

HPLC 法测定毛杨梅树皮中杨梅醇的研究

翟青, 郭祀远, 吴亚梅

(华南理工大学轻化工研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 研究从毛杨梅树皮中提取杨梅醇的工艺条件及用 HPLC 法测定其含量的色谱条件。实验数据显示, 以甲醇作为溶剂, 提取时间 45 min, 提取效率最高, 可达 4.78%。采用 Dima ODS 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为 $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=80:20$, 体系流速为 1 mL/min, 紫外检测器 254 nm 的检测条件下, 以实验室制备的杨梅醇为标准品, 在 2.552~12.76 μg, 范围内, 相关系数为 1.00, 平均回收率为 100.1%。研究结果表明, 该方法简便可行、精密度高、稳定性强、重复性好, 可作为毛杨梅资源的进一步合理开发的依据及其质量评价的方法。

关键词: 高效液相色谱; 毛杨梅; 杨梅醇

中图分类号: TS207.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0606-03

Study on the Determination of Myricanol in *Myrica esculenta* Bark by HPLC

ZHAI Qing, GUO Si-yuan, WU Ya-mei

(Research Institute of Light Industry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The extraction conditions of myricanol in *Myrica esculenta* bark were studied and its content was determined by HPLC. The highest extraction rate of myricanol reached 4.78% by methanol extraction for 45 min. Gradient elution of the extract was performed on a Dima ODS (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column using UV detector at 254 nm. A mixture of acetonitrile and water (80:20 by volume) was used as mobile phase at a flow rate of 1 ml/min. Within a linear range of 2.552~12.76 μg, the coefficient and RSD were of 1 and 100.1%, respectively. This method was simple, reliable and reproducible with highly sensitive. It can be used for the quality evaluation of *Myrica esculenta* resources for their further development.

Key words: HPLC; *myrica esculenta*; myricanol

毛杨梅 (*Myrica esculenta* Buch. Ham) 系杨梅科 (*Myricaceae*) 杨梅属 (*Myrica*) 植物, 为药食两用芳香植物^[1]。宋代《食疗本草》和明代《本草纲目》对杨梅属的药用功效均有记载, 其枝叶和根皮在中国和日本等地常用作收敛剂、解毒剂和肠胃止泻剂等中药成分^[2]。毛杨梅树皮中主要含黄酮类、单宁类、三萜类和二芳基环庚烷类等多种化合物成分^[3-4], 其中杨梅醇含量可观。目前尚未有关于毛杨梅的质量标准和含量测定的研究报道, 本研究的目的是建立测定杨梅醇含量的 HPLC 法, 为其质量控制提供简便、准确的方法。

1 材料与仪器

毛杨梅树皮购于广西栲胶厂, 广东药学院中药学院曾令杰博士鉴定为毛杨梅 (*Myrica rubra* (Lour.) Sieb. Et zucc.) 的树皮。杨梅醇对照品为实验室自行制备, 从毛杨梅树皮中提取分离得到, 纯度在 98% 以上

(见图 1), 提取用的试剂为分析纯, 其它试剂均为色谱级。

TU-1810 紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器公司), sartorius BP211D 电子天平, 水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司), JL-180DTH 超声波清洗器, Waters HPLC (Binary HPLC Pump: Waters 1525; Autosampler: Waters 717 plus; Dual λ Absorbance Deteror: Waters 2487)

2 色谱条件的选择

通过试验, 选用确定下列的色谱检测条件:

色谱柱: Dima ODS 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (V/V=80/20); 流速: 1 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 254 nm; 进样体积: 20 μL。

在此条件下, 杨梅醇获得较好的分离, 理论塔板数按杨梅醇峰计算应不低于 3000。对照品与供试品在

约 4 min 相同时间有一色谱峰 (见图 1、图 2)。

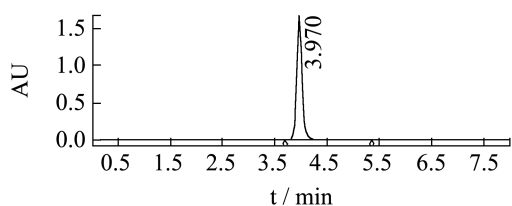


图 1 杨梅醇对照品的 HPLC

Fig.1 HPLC chromatogram of the reference substance of myricanol

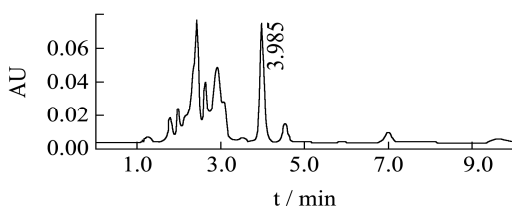


图 2 毛杨梅树皮药材的 HPLC

Fig.2 HPLC chromatogram of the extracts from *Myrica esculenta* bark

3 提取条件的选择

3.1 溶剂的选择

杨梅醇为二芳基环庚烷类化合物, 选择甲醇、乙酸乙酯、氯仿为提取溶剂, 分别精密称取杨梅树皮约 20 g 共 3 份, 置具塞锥形瓶中, 各加入上述溶剂 100 mL, 称定重量, 超声处理 30 min, 放至室温, 加溶剂补足重量, 滤过, 取滤液作为供试品溶液, 另取杨梅醇对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.638 mg 的对照品溶液。吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 20 μ L, 分别注入液相色谱仪中, 测得杨梅醇含量分别为 4.77%、4.61%、4.54%。甲醇提取物中杨梅醇的含量最高, 故采用甲醇作为提取溶剂。

3.2 提取时间的确定

精密称取毛杨梅树皮各 20 g 共 4 份, 分别置锥形瓶中, 各加入甲醇 100 mL, 称定重量, 超声处理 20,

30, 45, 60 min, 放至室温, 加溶剂补足重量, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 结果测定分别为 4.54%、4.65%、4.77%。45 min 与 60 min 提取效果最好, 选用 45 min 提取时间。

4 检测方法的考察

4.1 线性关系检验

精密称取干燥至恒重的杨梅醇对照品 31.90 mg。置 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 含杨梅醇 0.638 mg)。液相自动进样仪分别吸取 4 μ L、8 μ L、12 μ L、16 μ L、20 μ L 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定对照品峰面积, 将进样量与峰面积进行回归处理, 回归方程为 $y=1727590.56x-996567.50$, 相关系数: $R^2=1.00$, 杨梅醇对照品进样量在 2.552~12.76 μ g 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

4.2 精密度试验

自动吸取供试品溶液 20 μ L, 按上述色谱条件重复进样 5 次, 记录色谱图及峰面积积分值, 结果 $RSD=1.39% < 2%$ ($n=5$), 表明仪器精密度良好, 测定结果见表 1。

表 1 仪器精密度

Table 1 Precision of the method

进样次数	1	2	3	4	5
峰面积	652714	652711	652718	652713	652715
平均值: 652714.2; RSD: 1.39%					

4.3 稳定性试验

自动吸取供试品溶液 20 μ L, 按上述色谱条件, 每隔 0.5 h 测定供试品溶液中杨梅醇峰面积, 共测定到第 3 h, 计算供试品溶液中杨梅醇峰面积相对标准差。表明二氢杨梅素在供试品溶液制备 3 h 内基本稳定, $RSD=1.27% < 2%$ ($n=7$), 可以满足试验的分析要求。结果见表 2。

表 2 样品稳定性

Table 2 Effect of standing time on the myricanol concentration

放置时间(h)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
峰面积积分值	652710	652717	652714	652716	652801	652811	652771
峰面积平均值: 652716.4; RSD: 1.27%							

4.4 加样品回收率试验

分别精密称取已知含量的样品 5 份, 每份约 100 g。置具锥形瓶中, 精密加入杨梅醇对照品 (0.638 mg/mL) 3 mL, 再精密加入甲醇 500 mL, 称定重量, 超声处理 45 min, 放至室温, 加溶剂补足重量, 滤过,

取续滤液, 按含量测定项下色谱条件, 仪器自动吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪中进行含量测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.38%, $RSD=1.02%$, 表明 HPLC 法用于本品的质量控制具有良好的准确性。(见表 3)

表3 回收率试验结果

Table 3 Recovery test results

试验号	试样量/g	杨梅醇含量/g	对照品加入量/g	实测值	回收率
1	100.0021	4.76	1.9910	6.7712	1.003
2	100.1352	4.78	1.9910	6.7612	0.999
3	100.1262	4.79	1.9910	6.7674	0.998
4	100.0821	4.80	1.9910	6.8181	1.004
5	100.1469	4.82	1.9910	6.8041	0.999

平均回收率: 100.1%; RSD: 1.02%

4.5 重现性试验

精密称取样品 5 份各 20 g, 照样品测定项下实验方法制成供试品溶液, 按样品测定项下色谱条件进行测定, 结果见表 4, 含量的相对标准偏差为 1.32%, 表明该方法重现性良好。

表4 重现性试验结果

Table 4 Experimental results of the repeatability of the method

试验号	1	2	3	4	5	RSD/%
含量%	4.75	4.78	4.79	4.80	4.82	1.32
平均含量	4.78%					

5 样品测定

称取干燥的杨梅树皮 5 份, 每份约 20 g, 按供试品制备方法制备, 依上述方法操作, 测定结果表明药材中杨梅醇的平均含量为 4.78% (见表 5)。

表5 样品中二氢杨梅素的含量测定结果

Table 5 Myricanol contents in examined samples

试验号	试样量/g	杨梅醇含量/g	杨梅醇含量/%	平均含量

科学家绘出棕榈树大部分基因组草图

马来西亚研究人员 5 月 21 日宣布, 他们与美国研究人员共同绘制出了棕榈树的大部分基因组草图, 并在麻风树基因组的研究上也取得了进展。他们希望这些研究有助于提高这两种油料植物的产油量和抗病能力。

马来西亚亚洲基因组技术中心当天在吉隆坡举行的记者会上说, 棕榈树基因组由约 18 亿个碱基对组成, 马来西亚和美国的研究小组已完成了棕榈树基因组 70% 的测序工作。在下一阶段, 研究者们将努力检测其余的棕榈树基因组, 并开始详细分析工作。

该中心的专家指出, 某些品种的棕榈树是高产油植物, 从其果实中榨取的棕榈油可制成食用油或用于制造某些化妆品和润滑油等。

马来西亚研究者说, 他们在麻风树研究上也取得了进展。麻风树在贫瘠的土地上也能生长, 并且耐旱, 其种子含油量高, 可被用来提炼生物柴油。研究人员分析后发现, 麻风树基因组约有 5 亿个碱基对。

研究人员表示, 分析这些高产油植物的碱基对, 有助于发现与其产量和健康有关的基因, 进而培育出更高产、抗病能力更佳的品种。

(新闻来源: 中国食品科技网)

				/%
1	20.0032	0.9541	4.77	
2	20.0129	0.9506	4.75	
3	20.0361	0.9577	4.78	4.78
4	20.0545	0.9626	4.78	
5	20.0211	0.9630	4.82	

6 结论

以甲醇作为溶剂从毛杨梅树皮中提取杨梅醇, 提取时间 45 min, 可得高达 4.78% 的提取效率。杨梅醇的含量可用 HPLC 法测定。色谱检测条件为: 采用 Dima ODS 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为 V_{乙腈}:V_水=80:20, 体系流速为 1 mL/min, 紫外检测器 (254 nm)。以实验室制备的杨梅醇为标准品, 在 2.552~12.76 μg 范围内, 相关系数为 1.00, 平均回收率为 100.1%。表明该方法简便可行、精密度高、稳定性强、重现性好, 可作为毛杨梅资源的进一步合理开发的依据及其质量评价的方法。

参考文献

- [1] 《中国植物志》, 21:002.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000
- [3] Sun D, et al. Phytochemistry. 1988, 27:599
- [4] Zhao Z, et al. chemistry and industry of Forest Produces, 1987, 7(3):1