

思茅松不同部位莽草酸含量的 HPLC 测定

施贵荣, 马慧敏, 邓应飞, 李雪艳, 马永秀, 刘光明, 陈光勇*
(大理学院药学与化学学院, 云南 大理 671000)

[摘要] 目的: 测定思茅松不同部位莽草酸的含量。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent zorbax-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-1% 磷酸水溶液 (3:97), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 213 nm, 柱温 25 °C。结果: 莽草酸在 0.01 ~ 0.8 μg 线性相关良好 ($r=0.9999$), 平均加样回收率为 99.00%。RSD 0.81% ($n=9$)。结论: 不同部位思茅松中莽草酸的含量存在显著差异, 松针中莽草酸含量最高为 29.17 mg·g⁻¹, 可以考虑将松针作为新的莽草酸资源加以开发利用。

[关键词] 莽草酸; 思茅松; 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(2013)10-0109-03

[doi] 10.11653/syjf2013100109

Determination of Shikimic Acid in *Pinus Khasys* from Different Position by HPLC

SHI Gui-rong, MA Hui-min, DENG Ying-fei, LI Xue-yan, MA Yong-xiu, LIU Guang-ming, CHEN Guang-yong*
(College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China)

[Abstract] **Objective:** To determine shikimic acid in *Pinus khasys* from different position. **Method:** The content of shikimic acid was determined by HPLC; the Agilent zorbax-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used as analytical column, the mobile phase was consisted of methanol-1% phosphoric acid (3:97), the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 213 nm, and the column temperature was 25 °C. **Result:** Shikimic acid has a good line in the range of 0.05-0.8 μg ($r=0.9999$); the average recovery was 99.00%, and with RSD 0.81% ($n=9$). **Conclusion:** The content of shikimic acid was different in *P. khasys* from different position, while the highest content of shikimic acid was 29.17 mg·g⁻¹ in the pine needles, the pine needles can considered to be shikimic acid new resources exploited and utilized.

[Key words] shikimic acid; *Pinus khasys*; HPLC

思茅松为松科松属植物, 松属植物在民间药用历史悠久, 多具有解痉、镇痛、抗癌、抗菌、抗病毒等多种药理活性^[1], 其有效成分莽草酸经药理学研究证明具有较强的抗炎、镇痛、抗血栓作用^[2-3], 也是目前临床上唯一对感染禽流感病毒患者有效药物“达菲”的主要成分之一^[4]。莽草酸的化学合成反

应条件苛刻难以满足市场需求, 虽然木兰科八角属八角茴香中莽草酸含量相对较多, 但由于它的价格昂贵, 发展受到限制^[5-7]。所以寻找新的莽草酸提取原料具有良好的市场前景。本实验对思茅松各部位进行分离提取及检测, 为有针对性地开发利用思茅松中莽草酸提供参考依据。

1 材料

样品采自云南省思茅市, 经大理学院药学与化学学院周浓副教授鉴定为思茅松。

甲醇为色谱纯(美国 Tedia 试剂公司), 莽草酸对照品(HPLC 峰面积归一化法测定纯度达 99%, Sigma-Aldrich 公司), 水为娃哈哈牌纯净水, 其他均为国产分析纯试剂。

[收稿日期] 20121102(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260632)

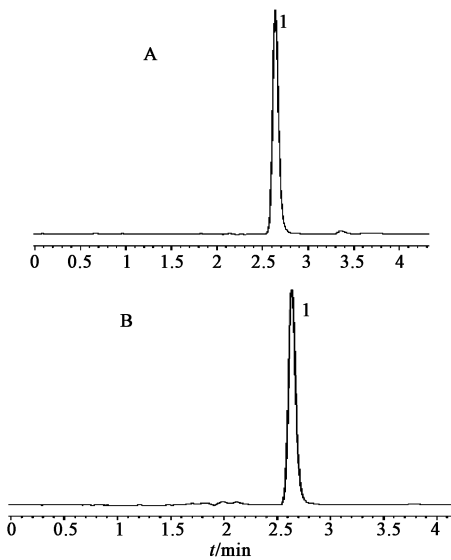
[第一作者] 施贵荣, 在读硕士, 实验师, 从事天然药物研究, Tel: 13013362075, E-mail: shiguirong2008@163.com

[通讯作者] * 陈光勇, 硕士, 副教授, 从事天然药物研究, Tel: 13987270636, E-mail: chengy997@126.com

KQ-250B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), AE250型天秤(梅特勒托利多仪器有限公司), Aglient1100型高效液相色谱仪, 手提式高速中药粉碎机。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性^[8-9] Agilent Zorbax XDB-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相用甲醇-1%磷酸水溶液(3:97), 流速0.8 mL·min⁻¹, 柱温25℃, 检测波213 nm。对照品溶液和供试品溶液分别进样5 μL, 记录色谱图莽草酸的保留时间约为2.6 min, 见图1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 莽草酸

图1 对照品与样品 HPLC

2.2 供试品溶液的制备^[10-11] 思茅松各部位样品晒干, 粉碎成细粉, 精密称取0.2 g置具塞锥形瓶中, 加重蒸水20 mL, 精密称重, 超声处理(功率200 W, 频率33 kHz) 90 min后, 加重蒸水补重, 精密吸取5 mL定容置50 mL, 临用前用0.45 μm微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取莽草酸对照品适量, 并置100 mL棕色量瓶中, 加重蒸水溶解, 定容, 摇匀, 即得对照品储备液(每mL含莽草酸100 μg); 取10 mL储备液置100 mL棕色量瓶中, 加重蒸水溶解, 定容, 摇匀, 即得对对照品溶液(每mL含莽草酸10 μg)。

2.4 标准曲线的绘制 分别以2, 5, 10, 20 μL进样10 mg·L⁻¹的对照品溶液; 以5, 10, 15, 20 μL进样100 mg·L⁻¹对照品储备液。用选定的色谱条件测定, 记录峰面积, 并以峰面积的积分定量, 以进样量C(mg·L⁻¹)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制

标准曲线, 得性回归方程为 $Y = 18.3506C - 6.7692$ ($r = 0.9999$)。结果表明, 所测莽草酸在0.02 ~ 2 μg与其峰面积呈良好线性关系。

2.5 精明度试验 精密吸取莽草酸对照品液(100 mg·L⁻¹)5 μL, 并重复进样6次, 测定色谱峰面积平均值179.72, RSD 0.169%, 精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取松皮细粉6份, 按2.2项下操作制备供试品溶液, 分别进样进行色谱分析, 测得莽草酸含量平均值为6.84 mg·g⁻¹, RSD 0.62%。

2.7 稳定性试验 取松针供试品溶液, 按2.1项色谱条件, 在0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h下, 分别测定莽草酸峰面积, 计算峰面积的RSD 0.15%, 表明供试液在12 h内稳定性良好。

2.8 加样回收试验^[12] 精密称取松皮细粉9份, 分别加入一定量的莽草酸对照品, 按2.2项下操作制备供试品, 分别进样进行色谱分析, 其平均回收率为99.00%, RSD 0.81%, 符合分析要求, 结果见表1。

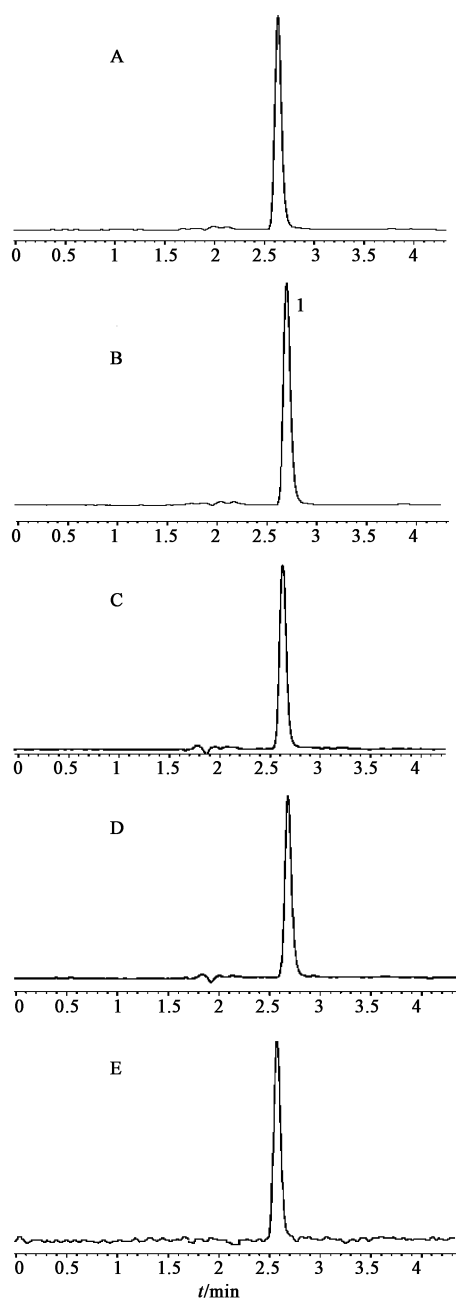
表1 莽草酸加样回收

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	\bar{x} /%	RSD /%
0.1005	0.6874	0.6800	1.3416	96.20		
0.1003	0.6861	0.6800	1.3361	95.60		
0.1005	0.6874	0.6800	1.3457	96.81		
0.1000	0.6840	0.5500	1.2221	97.84		
0.1003	0.6861	0.5500	1.2242	97.85	97.95	1.52
0.1001	0.6847	0.5500	1.2326	99.62		
0.1004	0.6867	0.8160	1.4983	99.46		
0.1005	0.6874	0.8160	1.4984	99.38		
0.1004	0.6867	0.8160	1.4933	98.84		

2.9 样品测定 按2.2项下方法操作制备各部位样品供试液, 并精密吸取样品供试液和对照品各5 μL, 分别注入高效液相色谱仪依法测定, 以外标法计算, 结果思茅松松针、松枝、松塔、松皮、松根的含量分别为29.17, 18.75, 9.44, 6.84, 2.79 mg·g⁻¹, 色谱图见图2。

3 讨论

因莽草酸既是抗禽流感药物达菲和抗肿瘤药物二噁霉素、乙二酮酶抑制剂等的合成原料^[13], 所以筛选良好的莽草酸提取原料具有现实意义。本实验结果表明, 思茅松的松针、松塔、松茎、松皮、松根都含有莽草酸, 但含量差异显著, 以松针部位含量最



A. 松针;B. 松枝;C. 松塔;D. 松皮;E. 松根

图2 各部位样品的 HPLC

高,树根最低。我国思茅松为常绿乔木,生长迅速,更新良好,且已由人工引种栽培,资源丰富^[14],开发成本较八角茴香低。所以以思茅松作为莽草酸的提取原料具有可行性和良好的市场前景。至于不同采

收期思茅松中莽草酸是否有较大差异,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 张剑军,石晓峰. 雪松化学成分及药理活性的研究进展[J]. 中成药, 2009, 31(6):928.
- [2] 马怡,孙建宁,徐秋萍,等. 莽草酸对血小板聚集和凝血的抑制作用[J]. 药学报, 2000, 35(1):59.
- [3] 方玉珍,宋玉云,岑燕飞,等. 八角酸的镇痛作用研究[J]. 贵阳中医学院学报, 1989, 11(1):59.
- [4] 刘永友,廖晓峰. 莽草酸的研究进展[J]. 化工时刊, 2007, 27(3):54.
- [5] 刘向奎,王强,袁哲东. 莽草酸合成路线图解(一)[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(1):70.
- [6] 王晓强,郭亚健,杨春澍. 高效液相法测定八角属部分植物果实中莽草酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2001,26(7):447.
- [7] 张中朋,八角茴香. 莽草酸生产市场概况[J]. 中国现代中药, 2006, 8(9):41.
- [8] 夏从龙,周浓,刘光明,等. 云南松中莽草酸含量的高效液相色谱法测定[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7):1607.
- [9] 吴俊珠,周浓,周梅,等. RP-HPLC 测定松林血脉康胶囊中莽草酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):113.
- [10] 周浓,夏从龙,张海珠,等. 高效液相色谱法测定华山松中莽草酸的含量[J]. 大理学院学报, 2010, 9(2):14.
- [11] 刘玉强,甄毕贤,才谦. 不同地区白术药材及饮片中白术内酯Ⅱ的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):120.
- [12] 李艳丹,左旭,黄艳菲,等. RP-HPLC 测定5种藏五加菜中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16):79.
- [13] 王东东,石晓峰,李冲,等. 7种松柏科植物中莽草酸的含量测定[J]. 中药分析与鉴定, 2011, 22(7):616.
- [14] 谢济运,陈小鹏,李志荣,等. 湿地松松针中莽草酸的提取及含量测定[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(9):4571.

[责任编辑 顾雪竹]