

342123

高效液相色谱法测定栽培嘉兰中秋水仙碱的含量测定

陈贵清 李秀荣 王文端 钟纪育

(中国科学院西双版纳热带植物园, 勐腊 666303)

摘要 本文介绍用高效液相色谱法对植物嘉兰中秋水仙碱的含量进行测定, 方法简便, 灵敏度高, 快速准确。

关键词 秋水仙碱; 高效液相色谱仪; 嘉兰

嘉兰(*Gloriosa superbal.*)属百合科多年生草本植物, 原产非洲南部, 马达加斯加, 印度, 斯里兰卡, 印度尼西亚及我国云南南部热区。其块茎, 叶, 花, 种子, 果壳均含秋水仙碱(Colnicine)。在医药上, 秋水仙碱用于治疗癌症和急性痛风等疾病, 在育种上用于诱导多倍体和培育无籽果实, 目前我国还没有秋水仙生产, 一向靠进口。为了解决秋水仙碱的生产原料我国进行了二十余年的把野生嘉兰变家种的引种驯化研究, 证明在栽培条件下的嘉兰块茎秋水仙含量为 0.412%, 果壳含量为 0.59%, 种子含量为 1.23%。本文用高效液相色谱仪直接测定植物样品嘉兰的各部位中秋水仙碱的含量, 方法简便, 灵敏, 快速。

实验方法和材料

(一) 仪器 高效液相色谱仪: waters 公司生产, 泵 510 型、高压泵, U6k 进样器, 柱 μ Bondapak C_{18} 径向加压柱 $\phi 8\text{mm} \times 10\text{cm}$ $10\mu\text{m}$, M481 型可变波长紫外检测器, 056 记录器, 微量注射器。

(二) 仪器条件 流动相甲醇: 水 70:30, 流速 1ml/min, 进样 $5\mu\text{l}$, 柱压 700psi, 检测波长 244nm 灵敏度 0.1 AUFS, 纸速 5 mm/min。

(三) 试剂 95%乙醇, 氯仿, 甲醇, 乙醚均为分析纯, 水重蒸水, 秋水仙碱标准样品(上海试剂采购站供应二军大分装)。

(四) 样品处理 精确称取嘉兰块茎干粉过 40 目筛 8g, 果壳粉 8g, 种子粉 5g 用 95%乙醇在水浴锅上回流提取三次, 合并提取液减压浓缩至干, 再用少量水溶解不得超过 10ml 用乙醚萃取三次水溶液部分过滤到 10ml 容量瓶中定溶待测样品, 种子、果壳用同样方法处理, 种子要先脱脂后才处理。

(五) 标准曲线的制作 准确称取标准品秋水仙碱 10mg, 用无水乙醇配成 $0.20\mu\text{g/ml}$ 的标准储备液, 再按稀释法配制秋水仙碱浓度为 20, 40, 60, 80, 100, $160\mu\text{g/ml}$ 的标准系列, 在上述色谱条件下进行测定, 将测得的峰高与对应的浓度作图, 标准曲线回归方程: $y = 0.1489x + 0.2988$, 相关系数 $r = 0.9991$ 。工作曲线如图 1 所示。秋水仙碱在 $20 - 160\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内, 峰高与浓度呈良好线性关系。

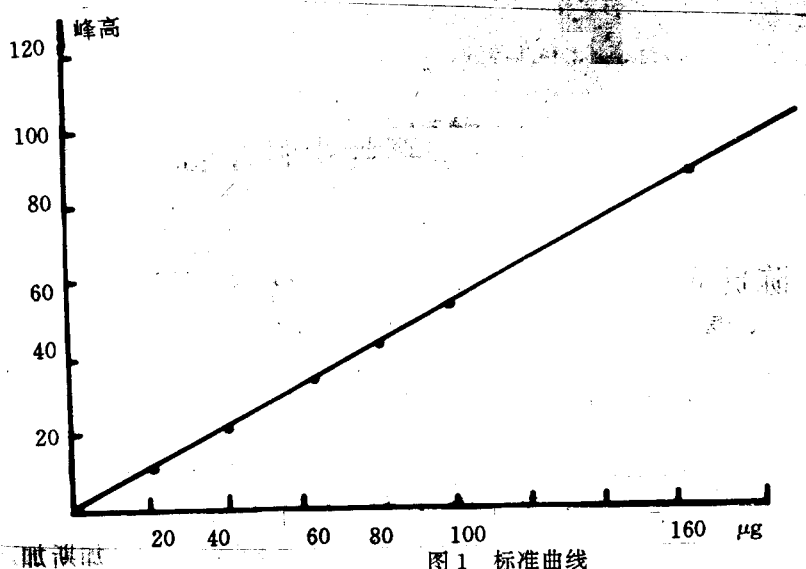


图 1 标准曲线

图内浓度计量单位为 $\mu\text{g/ml}$

(六) 样品分析 用微量注射器吸取预处理后的样品直接进样, 测得结果见表 1

表 1 嘉兰中含秋水仙碱的含量

样 品 名 称	测量值 $\mu\text{g/g}$	平 均 值 $\mu\text{g/g}$	标 准 偏差 s	变 异 系 数 CV	
果 壳	0.599 0.608 0.560 0.628 0.564 0.580	0.590	0.01%	0.017%	
种 子	1.29 1.22 1.17 1.23 1.20 1.24	1.23	0.041%	0.033%	
块 茎	0.413 0.38 0.44 0.400 0.429 0.413	0.412	0.021%	0.051%	

结果与讨论

(一) 色谱峰的定性, 采用保留时间和样品中加标准样品定性的方法, 见图 2、3

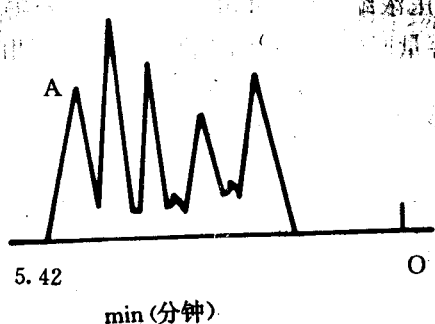


图 2 样品峰 A,

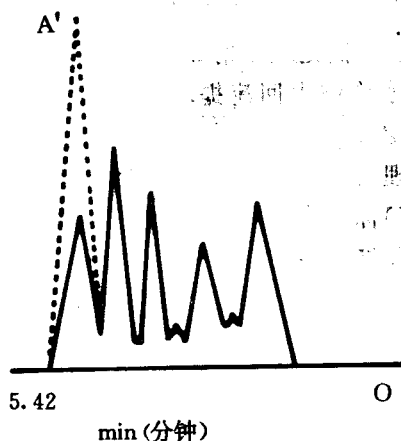


图 3 样品峰加标准样品 A'

(二)回收率和精密度:取 1ml 嘉兰提取液加入秋水仙碱 300ng,600ng,900ng 测得结果见表 2。精密度结果见表 1。

表 2 回收率

加入秋水 仙碱量 ng	回收量 ng	回收率%	平均回收率%	标准偏差 S	变异系数
300ng	294.02 289.724	98.14 96.57	102.23	6.425%	0.063%
	310.882 336.788	103.63 112.26			
	319.742 288.923	106.58 96.31			
600ng	588.946 567.789	98.16 94.63	101.75	6.200%	0.061%
	618.422 622.655	103.07 103.28			
	674.11 591.154	112.35 98.53			
900ng	866.860 861.518	96.32 95.72	97.81	3.541%	0.036%
	941.649 861.518	104.63 95.72			
	861.518 888.669	95.72 98.74			

(三)高速液相色谱法比经典的重量法,薄板层析法,薄层扫描法和比色法的精确度高。无论是秋水仙碱的混合物或是植物嘉兰样品的提取物都能得到很好的分离而且准确度可靠,方法简便。

参考文献

[1]梁雁冰,陈永强,黄步汉. 嘉兰栽培条件及秋水仙碱含量测定. 广西植物,1987;7(3);271—273
[2]蔡毓琼,何丽. 秋水仙碱的薄层分离及荧光光密度测定方法的研究. 中草药,1987;18(2)
[3]李炳钧,许秀坤. 从嘉兰提取秋水仙碱流程的简化. 热带植物研究,1983;24
[4]吕伟,沈祖明,陈建伟. 中药中有机酸离子色谱分析. 色谱,1990;(5)

