

# RP-HPLC 法测定艾纳香中艾纳香素和二氢黄酮醇含量\*

## Determination of Flavanones and Flavanonols in *Blumea balsanifera* DC. by RP-HPLC

黄永林,文永新\*\*,赵志国,朱廷春

HUANG Yong-lin, WEN Yong-xin\*\*, ZHAO Zhi-guo, ZHU Ting-chun

(广西植物研究所,广西桂林 541006)

(Guangxi Institute of Botany, Guilin, Guangxi, 541006, China)

**摘要:**采用反相高效液相色谱法测定艾纳香中的艾纳香素和二氢黄酮醇含量。确定色谱条件为:色谱柱 ZORBAX XDB-C18(4.6mm×150mm,5 $\mu$ m),流动相为 V(甲醇):V(水)=60:40,流速 0.8ml/min,检测波长 290 nm,柱温为 30 $^{\circ}$ C。在此条件下,艾纳香素和二氢黄酮醇与其它组分得到良好的分离,艾纳香素的线性范围为 0.0032~0.048 $\mu$ g/ $\mu$ l( $r=0.9999$ ),二氢黄酮醇的线性范围为 0.0032~0.048 $\mu$ g/ $\mu$ l( $r=0.9993$ );艾纳香素和二氢黄酮醇的精密度 RSD( $n=5$ )分别为 1.08%和 1.26%,平均回收率( $n=5$ )达 98.36%和 97.86%。

**关键词:**艾纳香 艾纳香素 二氢黄酮醇 反相高效液相色谱法

中图分类号:O657.72;Q946 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2007)02-0140-03

**Abstract:** The methods of determination flavanones and flavanonols in *Blumea balsanifera* DC. by HPLC was established in this thesis. The following HPLC conditions are the best: column: ZORBAX XDB-C18 (4.6mm×150mm,5 $\mu$ m); mobile phase: V(methanol):V(water)=60:40; flow rate:0.8ml/min; detection wavelength:290nm; temperature:30 $^{\circ}$ C. Flavanones and flavanonols were separated thoroughly from other components on this condition, the linearity of flavanones was obtained within the range of 0.0032 $\mu$ g/ $\mu$ l and 0.048 $\mu$ g/ $\mu$ l( $r=0.9999$  respectively), the linearity of flavanonols was obtained within the range of 0.0032 $\mu$ g/ $\mu$ l and 0.048 $\mu$ g/ $\mu$ l( $r=0.9993$  respectively); the RSD of flavanones and flavanonols for exactitude degree were 1.08% and 1.26% respectively ( $n=5$ ); average recoveries were 98.36% and 97.86% respectively ( $n=5$ ).

**Key words:** *Blumea balsanifera* DC., flavanones, flavanonols, RP-HPLC

艾纳香(*Blumea balsanifera* DC.)又称大风艾、大艾、冰片艾等,属菊科多年生木质草本植物,为壮族民间草药,主产于广西西南部和云南东南部及贵州、广东等省。艾纳香叶和嫩枝及根均可药用,具有清热利尿祛风消肿、消炎镇痛、温中活血之功效,可用于治疗寒湿泻痢、腹痛肠鸣、跌打刀伤和高血压等症<sup>[1]</sup>。林

永成等对艾纳香中的黄酮类成分进行了研究,发现艾纳香素和二氢黄酮醇为艾纳香植物中的主要成分<sup>[2,3]</sup>,现代药理学研究表明艾纳香素和二氢黄酮醇对大鼠均具有较好的肝保护作用以及较强的抑制脂质过氧化作用<sup>[4,5]</sup>。黄永林等<sup>[6]</sup>采用紫外分光光度法对艾纳香中的总黄酮进行过含量测定,但采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)对艾纳香中艾纳香素和二氢黄酮醇进行含量测定的方法尚未见有报道,本文对艾纳香中艾纳香素和二氢黄酮醇的含量进行了 RP-HPLC 法研究,为艾纳香药材质量标准的制定及合理开发利用提供科学依据。

收稿日期:2007-01-08

修回日期:2007-03-02

作者简介:黄永林(1974-),男,助理研究员,主要从事天然产物开发利用研究。

\* 广西自然科学基金(桂科基 0448087)和广西科技攻关(桂科攻 0630002-4B)资助项目。

\*\* 通讯作者。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与材料

仪器: Agilent-1100 分析型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司生产), 索氏提取器及普通玻璃器皿, 超纯水仪(Millipore 公司生产)。

试剂: 色谱纯甲醇(美国 TEDIA 公司生产)。水为超纯水(自制), 其他试剂均为 AR 级。艾纳香素和二氢黄酮醇对照品(本实验室自制, TLC 的 R<sub>f</sub>、IR、UV、NMR 值均与文献[7]一致, 液相色谱峰为单峰, 纯度达到 99.5% 与 99.2%)。

材料: 采自广西天峨县, 经广西植物研究所分类室韦发南研究员鉴定为菊科植物艾纳香 (*Blumea balsanifera* DC.) 的干燥地上部分。

### 1.2 对照品溶液配制

精密称取艾纳香素和二氢黄酮醇对照品各 10.0 mg, 置于同一 50 ml 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制备成每 ml 各含 0.2 mg 的对照品储备溶液。分别精密吸取上述对照品储备溶液 0.8、1.5、3.0、6.0、12.0 ml 于 50 ml 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液制成系列浓度的对照品溶液备用。

### 1.3 供试品溶液制备

精密称取样品 1 g(过 40 目筛)于 100 ml 锥形瓶中, 先后加入甲醇 100ml, 80ml 超声提取 2 次, 第一次 2h, 第二次 1h, 滤过, 合并滤液加甲醇定容至 250ml, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液作为供试品溶液备用。

### 1.4 波长确定

通过二极管阵列检测器在 190~950nm 对艾纳香素及二氢黄酮醇对照品溶液进行光谱波谱图的扫描, 扫描结果在 200nm 及 290nm 波长附近有较强吸收, 但在靠近 200nm 波长附近易产生溶剂干扰吸收, 所以本检测选用 290nm 作为检测波长。

### 1.5 色谱条件选择

艾纳香素和二氢黄酮醇均为黄酮类化合物, 可选用反相色谱对其进行分离, 我们考察了色谱柱: ZORBAX XDB-C18 柱(4.6mm × 150mm, 5 μm) 及 ZORBAX SB-C18 柱(4.6mm × 150mm, 5 μm), 甲醇/水、乙腈/水体系对其分离的影响, 最后选择 ZORBAX XDB-C18(4.6mm × 150mm, 5 μm) 柱、流动相: V(甲醇)/V(水)(60:40)、流速为 0.8ml/min、检测波长为 290nm、柱温为 30℃、进样量: 10 μl 作为测定艾纳香素和二氢黄酮醇的色谱条件, 对照品和供试品溶液的色谱见图 1 和图 2。

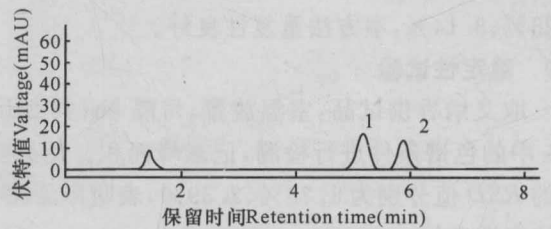


图 1 对照品溶液色谱

Fig. 1 Chromatogram of standard sample

1. 二氢黄酮醇; 2. 艾纳香素  
1. flavanonols; 2. flavanones

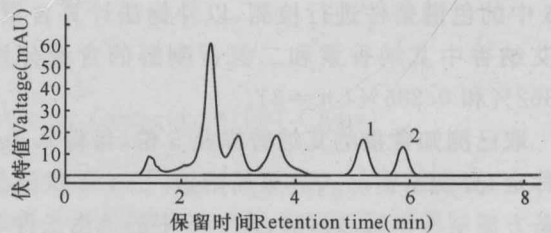


图 2 供试品溶液色谱

Fig. 2 Chromatogram of sample

1. 二氢黄酮醇; 2. 艾纳香素  
1. flavanonols; 2. flavanones

在上述色谱条件下艾纳香素和二氢黄酮醇均得到基本分离, 保留时间分别为 5.7min 与 5.1min。供试品溶液与对照品溶液中艾纳香素和二氢黄酮醇的保留时间一致。

### 1.6 标准曲线绘制

吸取上述系列浓度的对照品溶液, 按 1.5 中的色谱条件进行检测, 记录色谱图, 测定其峰面积, 以峰面积  $Y$  对进样质量浓度  $X$  ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) 绘制标准曲线。计算得回归方程为: 艾纳香素  $Y = 26816X - 6.7464, r = 0.9999$ ; 二氢黄酮醇  $Y = 30406X + 15.289, r = 0.9993$ 。艾纳香素和二氢黄酮醇质量浓度在  $0.0032 \sim 0.048 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  范围内线性关系良好。

### 1.7 精密度试验

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液, 按 1.5 中的色谱条件, 分别连续进样 5 次, 测定峰面积, 结果对照品溶液的艾纳香素和二氢黄酮醇的平均峰面积为 629.5 和 770.2,  $RSD$  值分别为 1.08% 和 1.26% ( $n = 5$ ); 供试品溶液的艾纳香素和二氢黄酮醇的平均峰面积为 367.1 和 423.0,  $RSD$  值分别为 2.18% 和 2.26% ( $n = 5$ )。本实验使用的仪器精密度良好。

### 1.8 重复性试验

取 5 份艾纳香样品, 按 1.3 供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 在 1.5 的色谱条件下进行检测, 计算艾纳香素和二氢黄酮醇含量, 考察方法重复性。结果艾纳香素和二氢黄酮醇的  $RSD$  值分别为

2.25%、3.14%，本方法重复性良好。

### 1.9 稳定性试验

取艾纳香供试品，室温放置，每隔 8h(共 24h)按 1.5 中的色谱条件进行检测，记录峰面积。结果峰面积的 RSD 值分别为 1.78%、2.39%，表明样品在 24h 内稳定性良好。

### 2 样品测定

取艾纳香样品，按 1.3 供试品溶液的制备和按 1.5 中的色谱条件进行检测，以外标法计算含量，结果艾纳香中艾纳香素和二氢黄酮醇的含量分别为 0.362% 和 0.385% ( $n=3$ )。

取已测知含量的艾纳香样品 5 份，每份 0.5g，精密称定，分别精密加入对照品溶液，按 1.3 供试品的制备方法制备供试品溶液，在 1.5 中的色谱条件下进行检测，计算回收率的结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Table 1 Determination results of recovery

编号 NO.	加入艾纳香素* Added flavanones and flavanonols (mg)	回收率* Recovery (%)	平均回收率* Average recovery (%)	RSD* (%)
1	2.0(2.0)	98.50(97.80)	98.36(97.86)	0.78(0.88)
2	2.0(2.0)	97.60(98.76)		
3	2.0(2.0)	97.73(96.83)		
4	2.0(2.0)	99.53(98.67)		
5	2.0(2.0)	98.45(97.20)		

\* 括号内的数值是二氢黄酮醇的测定结果。

\* In the parenthesis value is the flavanonols determination result.

由表 1 可知，艾纳香素与二氢黄酮醇的加样回收率分别为 98.36% 和 97.86%，RSD 分别为 0.78% 和 0.88%，说明该检测方法可靠。

### 3 结论

在色谱条件为 ZORBAX XDB-C18 (4.6mm ×

150mm, 5 $\mu$ m) 柱、流动相: V(甲醇)/V(水)(60:40)、流速为 0.8ml/min、检测波长为 290nm、柱温为 30 $^{\circ}$ C 时，艾纳香样品中艾纳香素和二氢黄酮醇的色谱峰与其它组分得到了良好分离，且对艾纳香素和二氢黄酮醇有重复性高、稳定性好、准确度高等优点。RP-HPLC 法可用于艾纳香中艾纳香素和二氢黄酮醇的含量检测。

### 参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [2] 林永成, 龙康侯, 邓一军. 中药艾纳香化学成分研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1988, 27(2): 77-78.
- [3] 邓芹英, 丁丛梅, 张维汉, 等. 艾纳香中黄酮化合物的研究[J]. 波谱学杂志, 1996, 13(5): 76-78.
- [4] 许实波, 赵金华. 艾纳香二氢黄酮对大鼠实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 1998, 14(2): 191-192.
- [5] 许实波, 陈卫夫, 梁惠卿, 等. 艾纳香素对实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学报, 1993, 14(4): 376-378.
- [6] 黄永林, 赵志国, 文永新. 不同部位艾纳香中总黄酮的含量测定[J]. 广西植物, 2006, 26(4): 453-455.
- [7] FAZILATUN NESSA, ZHARI ISMAIL, NORNISAH MOHAMED, et al. Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC. leaves[J]. Food Chemistry, 2004, 88: 243-252.

(责任编辑: 韦廷宗 邓大玉)

## 热带地区云层对流影响降水率

美国气象学家在分析 CloudSat 卫星传回的第一次数据时发现: 热带地区的云层对流影响降水率。

CloudSat 卫星是由美国宇航局在 2006 年 4 月发射的, 用于探测高空云层内部的水和冰的情况。科罗拉多州大学大气科学系的 John Haynes 和 Graeme Stephens 对 CloudSat 卫星传回地面的前 3 个月的数据进行分析, 发现 CloudSat 卫星探测到 18% 的云层会产生降水, 而且在监测的所有区域中, 降水云层比非降水云层与空气对流单体更相关。同时, 他们还发现, 在热带海洋区域, 帽状云集中在 1.2 到 7.5 英里的海拔高度, 也正是降水云层聚集的区域, 也有一些数据显示有零星的帽状云层出现在 3.7 英里的高空。在气柱中存在对流的区域出现最明显的中度降水。

(据科学网)