

# 中药臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量测定

李书华\*, 张智锦, 刘芳

(乐山师范学院化学与生命科学学院, 四川 乐山 614004)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定臭灵丹中洋艾素和金腰乙素含量的高效液相色谱方法。方法: 采用高效液相色谱法, Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(60:40), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 257 nm, 柱温 32.2 °C。结果: 洋艾素和金腰乙素分别在 0.448 ~ 2.24 和 0.352 ~ 1.76 μg 线性关系良好, 平均回收率洋艾素为 103.48% (RSD 0.87%), 金腰乙素为 103.42% (RSD 0.91%)。结论: 该方法简便, 重复性好, 可以用于同时测定臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量。

**[关键词]** 臭灵丹; 洋艾素; 金腰乙素; 含量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0168-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013160168

## Determination of Artemitin and Chrysosptertin B in *Laggera pterodonta*

LI Shu-hua\*, ZHANG Zhi-jing, LIU Fang

(Department of Chemistry and Life Sciences, Leshan Normal University, Leshan 614004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an effective HPLC method for determining the content of artemitin and chrysosptertin B in *Laggera pterodonta*. **Method:** By HPLC, a Diamonsil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted with methanol-water (60:40) as the mobile phase for elution at the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 257 nm and the temperature was kept at 32.2 °C. **Result:** Good linearity was obtained in the range of 0.448-2.24 and 0.352-1.76 μg for artemitin and chrysosptertin B respectively. The method recoveries of artemitin and chrysosptertin B were 103.48% and 103.42%, RSDs were 0.87% and 0.91% respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate and suitable for the determination of artemitin and chrysosptertin B, which can be used for quality control of *Laggera pterodonta*.

**[Key words]** *Laggera pterodonta*; artemitin; chrysosptertin B; determination

传统中药臭灵丹为菊科植物翼齿六棱菊的干燥地上部分, 主产于云南, 民间多用于感冒、流行性感、以及多种炎症<sup>[1]</sup>。现代药理表明臭灵丹具有抗病原微生物<sup>[2-3]</sup>、抗炎<sup>[4]</sup>、祛痰<sup>[5]</sup>、抗肿瘤<sup>[6-7]</sup>、对幽门螺杆菌有抑制作用<sup>[8]</sup>和镇痛等作用<sup>[9]</sup>。化学成分研究较为充分, 含有黄酮、倍半萜、二萜、挥发油等成分<sup>[3,6-7,10-17]</sup>, 其主要活性成分为黄酮类化合物<sup>[14,17]</sup>。《中国药典》记载臭灵丹中的特征性成分为洋艾素。最近研究表明, 臭灵丹中多种黄酮具有

显著抑制多种癌细胞的作用<sup>[18]</sup>。目前文献未有臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量测定报道, 《中国药典》里仅仅有洋艾素的质量指标。据已有的研究表明, 与洋艾素结构类似的金腰乙素具有显著抑制 A549 和 HeLa 等肿瘤细胞的增殖作用<sup>[19]</sup>, 故金腰乙素也是臭灵丹的主要活性成分之一。

本课题组参考了利用高效液相色谱法测定药材中活性成分含量的文献<sup>[20-22]</sup>, 从臭灵丹的活性部位分离鉴定出洋艾素和金腰乙素, 并以其为对照品, 采用反相高效液相色谱法同时测定臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量, 为控制臭灵丹的质量标准提供科学依据。

### 1 材料

臭灵丹于 2011 年 5 月购自成都市国际商贸城

**[收稿日期]** 20121128(006)

**[基金项目]** 四川省旅游发展研究中心项目(LYM12-36); 四川省教育厅科研项目(13ZA0105)

**[通讯作者]** \* 李书华, 硕士, 副教授, 从事功能性化学成分研究, Tel:0833-2271291, E-mail:shli7011@163.com

荷花池中药材专业市场,由乐山师范学院成英副教授鉴定为菊科植物翼齿六棱菊 *Laggera pterodonta* 的地上部分。洋艾素、金腰乙素对照品自制,通过<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR鉴定其结构,通过高效液相色谱检测其纯度>98%。甲醇为色谱纯,水为双蒸水。

YL9100型HPLC高效液相色谱仪,BP121s型电子天平(Sartorius)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(60:40),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长257 nm,柱温32.2℃。

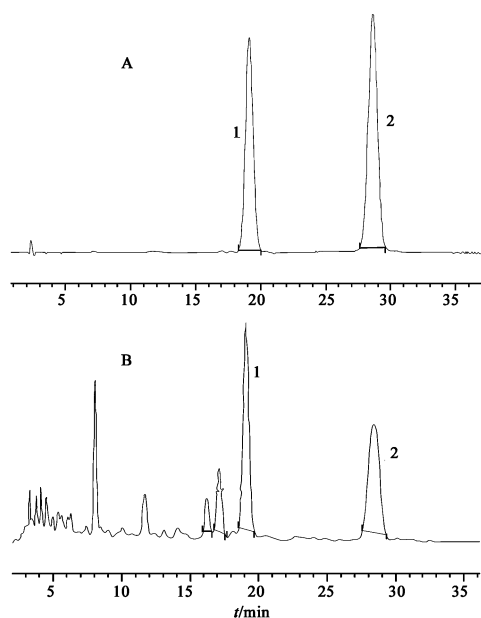
**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取洋艾素11.2 mg,金腰乙素8.8 mg,置于100 mL量瓶中,加入50 mL 60%的甲醇溶液,待对照品完全溶解后,用60%的甲醇定容至刻度,摇匀,制成每1 mL含洋艾素0.112 mg,金腰乙素0.088 mg的混合对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取烘干至恒重的臭灵丹粉末0.998 8 g移入回流装置中,并加入15 mL 90%的乙醇,80℃的水浴回流20 min,过滤得提取液,循环回流提取3次,合并滤液,然后将滤液转入50 mL量瓶中,并用90%的乙醇定容至刻度。从量瓶中取液体20 mL,减压浓缩至干,然后用20 mL 5%的NaOH溶液溶解,过滤,再用10 mL 5%的NaOH溶液洗涤2次,得到滤液;然后用盐酸调其pH 3后,用20 mL氯仿萃取3次,合并萃取液,浓缩至干;最后用10 mL 60%的甲醇溶解,得到供试品溶液。对照品和供试品溶液的色谱图如图1。

**2.4 标准曲线的绘制** 精密吸取2.2项下对照品溶液各2,4,6,8,10 mL,分别置于10 mL量瓶中,然后用60%的甲醇定容至刻度,摇匀。分别精密吸取20 μL注入液相色谱仪,以进样量为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。洋艾素的线性回归方程为  $C = 863.01A - 2.709$  ( $r = 0.9996$ ),进样量为0.448~2.24 μg线性关系良好;金腰乙素的线性回归方程为  $C = 101.26A + 8.052$  ( $r = 0.9995$ ),进样量为0.352~1.76 μg线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密吸取2.2项下对照品混合溶液20 μL,注入液相色谱仪,连续进样6次,按照上述色谱条件测定,记录色谱峰面积。洋艾素的RSD 0.92%,金腰乙素的RSD 0.88%,说明精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液20 μL,于0,2,4,6,8 h各进样1次,洋艾素的RSD



A. 对照品; B. 药材; 1. 金腰乙素; 2. 洋艾素

图1 对照品和药材臭灵丹的HPLC

1.2% ( $n = 6$ ),金腰乙素的RSD 1.5% ( $n = 6$ ),说明供试样品溶液至少在8 h内稳定性良好。

**2.7 重复性试验** 精密称取臭灵丹粉末6份,按照上述2.3项方法制备供试品溶液。分别精密吸取20 μL注入液相色谱仪,测定,计算得臭灵丹中洋艾素的质量分数为0.975 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 1.6%,即臭灵丹中洋艾素的平均含量为0.975%;臭灵丹中金腰乙素的质量分数为0.593 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 1.8%,即臭灵丹中金腰乙素的平均含量为0.593%。

**2.8 加样回收率试验** 分别精密称取6份已测定含量的样品约1.0 g,精密加入每1 mL含洋艾素0.112 mg,金腰乙素0.088 mg的混合对照品溶液,按照上述2.3项方法制备供试品溶液,进样量为10 μL,测定,计算加样回收率,结果表明,洋艾素的平均回收率为103.48%,RSD 10.1%,金腰乙素的平均回收率为103.42%,RSD 1.06%。其结果见表1。

## 3 讨论

根据洋艾素和金腰乙素的结构和化学性质,选取了90%的乙醇回流提取3次,合并3次提取液。结果发现其色谱峰很多,且杂乱,重叠严重。考虑到洋艾素和金腰乙素为黄酮类化合物,具有酚羟基,有一定的酸性,可溶于氢氧化钠溶液中,通过过滤除去大部分不溶物,然后再将滤液通过酸调pH 3后,用氯仿萃取3次,这样得到的萃取液基本上是臭灵丹中的酸性脂溶性成分了,通过液相色谱峰可以看出洋艾素和金腰乙素分离良好。

表 1 洋艾素和金腰乙素的加样回收率测定

成分	称样量/g	样品中量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得值/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
洋艾素	1.001 2	976.17	896	1 893.67	102.4	103.48	0.87
	0.998 6	973.64	896	1 901.00	103.5		
	0.999 3	974.32	896	1 913.32	104.8		
	1.000 8	975.78	896	1 895.07	102.6		
	1.001 9	976.85	896	1 909.59	104.1		
	1.000 6	975.58	896	1 902.94	103.5		
金腰乙素	0.997 6	591.58	528	1 139.11	103.7	103.42	0.91
	0.999 5	592.70	528	1 139.18	103.5		
	1.001 7	594.00	528	1 144.18	104.2		
	1.000 9	593.53	528	1 129.98	101.6		
	1.002 1	594.24	528	1 143.89	104.1		
	0.998 2	591.93	528	1 137.88	103.4		

洋艾素和金腰乙素为黄酮类化合物,全波长扫描发现其最佳吸收波长为 257 nm,在该波长下灵敏度高,待测成分与基线分离良好,重复性好,符合含量测定要求。

本试验首次应用高效液相色谱法同时对臭灵丹中的活性物质洋艾素和金腰乙素进行了含量测定。研究表明,试验采用本课题组分离得到的洋艾素和金腰乙素为对照品,在 0.448 ~ 2.24  $\mu\text{g}$ (洋艾素)和 0.448 ~ 2.24  $\mu\text{g}$ (金腰乙素)具有良好的线性关系。精密密度试验、稳定性试验、重复性试验和加样回收率试验均符合要求。测得臭灵丹中洋艾素的平均百分含量为 0.975%,金腰乙素的平均百分含量为 0.593%。该方法简便,重复性好,可以用于同时测定臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量。

【致谢】 张敏和刘诚同学做了部分实验工作。

【参考文献】

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1977.  
 [2] 豆涛. 不同产地的臭灵丹体外抑菌作用比较[J]. 中国药业,1998,7(5):45.  
 [3] 杨光忠,李芸芳,喻昕,等. 臭灵丹萜类和黄酮化合物[J]. 药学学报,2007,42(5):511.  
 [4] 周长新,吴迪遥,李湘萍,等. 六棱菊属植物研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(4):1133.  
 [5] 邓士贤,王德成,王懋德,等. 臭灵丹的祛痰及退热作用[J]. 云南医药,1999,52(1):491.  
 [6] 李顺林,丁靖垵. 臭灵丹中黄酮醇成分[J]. 云南植物研究,1994,16(4):434.  
 [7] 李顺林,丁靖垵. 臭灵丹中三个新的倍半萜醇[J]. 云南植物研究,1993,15(3):303.  
 [8] 胡伟,张玉琼,张磊,等. 臭灵丹对幽门螺杆菌的体外抑菌实验研究[J]. 中外健康文摘(医药月刊),2006,3(11):39.  
 [9] 赵永娜,Reanmongkol Wantana,Bouking Pisit,等. 臭灵

丹水提取物的急性毒性及镇痛作用的实验研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(4):457.  
 [10] 辛小燕,安银岭,王文峰. 两种臭灵丹精油成分的比较研究[J]. 林产化学与工业,1999,19(2):43.  
 [11] 赵昱,岳建民,林文中,等. 臭灵丹中五个新的烷烃类衍生物[J]. 云南植物研究,1997,19(2):207.  
 [12] 李顺林,丁靖垵. 臭灵丹中四个新的倍半萜酸[J]. 云南植物研究,1996,18(3):349.  
 [13] 赵爱华,魏均娴. 臭灵丹化学成分的研究 II [J]. 化学学报,1994,52(5):517.  
 [14] 赵爱华,朱燕,魏均娴. 臭灵丹化学成分的再研究[J]. 中国医学杂志,1995,30(5):264.  
 [15] 魏均娴,胡建林,王传宝. 臭灵丹挥发油的化学成分研究[J]. 昆明医学院学报,1992,13(2):21.  
 [16] 郑群雄,张奇军,孙汉董,等. 云南民间草药臭灵丹根部的化学成分研究[J]. 浙江大学学报:医学版,2002,31(6):406.  
 [17] 刘百联,张婷,张晓琦,等. 臭灵丹化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(5):602.  
 [18] 曹长姝,沈伟哉,李药兰,等. 中药臭灵丹中 3,5-二羟基-6,7,3(4-(四甲氧基黄酮对人鼻咽癌 CNE 细胞凋亡的影响及机制[J]. 生物化学与生物物理进展,2011,38(3):254.  
 [19] 曹长姝,沈伟哉,李药兰,等. 臭灵丹中黄酮类化合物对人喉癌细胞 Hep-2 凋亡的影响及机制[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(7):1362.  
 [20] 裴慧,朱玲英,钱士辉. RP-HPLC 测定急性子中 2 种黄酮苷成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):131.  
 [21] 朱德全,黄松,陈建南,等. 不同品种、产地溪黄草咖啡酸与迷迭香酸的含量测定[J]. 中国验方剂学杂志,2013,19(2):114.  
 [22] 孔铭,张健,姚楠,等. HPLC 同时测定络石藤中 5 个化学成分的含量[J]. 中国验方剂学杂志,2013,19(3):93.

【责任编辑 顾雪竹】