

天南星中草酸钙针晶的含量测定

汪晓莉^{1,2}, 唐力英¹, 王祝举^{1*}, 龚千锋²

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院中药系, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立天南星中的草酸钙针晶的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相 0.5% KH₂PO₄-H₃PO₄ 水溶液 (pH 2.3), 流速 0.7 L · min⁻¹; 检测波长 210 nm; 柱温 28 °C。结果: 草酸在 0.06 ~ 1.20 μg 线性关系良好 (r = 0.999 9)。平均回收率为 100.89% (n = 5), RSD 为 1.07%。结论: 本法快速、灵敏、准确、可靠、重复性好, 可用于天南星草酸钙针晶定量研究。

[关键词] 天南星; HPLC; 草酸钙针晶

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0030-02

天南星为天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* (Wall.) Schott.、异叶天南星 *A. heterophyllum* Bl. 或东北天南星 *A. amurense* Maxim. 的干燥块茎^[1]。天南星味苦、辛温有毒, 具有燥湿化痰、祛风止痉、散结消肿等功效, 中医临床内服多以炮制品入药。关于天南星的毒性, 有报道其主要刺激性毒性成分可能为草酸钙针晶^[2], 我们对此也进行了研究, 认为草酸钙针晶是天南星中具有刺激性的物质之一。为了进一步评价其刺激性, 本文建立简单快速测定天南星中草酸钙针晶含量的方法, 为天南星中草酸钙针晶的定量及炮制研究奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 1515-2487 高效液相色谱仪系统 (美国 Waters 公司); 80-1 型离心机 (上海手术器械厂); XS105DU 型电子天平 (瑞士 METTLER TOLEDO 公司); PP-15 电子 pH 测定仪 (德国 Sartorius 公司); KQ5200 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); HH-恒温水浴锅 (巩义市英峪予华仪器厂)。

1.2 试剂 草酸基准试剂 (H₂C₂O₄ · 2H₂O, 天津市

津科精细化工研究所, 纯度 ≥ 99.9%) ; 磷酸二氢钾 (AR, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸 (AR, 国药集团化学试剂有限公司); 盐酸 (GR, 北京化工厂); 水 (屈臣氏蒸馏水)。

1.3 药材 天南星药材 2009 年分别购于河北安国、安徽亳州药材市场, 虎掌南星 2008 年购于河北安国药材市场, 以上样品均经河南中医学院陈随清教授鉴定, 分别为天南星科植物天南星 *A. erubescens* (Wall.) Schott. 的干燥块茎, 天南星科植物虎掌 *Pinellia pedatisecta* Schott 的块茎。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱 Diamonsil-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 0.5% KH₂PO₄-H₃PO₄ 水溶液 (pH 2.3), 流速 0.7 mL · min⁻¹; 检测波长 210 nm; 柱温 28 °C^[3-4]。在此条件下, 草酸和供试品溶液中其他色谱峰的分离良好, 见图 1。

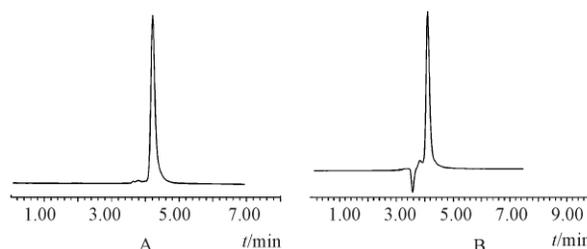


图 1 天南星中草酸含量测定高效液相色谱图
A. 草酸对照品; B. 天南星药材

2.2 流动相的配制 称取 5 g 磷酸二氢钾, 置于 1 000 mL 量瓶中, 用磷酸调节 pH 2.3 后定容。再经 0.45 μm 混合纤维树脂膜抽真空过滤, 超声脱气后使用。

2.3 对照品溶液的配制 称取草酸对照品 15 mg, 精

[收稿日期] 2010-03-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30772788); 中国中医科学院基本科研业务费自选主题项目 ZZ20090210

[第一作者] 汪晓莉, 硕士研究生, Tel: 010-64014411-2975

[通讯作者] * 王祝举, 副研究员, 研究方向为中药化学及炮制, Tel: 010-64014411-2975; E-mail: wangzhuju@sina.com

密称定,置于 50 mL 量瓶中,加入蒸馏水定容至刻度,摇匀。精密吸取该溶液 1.0 mL 置 5 mL 容量瓶中,加蒸馏水混匀,定容至刻度,使成含草酸 $0.06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 供试品溶液的制备 称取样品(60 目粉末) 0.2 g,精密称定,置离心管中,加入 3 mL 蒸馏水混匀,超声振荡 10 min,然后置 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热并搅拌 10 min $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,残渣以热纯水洗涤 3 次,每次 2 mL,混匀离心,去药材残渣,加 0.4 mL 盐酸(体积比 1:1)溶液 3.0 mL 纯水混匀,置 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴,边搅拌边加热 10 min,离心,条件同上,分离沉淀与上清液,沉淀用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸同上法处理 2 次,每次 2 mL,离心,合并 3 次上清液,置 10 mL 量瓶中,纯水定容至刻度。

2.5 标准曲线的制备 取草酸对照品溶液,分别进样 1, 5, 10, 15, 20 μL ,测定峰面积。以对照品进样量为横坐标,峰面积平均值为纵坐标绘制标准曲线并进行线性回归,得回归方程 $Y = 9.47 \times 10^5 X - 8.37 \times 10^3$, $r = 0.9996$ 。结果表明草酸在 $0.06 \sim 1.2 \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.6 精密度试验 同一样品溶液,取 10 μL 重复进样 5 次,测定样品中草酸峰面积值,其 RSD 0.66%。

2.7 重复性试验 取同一批号样品,按 2.4 项方法平行制备供试品溶液 5 份,分别进样 10 μL ,测定峰面积,其 RSD 1.58%。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液 10 μL ,分别于 0, 5, 9, 12, 24 h 进样,测定草酸峰面积,其 RSD 1.51%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收试验 精密称取已测定含量的天南星样品粉末 5 份各约 0.1 g,按 2.4 项方法制备,其中在加入 0.4 mL 盐酸溶液时,同时分别加入适量草酸对照品。取样品供试液 10 μL 进样,测定峰面积值,计算加样回收率。见表 1。

表 1 天南星中草酸加样回收率试验测定

No.	样品量 /g	草酸含量 /mg	草酸加入量 /mg	实测量 /mg	加样回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.100 0	0.339 2	0.322 4	0.668 8	102.23		
2	0.100 3	0.340 2	0.322 4	0.660 9	99.47		
3	0.100 5	0.340 9	0.322 4	0.664 9	100.50	100.89	1.07
4	0.100 1	0.339 5	0.322 4	0.663 8	100.59		
5	0.100 8	0.341 9	0.322 4	0.669 7	101.67		

3 样品含量测定

取样品按 2.4 项方法制备供试品溶液,进样 10 μL ,测定草酸峰面积,计算草酸含量并转换成草酸钙针晶含量,见表 2。

表 2 天南星中草酸、草酸钙含量测定 ($n = 2$)

样品来源	草酸	草酸钙
天南星(河北安国)	0.211 9	0.245 5
天南星(安徽亳州)	0.260 3	0.301 6
天南星二批(安徽亳州)	0.344 1	0.398 7
虎掌南星(河北安国)	0.839 6	0.972 9

4 讨论

采用高效液相色谱法,对不同批次的天南星药材中草酸钙针晶的含量进行了测定,实验结果表明,同一品种不同批次的天南星中草酸钙针晶含量各异,其中虎掌南星的草酸钙针晶含量较高,为天南星的 3~4 倍。这与我们前期的毒性实验结果相吻合,在刺激性实验中,等量的虎掌南星的刺激性大于天南星。对揭示天南星的毒性机制提供了依据。

传统的测定草酸钙的方法多为滴定法,步骤繁琐,且误差较大。因此,本实验根据草酸钙不溶于水及有机溶剂的性质^[3-4],对样品进行简单的预处理,先将可溶性的草酸盐除去,再通过酸处理使草酸钙转化为草酸($\text{CaC}_2\text{O}_4 + 2\text{HCl} = \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$),生成 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草酸需要 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草酸钙,以此通过 HPLC 法测定草酸的含量并换算成样品中所含的草酸钙针晶的含量。此方法简单快捷,可操作性强,且能尽可能的排除干扰因素,使结果更加准确可信。

实验过程中发现盐酸对样品中草酸色谱峰分离效果影响较大,分析级盐酸不能使草酸峰很好的分离,提高盐酸的纯度后分离效果良好。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:39.
- [2] 钟凌云,吴皓.天南星科植物中黏膜刺激性成分的研究现状与分析[J].中国中药杂志,2006,31(18):1561.
- [3] 刘博,李凡,张振凌.RP-HPLC 法测定白附子趁鲜加工样品中草酸钙针晶的含量[J].中华中医药学刊,2009,27(6):1181.
- [4] 钟凌云,吴皓.RP-HPLC 法测定天南星科药用植物中草酸钙针晶的含量[J].中成药,2008,30(2):260.

[责任编辑 顾雪竹]