材(2 号筛)1.0 g,置锥形瓶中,加入甲醇 10 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足

减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.4 对照品纯度检查 精密吸取 chettaphanin II 对照品溶液各 15 μL,注入液相色谱仪中,测定 chettaphanin II 的峰形、峰位,由峰面积归一化分析法得出,对照品 chettaphanin II 的纯度为 98.28%。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察试验 取 2.2 项下的对照品溶液,分别进样 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 μL,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归计算,得回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X - 166\ 725$ ($r = 0.999\ 8$),结果发现 chettaphanin II 在 0.255 ~ 7.65 μg 线性关系良好。

2.5.2 精密度试验 精密吸取 2.2 项对照品溶液 10 μL,按 2.1 项下的色谱条件重复进样 5 次,结果 chettaphanin II 峰面积的 RSD 0.275%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 精密吸取 15 μL 进行测定,记录峰面积,结果表明 chettaphanin II 的峰面积的 RSD 1.488%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.4 重复性试验 精密称定同一鸡骨香药材粉末 5 份,各 1.0 g,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,分别精密吸取 15 μL,按 2.1 项下的色谱条件测定。结果表明 chettaphanin II 峰面积的 RSD 2.418%,表明该方法重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验 精密称定鸡骨香药材 9 份,各 0.5 g,分别加入适量对照品,按 2.3 项下方法制备,分别精密吸取滤液 15 μL,按 2.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率,见表 1。

表 1 鸡骨香中 chettaphanin II 的加样回收率

| 取样量 /g | 样品中量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|---------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|
| 0.500 0 | 0.534 5 | 0.427 0 | 0.952 6 | 0.979 1 | | |
| 0.500 0 | 0.534 5 | 0.425 3 | 0.947 9 | 0.972 0 | | |
| 0.500 1 | 0.534 6 | 0.427 6 | 0.962 7 | 1.001 3 | | |
| 0.500 0 | 0.534 2 | 0.530 1 | 1.042 0 | 0.957 9 | | |
| 0.500 1 | 0.534 0 | 0.529 0 | 1.071 0 | 1.015 2 | 97.89 | 1.93 |
| 0.500 1 | 0.534 4 | 0.531 5 | 1.046 0 | 0.962 7 | | |
| 0.500 0 | 0.531 9 | 0.640 0 | 1.149 0 | 0.964 2 | | |
| 0.500 0 | 0.522 2 | 0.631 9 | 1.137 0 | 0.972 9 | | |
| 0.500 0 | 0.531 7 | 0.643 3 | 1.165 0 | 0.984 5 | | |

2.6 样品含量测定 取 10 批鸡骨香药材(过 2 号筛)各 1.0 g,精密称定。按 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液 15 μL,进样,按

上述色谱条件测定,计算样品中 chettaphanin II 的含量见表 2。

表 2 不同批次鸡骨香含量测定 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

| No. | 购买日期 | 来源 | 含量 |
|-----|------------|---------------|-------|
| 1 | 2012-09-05 | 清平药材市场 | 1.069 |
| 2 | 2012-09-05 | 清平东药材市场 | 0.721 |
| 3 | 2013-03-01 | 清平药材市场 | 0.472 |
| 4 | 2013-03-01 | 清平药材市场 | 0.192 |
| 5 | 2013-03-01 | 清平东药材市场 | 0.963 |
| 6 | 2013-03-21 | 广州致信 | 0.828 |
| 7 | 2013-04-03 | 广西玉林市中桂药材有限公司 | 0.735 |
| 8 | 2013-05-09 | 清平药材市场 | 0.655 |
| 9 | 2013-05-09 | 清平药材市场 | 0.730 |
| 10 | 2013-05-18 | 广州采芝林 | 0.756 |

3 讨论

本实验采用 HPLC 法测定了鸡骨香中药效成分 chettaphanin II,方法简单、准确,重复性好,为鸡骨香质量标准的建立提供了一定的科学依据。

考察了回流、冷浸和超声 3 种提取方法,结果发现冷浸法提取的有效成分含量最低,超声和回流提取的有效成分量相似,而超声较回流操作简单,故本实验采用超声的提取方法。超声提取时主要考察了提取时间(20,30,40 min)、溶剂的种类(甲醇、石油醚、乙酸乙酯)以及溶剂的用量(5,10,15 mL),鉴于节约溶剂、时间及有效成分的量考虑,本实验采用甲

醇作为提取溶剂,超声 30 min 对有效成分进行提取。

本实验对 10 批不同产地鸡骨香药材进行了药效成分和主要成分的含量测定,结果表明 chettaphanin II 的含量分别在 0.192 ~ 1.069 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,含量相差较大,可能与鸡骨香的产地、采收、加工有关。为了保证鸡骨香的质量,有必要建立鸡骨香的 GAP 基地^[9]。

[参考文献]

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第二册[S]. 广州:广东科技出版社,2011:190.
- [2] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁:广西科学技术出版社,1990:59.
- [3] 邓世明. 海南常用中草药名录[M]. 北京:中国科学技术出版社,2006:19.
- [4] 朱耀魁,胡颖,程妮,等. 鸡骨香化学与分研究[J]. 中草药,2013,44(10):1231.
- [5] Laddawan Boonyarethanakomkit, Chun-tao Che, Harry H S Fong, et al. Constituents of *Croton crassifolius* Roots[J]. *Plantamedica*,1988,54(1):61.
- [6] 杨先会,邓世明,梁振益,等. 鸡骨香挥发油成分分析[J],海南大学学报:自然科学版,2007,25(3):262.
- [7] 陈书红,任凤芝,李丽红,等. 鸡骨香化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2010,45(24):1907.
- [8] 李甲桂. 鸡骨香化学成分研究[D]. 广州:暨南大学,2013.
- [9] 杨先会,陈尚文,林强,等. 鸡骨香的萜类成分研究[J]. 广西植物 2009,29(2):272.

[责任编辑 顾雪竹]