

HPLC 测定灯心草中去氢厄弗酚含量

段琼,王杨,林婷婷,孙道涵,简伟杰,黄建梅*
(北京中医药大学中药学院,北京 100102)

[摘要] 目的:建立灯心草中去氢厄弗酚含量的测定方法。方法:采用高效液相色谱法,Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(65:35),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 270 nm,柱温 23 ℃。结果:去氢厄弗酚线性范围为 0.017 4~0.870 4 μg,与峰面积线性关系良好。平均加样回收率为 98.3%,RSD 0.61%。结论:所建立的方法分离效果好、操作简便、准确、灵敏度高、重复性好,可用于灯心草中去氢厄弗酚的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法;灯心草;去氢厄弗酚;萜类;含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0092-03

Determination of Dehydroeffusol in *Juncus effusus* by HPLC

DUAN Qiong, WANG Yang, LIN Ting-ting, SUN Dao-han, JIAN Wei-jie, HUANG Jian-mei*
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method of determined the content of dehydroeffusol in *Juncus effusus*. **Method:** The content of dehydroeffusol was determined by HPLC. The separation employed Agilent HC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) in 23 ℃, using methanol-water (65:35) as mobile phase at flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and UV detection at 270 nm. **Result:** The method of validation parameters indicate a linear range of between 0.017 4-0.870 4 μg. The recovery was 98.3% (RSD 0.61%). **Conclusion:** The method is simple, accurate and sensitive. It is adoptable for quantitative analysis of dehydroeffusol in *J. effusus*.

[Key words] HPLC; *Juncus effusus* L.; dehydroeffusol; phenanthrene; determination

灯心草为灯心草科灯心草属植物灯心草 *Juncus effusus* L. 的干燥茎髓,具有清心火、利小便之功效,用于心烦失眠,尿少涩痛,口舌生疮^[1]。其主要含有 9,10-二氢萜类、萜类、甾类、三萜类、甘油酯类等成分^[2-11],本课题组通过小鼠高架十字迷宫模型及洞板实验模型,证实灯心草中萜类成分去氢厄弗酚(dehydroeffusol)具有镇静、抗焦虑作用,为灯心草清心除烦作用的物质基础之一^[12]。通过前期对灯心

草化学成分及指纹图谱研究发现,去氢厄弗酚在灯心草药材中含量较高^[13]。本试验利用高效液相色谱法,建立了灯心草中去氢厄弗酚的含量测定方法,并对不同批次的灯心草药材中去氢厄弗酚含量进行测定,为灯心草药材的质量控制及开发利用提供了依据。

1 仪器与试剂

SARTORIUS AG BS110S 型电子天平(德国赛多利斯公司),METTLER AE-240 型电子天平(德国梅特勒-托利多公司),TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),BL-100 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市五金有限公司),岛津 LC20A 型高效液相色谱仪(LC-20AT 高效泵,SPD-20A 检测器,LC solution 工作站,日本岛津公司),Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),去氢厄弗酚对照品(实验室自制,含量

[收稿日期] 20110721(009)

[基金项目] 新世纪优秀人才支持计划

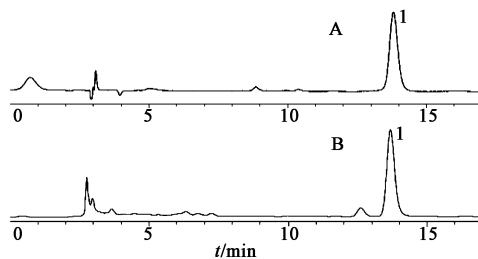
[第一作者] 段琼,从事中药化学成分结构及生物活性分析和体内药物分析, Tel: 010-84738619, E-mail: huangjm@mail.bucm.edu.cn

[通讯作者] * 黄建梅,教授,硕士生导师,从事中药化学成分结构及生物活性分析和体内药物分析, Tel: 010-84738619, E-mail: huangjm@mail.bucm.edu.cn

97.20%), 甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 从各地药材市场购买灯心草药材共 11 批, 经北京中医药大学中药学院生药系杨瑶珺副教授鉴定均为灯心草 *J. effusus* 的干燥茎髓。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent HC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (65:35), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 23 °C, 进样量 10 μL。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 去氢厄弗酚

图 1 去氢厄弗酚 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取去氢厄弗酚对照品 21.76 mg, 加甲醇适量使溶解, 置 250 mL 量瓶中甲醇定容, 得 87.04 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取供试品粉碎后过 60 目筛, 混匀, 称取粉末 0.3 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 240 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 称定质量, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察 精密量取去氢厄弗酚对照品溶液 0.2, 0.5, 1, 3, 5, 8 mL 分别置于 10 mL 量瓶, 定容稀释至刻度线, 得 1.74, 4.35, 8.70, 26.11, 43.52, 69.63, 87.04 mg·L⁻¹ 的 7 份去氢厄弗酚溶液。按照拟定的色谱条件测定, 以峰面积积分为纵坐标, 去氢厄弗酚对照品量为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程 $Y = 9.075 \times 10^6 X + 19003$ ($r = 0.9997$), 去氢厄弗酚的线性范围是 0.0174 ~ 0.8704 μg。

2.5 精密度试验 取去氢厄弗酚溶液 (26.11 mg·L⁻¹), 依上述方法, 连续进样 5 次, 测定峰面积, RSD 1.076%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一对照品及供试品 (购自贵州贵阳) 溶液, 按照所确定的测定方法分别于 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 h 按照上述方法进行测定, 记录去氢厄弗酚峰面积积分值, 测得对照品 RSD 2.357%,

供试品 RSD 1.089%, 表明对照品及供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品 (购自贵州贵阳) 粉末 0.24, 0.30, 0.36 g 各 3 份, 精密称定, 按 2.3 项下的方法操作, 制成供试品溶液, 按上述检测方法测定, 供试品的平均含量为 2.40 mg·g⁻¹, RSD 1.27%。

2.8 加样回收率试验 取供试品 (购自贵州贵阳) 精密称定 9 份, 每份 0.15 g, 每 3 份为 1 组, 分别加入高、中、低质量浓度的去氢厄弗酚对照品溶液, 按 2.3 项下的方法制备, 制成供试品溶液, 按上述检测方法测定, 根据测得量和加入量计算回收率。结果去氢厄弗酚的平均回收率 98.3% (RSD 0.61%)。

表 1 去氢厄弗酚加样回收试验

称样量 /g	供试品中含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.560 0	98.1
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.561 1	98.6
0.150 0	0.360 0	0.203 8	0.559 9	98.1
0.150 5	0.361 2	0.336 5	0.688 1	97.1
0.150 9	0.362 2	0.336 5	0.691 6	97.9
0.148 9	0.357 4	0.336 5	0.690 4	99.0
0.149 9	0.359 8	0.474 0	0.825 3	98.2
0.150 4	0.361 0	0.474 0	0.829 7	98.9
0.150 9	0.362 2	0.474 0	0.830 6	98.8

2.9 供试品含量测定 取购自不同购买地的灯心草样品按前述 2.3 项下的方法操作, 制成供试品溶液, 按上述检测方法测定, 计算供试品的含量 (表 2)。

表 2 灯心草供试品去氢厄弗酚含量测定 ($n=2$) mg·g⁻¹

No.	购买地	产地	去氢厄弗酚
1	江西	江西	2.12
2	安徽亳州	四川	2.10
3	广东广州	广东	2.60
4	黑龙江齐齐哈尔	河南	5.47
5	湖南张家界	湖北	0.54
6	河北安国	江西	1.32
7	贵州贵阳	四川	2.44
8	陕西西安	安徽	0.75
9	云南	未知	3.49
10	福建古田	福建	2.01
11	四川成都	四川	0.69

3 讨论

去氢厄弗酚为 9,10-二氢菲类, 具有联苯骨架结

构。通过 UV-vis 全波长扫描对去氢厄弗酚标准品进行测定,最大吸收波长为 270 nm 左右,故选择 270 nm 作为检测波长。

考察了甲醇-水(80:20),(70:30),(66:34),(65:35),(64:36)5 种溶剂系统,当流动相为甲醇-水(65:35)时,去氢厄弗酚与其他物质色谱峰分离度为 2.0,保留时间 13.8 min,理论塔板数大于 3 000,具有较好分离度及较短的保留时间,故选择甲醇-水(65:35)作为最终的流动相。

市售灯心草中去氢厄弗酚的含量变动范围比较大,从 0.54 mg·g⁻¹到 5.47 mg·g⁻¹。尽管含量不一,但主要集中在 2 个范围内,分别为(2.25±0.25) mg·g⁻¹和(0.66±0.11) mg·g⁻¹。灯心草中去氢厄弗酚的含量差异可能与灯心草生长环境、采收时间及存放方法及时间有关,其影响因素有待进一步的研究。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010: 137.
[2] M Della Greca, A Fiorentino, L Mangoni, et al. 9,10-Dihydrophenanthrene metabolites from *Juncus effusus* L. [J]. Tetrahedron Lett, 1992, 33(36):5257.
[3] Corsaro M M, Della Greca M, Fiorentino A, et al. Cycloartane glucosides from *Juncus effusus* [J]. Phytochem, 1994, 37(2):515.
[4] M Della Greca, A Fiorentino, P Monaco, et al. Effusides I-V: 9, 10-Dihydrophenanthrene glucosides from *Juncus effusus* L[J]. Phytochem, 1995, 40(2):533.

[5] Katsuhito S, Masao T, Yoshinori A. Phenanthrene Derivatives from the Medullae of *Juncus Effusus* L[J]. Phytochem, 1991, 30(9):3149.
[6] M Della Greca, A Fiorentino. Tetrahydropyrene Glucosides from *Juncus Effusus*[J]. Nat Prod Lett, 1995, 7(2):85.
[7] M Della Greca, A Fiorentino, P Monaco, et al. Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus* [J]. Phytochem, 1994, 35(4):1017.
[8] M Della Greca, A Fiorentino, P Monaco, et al. Juncoside I. A new cycloartanelactone glucoside from *Juncus effusus* [J]. Nat Prod Lett, 1994, 4(3):183.
[9] Michela Corsaro, M Della Greca, A Fiorentino, et al. Cycloartane glucosides from *Juncus effusus* [J]. Phytochem, 1994, 37(2):515.
[10] Li H X, Deng T Z, Chen Y, et al. Isolation and identification of phenolic constituents from *Juncus effusus* [J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 42(2):174.
[11] Shan C Y, Ye Y H, Jiang H F, et al. Study on chemical constituents isolated from *Juncus effuses* [J]. J Chin Med Mater, 2008, 31(3):374.
[12] Liao J, Zhai HF, Zhang B, et al. Anxiolytic and sedative effects of dehydroeffusol from *Juncus effusus* in Mice[J]. Planta Med, 2010, 77(5):416.
[13] 简伟杰,段琼,段天璇,等. 灯心草药材 RP-HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):60.

[责任编辑 蔡仲德]