

## HPLC 测定长喙乌头中草乌甲素的含量\*

龚云麒, 张 伟, 朱 泽

(昆明制药集团股份有限公司, 云南昆明 650021)

[摘要] 目的: 建立测定长喙乌头中草乌甲素含量的方法, 为该药用植物资源的开发利用提供科学依据。方法: 采用 HPLC 测定长喙乌头药材中草乌甲素的含量。结果: 线性范围,  $r = 0.9998$ , 草乌甲素平均加样回收率为  $RSD = 1.51\%$ 。结论: 该方法简便、快速、精密度和准确度良好。

[关键词] HPLC; 长喙乌头; 草乌甲素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2011)06—0024—04

长喙乌头为毛茛科植物长喙乌头 *Aconitum georgei* Comber. 的干燥块根, 长喙乌头产自云南西北部(中甸、丽江), 因根部芽嘴似禽类喙且较长而以“长喙乌头”为药材正名<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 长喙乌头中含有草乌甲素, 而药理研究显示草乌甲素具有显著的镇痛作用和抗炎作用, 不良反应低, 临床上主要用于治疗风湿性关节炎(OA)、类风湿性关节炎(RA)、肩周炎、腰肌劳损、四肢扭伤、挫伤等症<sup>[3-5]</sup>。由于疗效确切, 草乌甲素原料及其制剂被 2005 版、2010 版《中国药典》二部收载<sup>[6-7]</sup>。随着草乌甲素制剂在临床上的广泛应用, 作为草乌甲素提取用原料药材需求也不断增长, 因此寻找新的植物资源, 以满足草乌甲素提取已成为必须。而毛茛科是含有毒植物种类最多的科之一, 并且长喙乌头作为草乌甲素的原料药材没有规范的质量控制方法, 因此我们建立了长喙乌头中草乌甲素含量测定方法, 该方法简便、快速, 为该药用植物资源的开发利用提供科学依据。

### 1 实验材料

#### 1.1 药材

长喙乌头药材分别采集于丽江永胜、华坪、玉龙、宁蒗等地区 and 市售样品(批号 20070928、20080114), 共 10 个批次, 经昆明植物研究所李锡文教授鉴定为毛茛科植物长喙乌头 *Aconitum georgei* Comber.

#### 1.2 仪器及试剂

安捷伦 1100 液相色谱仪, SK06G 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司), BP221S 型分析天平(北京赛多利斯仪器公司)。

乙腈、磷酸为色谱纯(美国 Fisher 公司); 其余均为分析纯, 水为注射用水, 草乌甲素对照品购于中国药品生物制品检定所, 编号 100530-200501。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Phenomenex  $C_{18}$  ( $4.6 \times 250\text{mm}$ ); 0.2% 三乙胺水溶液(用磷酸调节 pH 值至  $3.1 \pm 0.1$ ) - 乙腈(65:35) 为流动相; 流速  $1.0\text{mL}/\text{min}$ ; 检测波长  $260\text{nm}$ ; 柱温  $25^\circ\text{C}$ ; 进样量:  $10\mu\text{l}$ , 理论塔板数按草乌甲素峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 1、图 2。

#### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取草乌甲素对照品适量, 加少量  $0.1\text{mol}/\text{L}$  盐酸溶解后, 加水稀释制成每  $1\text{mL}$  含  $40\mu\text{g}$  的溶液, 作为对照品溶液。

#### 2.3 供试品溶液的制备

取本品粗粉约  $0.5\text{g}$ , 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇  $50\text{mL}$ , 称定重量, 超声处理(功率  $250\text{W}$ , 频率  $35\text{kHz}$ )  $30\text{min}$ , 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

\* 收稿日期: 2011—04—14 修回日期: 2011—04—23

作者简介: 龚云麒(1981~), 男, 云南安宁人, 助理工程师, 主要从事中药质量标准研究工作。

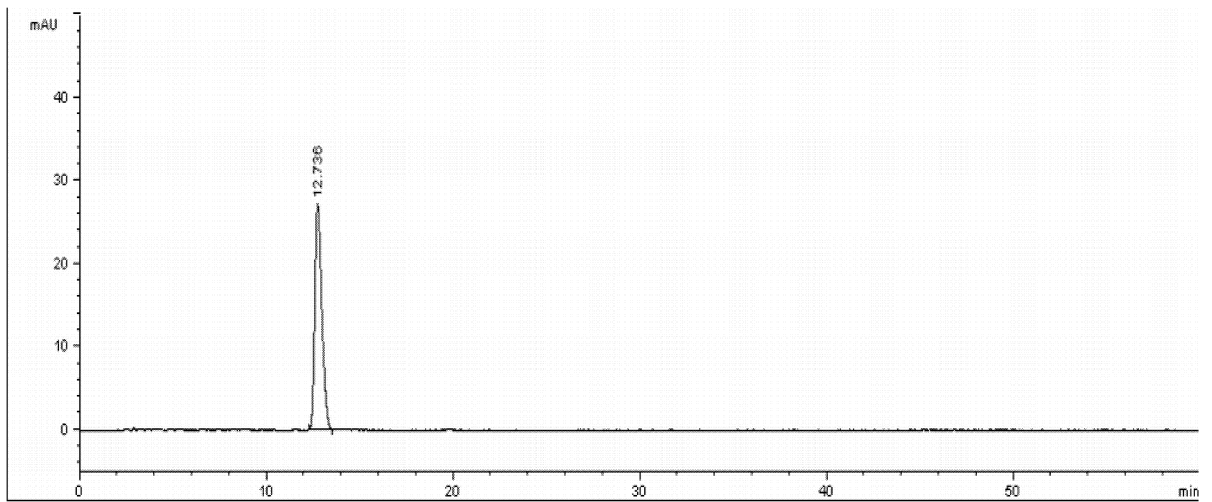


图1 草乌甲素对照品色谱图

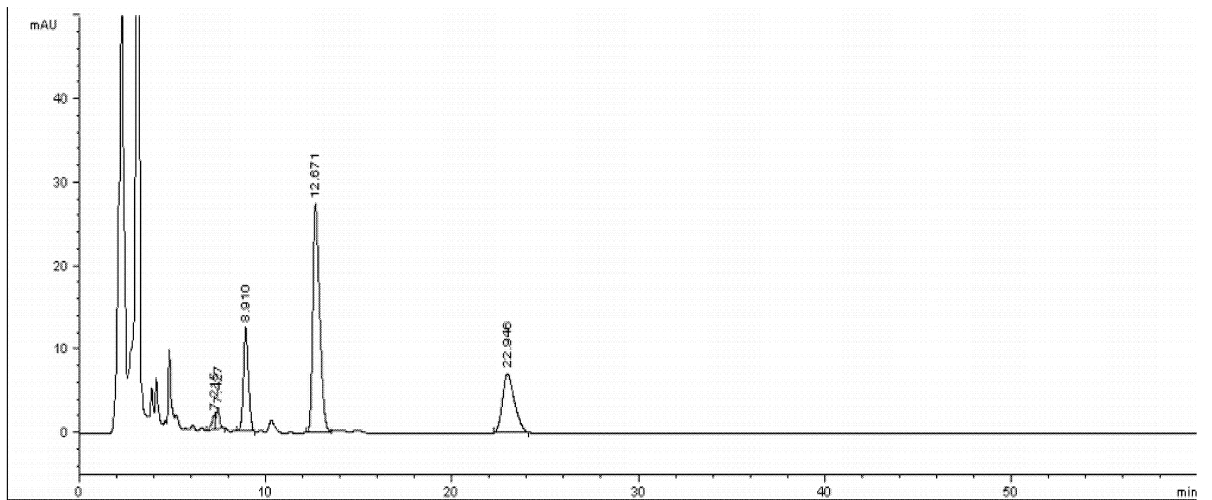


图2 长喙乌头药材色谱图

#### 2.4 线性关系考察

精密称取草乌甲素对照品 20.8mg, 加 0.1mol/L 盐酸溶解后, 加水稀释定容至 100mL 容量瓶中, 制成储备液 (0.208mg/mL), 分别精密量取储备液 2.5, 3.5, 4.0, 5.0, 5.5, 6.5, 7.5mL 分别置 25mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 配制成 20.8, 29.12, 33.28, 41.6, 45.76, 54.08, 62.4 $\mu$ g/mL 的溶液, 注入高效液相色谱仪测定峰面积, 以草乌甲素的浓度 ( $\mu$ g/mL) 为横坐标, 以峰面积的平均值为纵坐标, 进行线性回归计算, 得到线性方程:  $Y = 17.244X - 8.820$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 7$ )。结果表明在 20.8 $\mu$ g/mL ~ 62.4 $\mu$ g/mL 范围内进样测定, 峰面积和浓度呈良好线性。结果见表 1。

表1 长喙含乌头含量测定线性关系

浓度 ( $\mu$ g/mL)	峰面积 1	峰面积 2	平均峰面积 ( $n = 2$ )
62.4	1 061.8	1 061	1 061.4
54.08	930.1	927.1	928.6
45.76	784.9	781.8	783.35
41.6	711.8	712.6	712.2
33.28	558.7	557.6	558.15
29.12	496.5	493.3	494.9
20.8	350	348.8	349.4

#### 2.5 稳定性试验

分别精密吸取同一份供试品溶液于制备后 0,

2, 4, 8, 12, 24h 测定, RSD = 0.20%。表明供试品溶液在 24h 内稳定性良好。

### 2.6 重复性试验

以同一份对照品溶液连续进样 7 次, 草乌甲素峰平均保留时间 12.64min, 保留时间 RSD = 0.36%; 平均峰面积 697.66, 峰面积 RSD = 0.16%。表明仪器重复性好。

### 2.7 重现性试验

取同一份长喙乌头药材粗粉, 同时称取 6 份, 照供试液制备的方法平行提取处理, 测定草乌甲素的含量, RSD = 1.43%, 表明本法重现性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的长喙乌头药材各 0.25g, 共 9 份。分别加入适量对照品, 按 2.3 项下的方法制备和测定草乌甲素含量, 计算回收率, 数据结果见表 2, 结果表明本法回收率良好。

表 2 长喙乌头药材中草乌甲素测定加样回收率试验结果

样品	浓度/%	称样量/g	实测主药量/mg	主药加量/mg	测出量/mg	回收率/%	总平均值/%	总 RSD/%
1#		0.2549	1.0033		1.788	96.11		
2#	80	0.2481	1.0122	0.816	1.791	95.39		
3#		0.2475	1.0098		1.795	96.28		
4#		0.2513	1.0253		2.006	96.13		
5#	100	0.2596	1.0592	1.02	2.061	98.25	97.35	1.51
6#		0.2501	1.0204		2.266	97.59		
7#		0.2559	1.0441		2.266	99.80		
8#	120	0.2522	1.0290	1.224	2.225	97.69		
9#		0.2517	1.0269		2.237	98.90		

### 2.9 样品测定

取不同长喙乌头药材粉末各 0.5g, 按 2.3 项下的方法制备和测定草乌甲素含量, 结果见表 3。

表 3 长喙乌头药材含量测定结果

产地/批号	含量%	产地/批号	含量%
永胜	0.243	鹤庆	0.401
玉龙	0.212	剑川	0.513
华坪	0.579	维西	0.444
宁蒗	0.278	20070928	0.237
古城	0.271	20080114	0.411

### 3 讨论

采用 HPLC 法测定不同产地及市售长喙乌头中草乌甲素的含量, 结果显示, HPLC 法操作简便、结果可靠、重现性好、专属性强, 可用于长喙乌头中有效成分含量测定和质量控制, 也为该药用植物

资源的利用提供了科学依据。

#### [参考文献]

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 207.
- [2] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 69-70.
- [3] 唐希灿. 镇痛抗炎新药滇西喇叭碱甲 [J]. 新药与临床, 1986, 5 (2): 120-121.
- [4] 陈筱云, 夏晓玲, 熊济民, 等. 草乌甲素片镇痛抗炎作用 134 例临床观察 [J]. 云南中医中药杂志, 1996, 17 (3): 54-55.
- [5] 张源潮, 杨清锐, 尹宏恩, 等. 草乌甲素治疗骨关节炎及类风湿关节炎临床观察 [J]. 中药药理与临床, 2000, 16 (2): 43-45.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 373-374.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 510-511.
- [8] 肖培根, 王锋鹏, 高峰, 等. 中国乌头属植物药用亲缘学研究 [J]. 植物分类学报, 2006, 44 (1): 1-46.

(编辑: 岳胜难)

## HPLC Determination of Bulleyaconitine A in *Aconitum georgei*

GONG Yun - Qi, ZHANG Wei, ZHU Ze

(Kunming Pharmaceutical (Group) Co., Ltd, Kunming Yunnan 650021, China)

[**ABSTRACT**] Objective: To provide the scientific evidence of the utilization and development of *Aconitum georgei*, a method of the determination of bulleyaconitine A content in *Aconitum georgei* by HPLC was developed. Methods: The content of bulleyaconitine A in *Aconitum georgei* was determined by HPLC. Conclusion: The method was rapid, simple, sensitive, and accurate.

[**KEY WORDS**] HPLC; *aconitum georgei*; bulleyaconitine A

(上接第 23 页)

[9] Brown, G. D.; Liang, G. - Y.; Sy, L. - K., Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 64 (1): 303 - 323.

[10] Li, Y. - C.; Kuo, Y. - H., Four new compounds,

ficusal, ficusesquilignan A, B, and ficusolide diacetate from the heartwood of *Ficus microcarpa* [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2000, 48 (12): 1862 - 1865.

(编辑: 岳胜难)

## Studies on Chemical Constituents of the Fruits of *Toona sinensis* var. *schensiana*

HOU Li<sup>1,2</sup>, FU Yan - hui<sup>2</sup>, TANG Gui - hua<sup>2</sup>,  
HAO Xiao - jiang<sup>2</sup>, ZHAO Qing<sup>1</sup>, HE Hong - ping<sup>2</sup>

(1. Faculty of Pharmacy, Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650204, China)

[**ABSTRACT**] Objective: To seek for insecticidal and officinal agents from the fruits of *Toona sinensis* var. *schensiana*. Methods: The fruits of *T. sinensis* were extracted with 95% ethanol and separated by silica gel, RP - 18, Sephadex LH - 20 and HPLC. These compounds were elucidated by extensive spectroscopic analysis (MS, NMR, and so on). Results: Six compounds, [3,5 - dihydroxy - phenyl ether ( I ), kaempferol - 3 - O -  $\alpha$  - 1 - rhamnopyranoside ( II ), (2E,6E,10E) - 3,7,11,15 - tetramethylhexadeca - 2,6,10 - triene - 1,14,15 - triol ( III ), eudesm - 4(15) - ene - 1 $\beta$ ,6 $\alpha$  - diol ( IV ), ficusesquilignans A ( V ) and ficusesquilignans B ( VI )] were isolated and identified. Conclusions: Compounds III, IV, V, and VI were isolated from the plant for the first time.

[**KEY WORDS**] seliaceae; *toona sinensis* var *schensiana*; chemical constituents