

不同产地附子中附子灵和宋果灵含量的比较

蒋 荡¹, 侯大斌¹, 邓文伟¹, 刘向鸿², 赵祥升³

(1. 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 甘肃省庆阳市林木种苗管理站, 甘肃 庆阳 745000;

3. 中国医科学院 药用植物研究所 海南分所, 海南 万宁 571533)

摘 要:以不同产地的附子为试材, 采用高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)对不同产地附子中附子灵和宋果灵的含量进行了比较研究。结果表明: 附子灵和宋果灵 2 种生物碱在 0.116~1.16 $\mu\text{g/mL}$ 、0.25~2.50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内标准曲线呈良好线性关系, 相关系数分别为 0.9998、0.9992, 平均加样回收率为 99.1%、99.7%; 不同产地附子中附子灵和宋果灵的含量存在较大差异, 四川江油的含量最高, 陕西城固的最低。该方法简便快速, 结果准确, 重复性好, 灵敏度高, 可用于附子灵和宋果灵含量的同时测定, 并为附子质量控制研究提供了更加合理可靠的检测方法。

关键词:高效液相色谱-质谱法; 乌头; 附子灵; 宋果灵; 含量测定

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0159-03

附子为毛茛科植物乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx)的子根, 为传统中药, 主要有强心、降压、消炎及抗癌^[1]等功效。附子灵和宋果灵具有杀虫、镇痛、降压^[2]作用, 是其主要活性成分, 过去人们对附子生物碱定量分析方面主要集中在乌头碱(Aconitine, AC)、新乌头碱(Mesaconitine, MA)和次乌头碱(Hypaconitine, HA) 3 种^[3-7], 其它的成分鲜见报道。而对不同产地附子中的附子灵和宋果灵含量同时测定的研究更鲜见报道。该试验利用 HPLC-MS 对不同产地的附子中附子灵与宋果灵含量进行了测定, 该方法简便快速, 重现性好, 为附子中附子灵与宋果灵含量的测定和成分研究提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料采购于四川布拖、江油、陕西勉县、城固、云南禄劝附子 GAP 基地, 经西南科技大学侯大斌教授鉴定为乌头的子根。

仪器: Varian 1200LC/MS 高效液相仪(美国 Varian 公司); KQ5200 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

试剂: 附子灵与宋果灵均由西南科技大学四川省物

质资源利用与改性工程技术中心自制(纯度均大于 98%); 所用试剂除甲醇为色谱纯(美国 Fedia 公司)外, 其余均为分析纯; 水为超纯水。

表 1 附子药材产地及来源

Table 1 Origin source of daughter roots of *Aconitum carmichaeli*

编号	产地	来源
S1	四川布拖	栽培
S2	陕西勉县	栽培
S3	陕西勉县	栽培
S4	陕西城固	栽培
S5	陕西城固	栽培
S6	云南禄劝	栽培
S7	四川北川	栽培
S8	四川北川	栽培
S9	四川平武	栽培
S10	四川江油	栽培

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 美国 polarisC18(2.0 mm×50 mm, 5.0 μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇: 水(80: 20)等度洗脱; 流速: 0.2 mL/min; 检测波长: 240 nm; 柱温: 30℃。

1.2.2 质谱条件 ESI 源; 正离子检测, 检测电压 1 200 V, 挡板电压 500 V, 毛细管电压 60 V, 干燥气温度 350℃, 四极杆质量分析器, 采用选择离子模式检测, 扫描值: m/z 454(附子灵)、358(宋果灵), 保留时间分别为 3.786、3.577 min。

1.2.3 供试品溶液制备 将附子药材烘干粉碎, 过 60 目筛, 取 0.1 g, 用甲醇定容至 60 mL, 35℃ 超声 50 min, 称重补足后贮于 100 mL 容量瓶中, 取适量用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得附子供试品溶液。

1.2.4 对照品溶液制备 称取对照品附子灵 2.9 mg 和宋果灵 2.5 mg, 置同一个 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀, 得附子灵 0.116 mg/mL、宋果灵 0.25 mg/mL

第一作者简介:蒋荡(1986-), 男, 在读硕士, 研究方向为植物分子生物学及中药质量标准研究。

责任作者:侯大斌(1965-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 现主要从事植物分子生物学及中草药质量标准等研究工作。E-mail: dbhou@126.com。

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划重大专项资助项目(2007BAD89B15)。

收稿日期:2012-12-13

的混合对照品溶液。

2 结果与分析

2.1 质谱分析结果

按照质谱条件进行分析,所得质谱图见图1。由图1可知,色谱条件分离效果好,方便快捷、稳定。

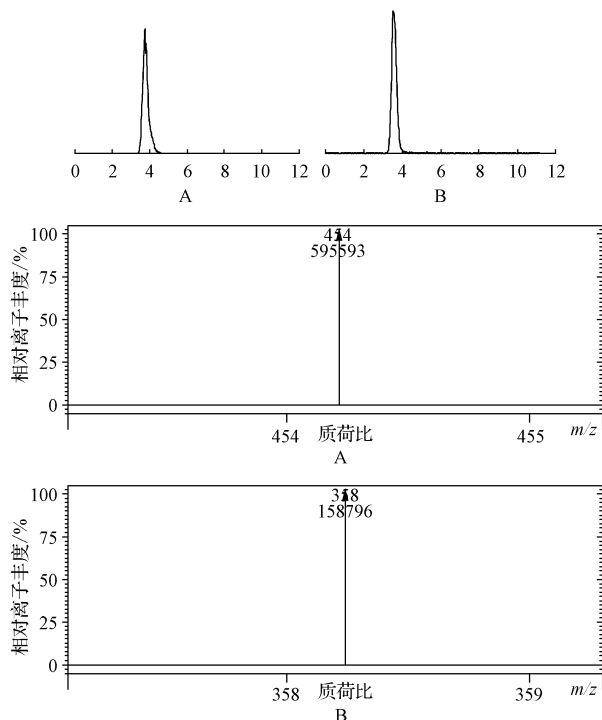


图1 附子灵(A)和宋果灵(B)样品的质谱图

Fig. 1 Mass spectrum of fuziline(A) and songorine(B)

2.2 线性关系研究

将所配的附子灵(0.116 mg/mL)和宋果灵(0.25 mg/mL)的混合溶液稀释100、200、400、600、800、1000倍,依次平行3次,进样量5.0 μ L,以3次进样峰面积的平均值为纵坐标,对照品的浓度为横坐标,在上述浓度范围内峰面积与对照品浓度成正比,附子灵和宋果灵的回归方程和相关系数分别为: $Y=5.792 \times 10^6 X + 6.385 \times 10^5$, $r=0.9998$; $Y=1.838 \times 10^6 X - 6.62 \times 10^5$, $r=0.9992$,线性范围分别为0.116~1.16 μ g/mL、0.25~2.50 μ g/mL。

2.3 精密度试验

吸取附子供试品溶液5.0 μ L,重复进样6次,进行测定,附子灵和宋果灵峰面积积分值的RSD分别为1.7%、2.4%。

2.4 稳定性试验

吸取附子供试品溶液,在8 h之内每隔1 h进样测定,结果附子灵和宋果灵峰面积积分值的RSD分别为1.5%、1.9%,表明附子灵和宋果灵在8 h之内稳定性良好。

2.5 重复性试验

称取附子粉末6份,每份0.1 g,制备供试品溶液后

进行测定,记录峰面积,计算附子灵和宋果灵的含量,RSD分别为2.4%、2.9%,表明试验的重复性优良。

2.6 加样回收率试验

称量附子干燥粗粉末0.1 g共5份,每份分别准确加入各标准储备液,使附子灵和宋果灵的加入量分别为35、25 μ g进行测定。结果表明附子灵和宋果灵的平均加样回收率($n=5$)分别为99.1%、99.7%;RSD分别为1.21%、1.16%。

2.7 样品测定

取供试品溶液5 μ L进行检测,由表2可知,不同产地的附子中附子灵和宋果灵含量存在较大差异。四川江油的附子中附子灵和宋果灵含量最高,由此可验证四川江油附子的道地性。陕西城固附子中2种生物碱含量最低。

表2 不同产地附子中附子灵和宋果灵的含量($n=3$)

Table 2 Contents of fuziline and songorine from daughter roots of *Aconitum carmichaeli* produced from different areas ($n=3$) mg/g

编号	附子灵	宋果灵
S1	0.39	0.30
S2	0.37	0.26
S3	0.32	0.25
S4	0.28	0.18
S5	0.34	0.29
S6	0.32	0.30
S7	0.34	0.24
S8	0.42	0.32
S9	0.46	0.31
S10	0.49	0.38

3 讨论

附子灵和宋果灵分子结构中没有较强的紫外吸收基团,因此,在整个紫外区的吸收强度都比较弱。只有在240 nm左右有吸收峰,但吸收强度较弱,且只有溶剂峰。可见,用RP-HPLC测定附子灵和宋果灵含量是不科学的^[8]。液质联用技术能够将色谱的强分离性能与质谱的强鉴定有时结合,克服了色谱检测中对紫外吸收比较弱和弱的缺点。因此,用HPLC-MS测定附子灵和宋果灵的含量较为适合。该试验利用HPLC-MS对附子中附子灵与宋果灵含量进行了测定,该方法简便快速,重现性好,为附子中附子灵与宋果灵含量测定和成分研究提供了科学的依据。

参考文献

- [1] 严永清,余传隆,黄泰康,等. 中药辞海[M]. 2卷. 北京:中国医药科技出版社,1996:466.
- [2] 杨秀伟. 生物碱[M]. 北京:化学工业出版社,2005:357-358.
- [3] Chen H C, Wang X K, Zhao T F, et al. Chemical constituents from *Aconitum carmichaeli*[J]. Natural Product Research and Development, 2003, 15(4):324-325.
- [4] Liu F, Yu X Y, Li F, et al. Determination of three kinds of diester diterpenoid alkaloids (DDAs) in *Aconitum carmichaeli* and its processed products by HPLC[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2006, 31(14):1160-1163.

五种果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗促根效果的影响

李国树^{1,2}, 徐成东^{1,2}, 尚正丽¹, 赵仁升¹, 龙雨跃¹

(1. 楚雄师范学院 化学与生命科学系, 云南 楚雄 675000; 2. 滇中高原生物资源开发与利用研究所, 云南 楚雄 675000)

摘 要:为探究不同果蔬提取物对铁皮石斛原球茎分化苗的促根效果, 选用 100 g/L 的香蕉、马铃薯、苹果、番茄、椰子 5 种果蔬提取物对铁皮石斛原球茎分化苗进行诱根研究。结果表明: 5 种提取物对铁皮石斛原球茎分化苗均具有促进根系生长的作用, 其中以 100 g/L 的香蕉提取物诱导根效果最佳, 生根时间 30 d, 平均生根条数 8.7 条、平均根系长度达 6.4 cm; 其次是马铃薯和苹果提取物; 番茄与椰子提取物的促根效果相对较差。

关键词:铁皮石斛; 果蔬提取物; 生根培养; 促根效果

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0161-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 属兰科石斛属多年生草本植物, 又名黑节草, 是传统的

名贵中药材, 具有养阴生津、温胃润肺、抗癌防老等功效^[1-3]。近年来由于过量采挖、生境的严重破坏, 造成其野生资源已濒临灭绝, 被列为国家重点保护的药材品种^[4-5]。为保护与利用这一珍稀中药, 国内外科科研机构及有关人员都进行了大量的研究。陈青青等^[6]以铁皮石斛试管苗为试材, 研究了不同 pH、光照强度和温度对铁皮石斛苗长势和生根的影响; 蒋波等^[7]对铁皮石斛原球茎生长分化及生根壮苗进行了研究; 刘骅等^[8]对铁皮石斛试管苗壮苗培养基进行了研究。但是用不同果蔬

第一作者简介:李国树(1969-), 男, 彝族, 云南永仁人, 硕士, 高级实验师, 现主要从事植物学及植物资源开发与利用研究工作。

基金项目:云南省植物学重点学科资助项目; 云南省高校科技创新团队支持计划资助项目; 植物学重点实验室建设资助项目(05YJJXK03); 云南省应用基础研究计划资助项目(2008CD218)。

收稿日期:2012-11-02

[5] Zhang Q Y, Zhu Z J, Yu R Y, et al. Determination of aconitine, mesaconitine, hypaconitine in Radix Aconitilaterialis preparata by IP-LC[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2007, 13(12): 1-3.

[6] Liu Y L, Liu S K, Fei Q, et al. Simultaneous content determination of aconitine, hypaconitine and mesaconitine in Fuzi by HPLC[J]. China Pharmacy, 2006, 17(16): 1255-1257.

[7] Wang R, Sun Y K, Wang Y, et al. Determination of three aconitum alkaloids in Radix Aconiti Lateralis and its prepared materials by HPLC[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007(7): 1078-1080.

[8] Eunhee W W, Richard M, Edward A S, et al. Quantitative determination of perifosine, a novel alkylphosphocholine anticancer agent, in human plasma by reversed-phase liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2001, 759: 247-257.

Study on Content Comparison of Fuziline and Songorine from Daughter Roots of *Aconitum carmichaeli* Produced from Different Areas

JIANG Dang¹, HOU Da-bin¹, DENG Wen-wei¹, LIU Xiang-hong², ZHAO Xiang-sheng³

(1. College of Life Science, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010; 2. Forest Seedling Management Station of Qingyang in Gansu Province, Qingyang, Gansu 745000; 3. Hainan Branch, Medical College of Chinese Medicinal Plant Research Institute, Wanning, Hainan 571533)

Abstract: Taking daughter roots of *Aconitum carmichaeli* produced from different areas as materials, the content of fuziline and songorine were analyzed using HPLC-MS method. The results showed that there had a strong linear correlation between the peak and the concentration of the fuziline and songorine within test ranges, with correlation coefficients 0.9998, 0.9992 and average recovery rates of 99.1%, 99.7% respectively. The content of fuziline and songorine was different in daughter roots of *Aconitum carmichaeli* produced from different areas, among which Jiangyou of Sichuan was the highest, Chenggu of Shaanxi was the lowest. The developed method was sensitive, accurate and suitable for the quality control of daughter roots of *Aconitum carmichaeli*.

Key words: HPLC-MS; *Aconitum carmichaeli* Debx; fuziline; songorine; quantitative determination