

毛萼香茶菜二萜化合物的高效 液相色谱定量分析

阮德婧 王德祖 李春葆

(中国科学院昆明植物研究所)

摘要 本文报道用HPLC分离测定毛萼香茶菜 (*Rabdosia eriocalyx*) 中的二萜化合物。总二萜提取物在zorbax ODS柱上, 用甲醇-水 (70:30) 作流动相, 毛萼晶乙、毛萼晶丙等五个化合物在18分钟内能很好分离。以odonicin为内标, 用峰面积比测定各组份的含量。结果符合一般含量测定的要求, 此法可作为香茶菜二萜化合物一类生物活性物质的分析及发现新二萜化合物的前导性有效筛选手段。

关键词 毛萼香茶菜; 二萜化合物; 定性和定量分析; 高效液相色谱

香茶菜属 (*Rabdosia*) 植物中的二萜成分具有抗肿瘤等多种生理活性。该属植物我国约九十余种, 其中云南省有五十余种之多, 且资源丰富。因此对香茶菜属植物的二萜成分进行系统研究, 对开发利用我国, 特别是我省药用植物资源, 具有重要的实用意义和经济价值。本文报道用HPLC技术对毛萼香茶菜中的毛萼甲素、毛萼乙素^[1]、odonicin、毛萼晶乙和毛萼晶丙^[2]等五个化合物 (图1) 的定性定量分析研究, 找到该类化合物分析的较好条件, 并据此进行了香茶菜植物中二萜成分的微量快速分析的初步尝试。

实验结果表明, 此法可作为香茶菜属植物中二萜成分的分析及发现新二萜化合物的前导性有效筛选手段, 对加速香茶菜属植物二萜成分的系统研究, 发掘新的药物资源具有一定意义。

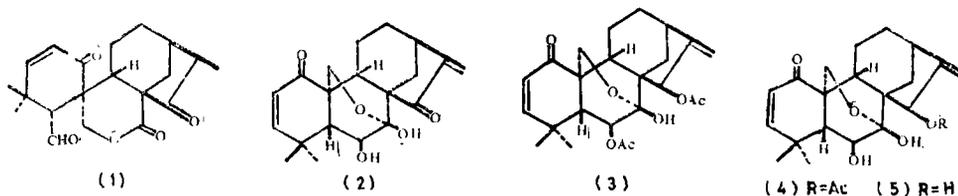


图1 毛萼香茶菜的五个二萜化合物结构图

Fig 1. The structures of five compounds of diterpenoids from *Rabdosia eriocalyx*

- (1) 毛萼甲素 (eriocalyxin A); (2) 毛萼乙素 (eriocalyxin B); (3) onodinin;
(4) 毛萼晶乙 (maoecrystal B); (5) 毛萼晶丙 (maoecrystal C)。

本文于1985年9月9日收到。

实验部分

1. 仪器与条件

岛津LC-4A高效液相色谱仪, C-R3A数据处理机; 色谱柱 zorbax ODS 250mm × 4.6mm; 室温20°C, 流动相, 甲醇-水 (70:30); 流速, 0.65 ml/min; 压力, 130 kg/cm²; 检测器, SPD-2AS; 波长230 nm; 灵敏度, 0.08 AUFS。

2. 样品与试剂

标准样品: 毛萼甲素, 毛萼乙素, odonicin, 毛萼晶乙, 毛萼晶丙。(由本室唇形科香茶菜属二萜化合物研究组提供)。试剂: 甲醇(分析纯, 成都化学试剂厂生产); 水: 二次重蒸水。样品: 采自云南省丽江市蟠龙公社金沙江河谷的毛萼香茶菜叶。

3. 方法与结果

(1) 定性分析

标准溶液的配制 用甲醇配制的标准样品浓度为: 毛萼甲素 0.212 mg/ml, 毛萼乙素 0.216 mg/ml, odonicin 0.200 mg/ml, 毛萼晶乙 0.220 mg/ml, 毛萼晶丙 0.202 mg/ml。分别吸取毛萼甲素 1.5 ml, 毛萼晶丙 1.5 ml, 毛萼乙素 2 ml, odonicin 2 ml, 毛萼晶乙 3 ml 混合而成, 置于 10 ml 容量瓶中, 作为标准溶液。

峰面积与浓度的线性关系 在定量测定范围内, 五种二萜组份的浓度与峰面积均呈线性关系 (图 2)。

分离条件的选择 改变流动相的组成, 当水的比例从 20%—30%, 流速从 0.4 ml/min 增为 0.65 ml/min 时, 分离也随之改善, 五种成分均能完全分离 (图 3) [4]。当水为 20% 时, odonicin 与毛萼晶乙分离不完全; 水为 25% 时, 两者略有重叠, 毛萼甲素与毛萼晶乙分离也无明显改善; 当水为 30% 时, odonicin 与毛萼晶乙分离良好, 而毛萼甲素与毛萼晶丙分离不完全, 看来主要是标样纯度不够之故。

(2) 定量分析

内标校正因子的测定 以 odonicin 为内标, 测得峰面积重量校正因子 (表 2)。

样品溶液的配制与含量测定 用 50 万分之一感量天秤称取毛萼香茶菜叶的总二萜成分 10.25 mg, 溶于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 微量注射器进样 5 μl, 数据处理机计算出总二萜中毛萼甲素, 毛萼乙素, odonicin, 毛萼晶乙, 毛萼晶丙的含量 [3]。

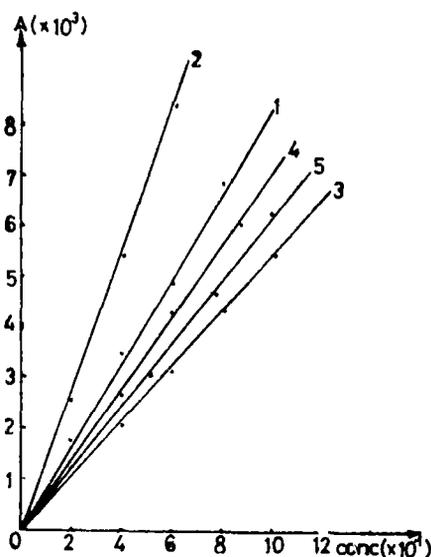


图 2 校正曲线

Fig 2. Calibration curve

- 1 eriocalyxin A; 2 eriocalyxin B;
3 odonicin; 4 maoecrystal B;
5 maoecrystal C.

(色谱图见图 4, 含量测定结果见表 3)。

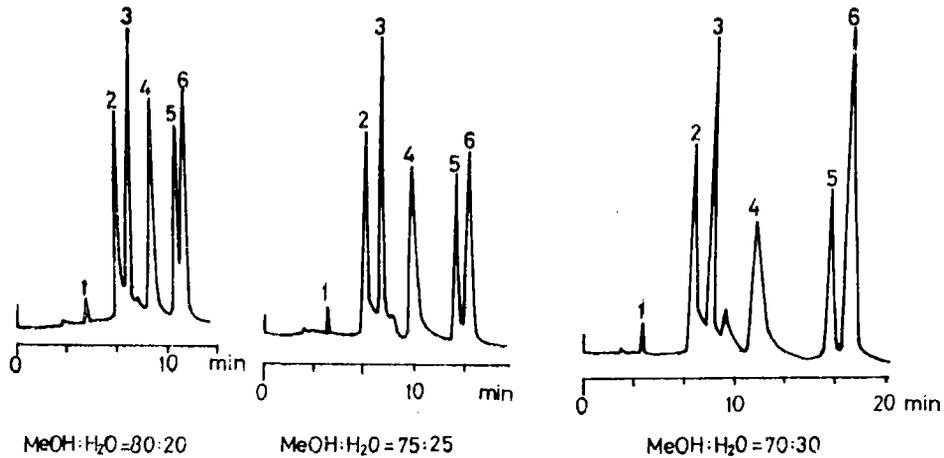


图 3 不同流动相比比例的标准样品色谱图

Fig. 3. Standard sample chromatogram of varied rate in the mobile phase

1. 溶剂 solvent; 2. 毛萼甲素 eriocalyxin A; 3. 毛萼晶丙 maoecrystal C; 4. 毛萼乙素 eriocalyxin B; 5. odonicin; 6. 毛萼晶乙 maoecrystal B。

表 1 标准样品色谱数据

Table 1. Standard sample chromatographic data*

peak No.	样品名称 sample name	保留时间 retention time(min)	K'	α	R_s
1	毛萼甲素 eriocalyxin A	6.945	0.880	3.246	4.990
2	毛萼晶丙 maoecrystal C	8.186	1.213	1.370	1.241
3	毛萼乙素 eriocalyxin B	11.042	1.985	1.636	1.904
4	odonicin	15.906	3.300	1.662	3.243
5	毛萼晶乙 maoecrystal B	17.106	3.624	1.098	0.902

* 色谱数据均为三次平均值

表 2 毛萼香茶菜二萜化合物内标校正因子

Table 2. Response factor of diterpenoids from *Rabdosia eriocalyx* in internal standard method

样品名称 sample name	保留时间 retention time(min)	校正因子 response factor	相对标准偏差 relative standard deviation
毛萼甲素 eriocalyxin A	6.944	0.87770	2.50
毛萼晶丙 maoecrystal C	8.184	0.73600	1.39
毛萼乙素 eriocalyxin B	11.042	0.85720	3.39
odonicin	15.907	1.38372	1.25
毛萼晶乙 maoecrystal B	17.104	0.72655	1.56

表3 毛萼香茶菜总二萜含量测定结果
Table 3. Content of components in the total diterpenoids

样品名称	在总二萜中的含量 (%)	变异系数
sample name	content (%)	CV (%)
eriocalyxin A	2.35	3.57
maocrystal C	2.91	9.58
eriocalyxin B	3.24	0.48
odonicin	8.86	0.02
maocrystal B	43.47	0.09

讨论

应用高效液相色谱法直接测定毛萼香茶菜总二萜中的毛萼甲素, 毛萼乙素, odonicin, 毛萼晶乙, 毛萼晶丙的含量, 方法简便, 快速、微量。结果符合一般含量测定的要求。

标样的纯度直接影响含量测定的准确度。毛萼甲素与毛萼晶丙的纯度较差, 测得的变异系数较大。毛萼乙素, odonicin, 毛萼晶丙的纯度较佳, 其变异系数较小, 结果较为满意。

应用HPLC技术, 作为ent-kaurenoid二萜化合物一类生物活性物质分析研究的新方法, 具有一定的应用价值。

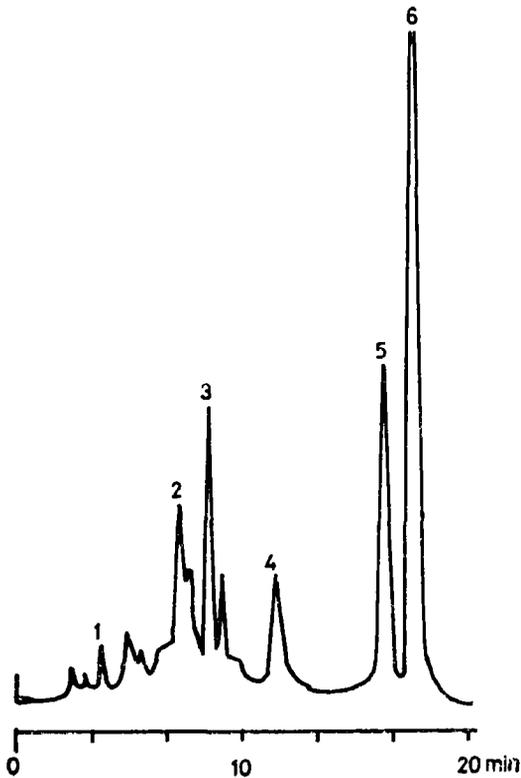


图4. 总二萜色谱图

Fig 4. Total diterpenoids chromatogram

1. solvent; 2. eriocalyxin A,
3. maocrystal C; 4. eriocalyxin B,
5. odonicin; 6. maocrystal B.

参考文献

- [1] 王宗玉、许云龙, 1982: 云南植物研究, 4(4):407—411。
[2] 李春葆、孙汉莹、周俊, 1985: 云南植物研究, 7(1):115—116。
[3] 孙定一、韩正涛、陈新民, 1983: 第四次全国色谱学术报告会文集, 369, 中国化学会、中国仪表学会、中国科学院化学部, 上海。
[4] Girish, K., Trivedi and Isao Kubo, 1979, *Journal of Chromatography*, (179): 219—221.

THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF DITERPENOIDS FROM RABDOSIA ERIOCALYX BY HPLC

Ruan Dechun, Wang Dezu and Li Chunbao

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract This paper reported the qualitative and quantitative analysis of eriocalyxin A, eriocalyxin B, odonicin, maocrystal B and maocrystal C from *Rabdosia eriocalyx* by HPLC method. The better analytical conditions of this type compounds were found. This method was an initial test for quick microchromatography of diterpenoids from *Rabdosia eriocalyx*. HPLC conditions as follow : Shimadzu LC-4A, column, zorbax ODS 250 mm × 4.6 mm; mobile phase, methanol-water (70 : 30) ; flow rate, 0.65 ml/min; pressure, 130kg/cm²; detector, SPD-2AS, wave 230 nm.

Key words *Rabdosia eriocalyx*; diterpenoids; Quantitative analysis; HPLC