

# 四川攀西地区五色梅中 $\beta$ -榄香烯的含量分析

韦会平, 赵牧, 李勇, 阎妍, 任一兵, 郑毅(攀枝花学院医学院, 四川 攀枝花 617000)

**摘要:** 目的 建立五色梅中 $\beta$ -榄香烯的含量分析方法, 并对四川攀西地区恶性杂草植物五色梅中的 $\beta$ -榄香烯含量和分布规律进行测定分析。方法 采用 HPLC 测定五色梅样品中 $\beta$ -榄香烯含量, Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 乙醇-乙腈-水=70:10:20, 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 210 nm, 进样量: 20  $\mu$ L, 柱温: 30  $^{\circ}$ C。用 TLC 和紫外光谱对样品中的 $\beta$ -榄香烯进行鉴定分析。结果 HPLC 测 $\beta$ -榄香烯含量在 0.007 5~0.120 0 mg·mL<sup>-1</sup> 内线性关系良好( $r=0.999 5$ ), 平均加样回收率为 99.3%。五色梅叶和花中均含 $\beta$ -榄香烯, 而以叶中含量最高, 鲜叶与花中含量分别为 0.025%和 0.007%。鲜叶和自然晒干叶中 $\beta$ -榄香烯含量差异无统计学意义, 但均显著高于 60  $^{\circ}$ C 烘干叶。结论 本法适用于五色梅中 $\beta$ -榄香烯的含量测定, 本研究可为开辟新的 $\beta$ -榄香烯来源、五色梅的开发利用和治理提供参考。

**关键词:** 五色梅;  $\beta$ -榄香烯; 含量测定; 高效液相色谱法; 分布规律

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)01-0036-04

## Content Analysis on $\beta$ -elemene in *Lantana camara* Linn in Panxi Area of Sichuan

WEI Huiping, ZHAO Mu, LI Yong, YAN Yan, REN Yibing, ZHENG Yi(Medical School of Panzhihua University, Panzhihua 617000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method to determine and study the content of  $\beta$ -elemene in *Lantana camara* Linn in Panxi area of Sichuan. **METHODS** The content of  $\beta$ -elemene was determined by HPLC with an Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m) column, mobile phase EtOH-CAN-H<sub>2</sub>O (70 : 10 : 20), flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and UV detection wavelength 210 nm. The qualitative analysis of  $\beta$ -elemene was conducted by TLC and UV spectrum. **RESUALTS** A good linear relationship at the range of 0.007 5–0.120 0 mg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999 5$ ) was obtained and the average recovery was 98.02%.  $\beta$ -elemene was tested out in leaves and flowers of *Lantana camara* Linn and not found in their roots, stems and fruits. The fresh leaves and naturally dried leaves had the highest content, which were higher notably than that of 60  $^{\circ}$ C dried leaves. The  $\beta$ -elemene contents in fresh leaves and flowers were 0.025% and 0.007%, respectively. **CONCLUSION** The mothod is suitable for  $\beta$ -elemene determination of *Lantana camara* Linn. The experiment can be used as references to find new resource of  $\beta$ -elemene and utilize *Lantana camara* Linn.

**KEY WORDS:** *Lantana camara* Linn;  $\beta$ -elemene; content; HPLC; distributing

五色梅(*Lantana camara* Linn., 别名马缨丹、臭牡丹等)为马鞭草科马缨丹属植物, 原产热带美洲, 为一种世界性恶性杂草植物。近年来, 该植物在我国云南、广西、四川攀西地区等地大肆蔓延, 给当地生态安全造成严重威胁<sup>[1]</sup>。据我国一些近现代中药典籍记载, 该植物具有“清热泻火, 解毒散结”等多种药用功效<sup>[2-4]</sup>, 并含有马缨丹烯 A、B、石竹烯、 $\alpha$ -葎草烯、橙花叔醇、姜黄烯等多种生物活性成分<sup>[5-6]</sup>。 $\beta$ -榄香烯为我国近年来自行研发的抗肿瘤新药, 已应用于临床, 并被列入国家基本药物和全国医保用药目录<sup>[7]</sup>。目前,  $\beta$ -榄香烯的分析测定主要采取气相色谱法和 HPLC<sup>[8-9]</sup>, 并主要依赖于从中药莪术中提取, 生产

成本极高<sup>[10-12]</sup>。本试验建立五色梅中 $\beta$ -榄香烯的测定方法, 并对四川攀西地区产五色梅中 $\beta$ -榄香烯的含量和分布规律进行系统分析, 为进一步寻找 $\beta$ -榄香烯的新来源、降低其原料成本提供依据, 并为五色梅这种恶性杂草植物的治理和开发利用开辟新的途径。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 化学工作站(美国 Agilent 公司); XS205DU 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); 电热恒温鼓风干燥箱(上海琅玕实验设备有限公司); A88 组织匀浆捣碎机(江苏金坛市大地自动化仪器厂); SHZ-85BS 双层旋转

基金项目: 四川省科技厅科技基础条件平台建设专项(2060503); 攀枝花市应用技术与开发资金项目(2010TX-3)

作者简介: 韦会平, 男, 博士, 研究员 Tel: 15808115379

E-mail: 345172659@qq.com

气浴恒温振荡器(江苏金坛市大地自动化仪器厂); RE52-2旋转蒸发器(上海沪西分析仪器厂); 硅胶G板(自制)。

## 1.2 试剂

$\beta$ -榄香烯对照品(批号: 100268-200401, 纯度: 99.2%)购于中国药品生物制品检定所, 乙醇和乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂为分析纯。

## 1.3 药材样品

五色梅样品采自攀枝花公园, 经攀枝花学院韦会平研究员鉴定为五色梅(*Lantana camara* Linn.)。将新采的五色梅根、茎、叶、花、果实, 自然晾干表面水分, 分别用组织匀浆捣碎机打碎, 作为鲜样。另将五色梅鲜叶在太阳下自然晒干, 粉碎过60目筛, 作为自然晒干样(经测定干燥率为33.5%); 将五色梅鲜叶在60℃下恒温干燥至恒重, 粉碎过60目筛, 作为60℃干燥样(测定干燥率为30.3%)。

## 2 方法与结果

### 2.1 $\beta$ -榄香烯的含量测定

**2.1.1 对照品溶液的制备** 取 $\beta$ -榄香烯对照品, 用无水乙醇溶解稀释, 分别配成0.120 0, 0.060 0, 0.030 0, 0.015 0, 0.007 5 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取五色梅的根、茎、叶、花、果实鲜样各6 g, 叶的自然晒干样和60℃干燥样各2 g, 加入无水乙醇60 mL, 40℃恒温气浴振荡(120 r·min<sup>-1</sup>)提取4次, 每次4 h。将各样品的4次提取液合并, 75℃真空旋转蒸发浓缩并定容至100 mL, 得到各样品的供试品溶液。

**2.1.3 流动相的优化** 用Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5  $\mu$ m), 按照流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>、检测波长210 nm、进样量20  $\mu$ L、柱温30℃的色谱条件, 分别用甲醇-水(80:20)、乙醇-水(80:20)、乙腈-水(80:20)、甲醇-乙腈-水(70:10:20)、乙醇-乙腈-水(70:10:20)作为流动相, 对五色梅鲜叶供试品溶液进行进样分析。结果表明, 用乙醇-乙腈-水(70:10:20)作为流动相可使样品中 $\beta$ -榄香烯色谱峰和相邻色谱峰的分度达到1.5以上, 且峰形较好; 而用其他流动相均不能使 $\beta$ -榄香烯色谱峰和相邻色谱峰的分度达到1.5。

**2.1.4 紫外光谱的测定和检测波长的选择** 利用Agilent 1200 高效液相色谱仪的在线光谱扫描功能, 分别对对照品溶液和鲜叶样品溶液中的 $\beta$ -榄香烯色谱峰进行紫外扫描, 得到它们各自的紫外光

谱,  $\beta$ -榄香烯对照品和五色梅样品中 $\beta$ -榄香烯色谱峰的光谱图基本相同, 均在205 nm处具有最大吸收。按“2.1.3”项下的色谱条件, 分别选择200, 205, 210 nm作为检测波长, 对五色梅鲜叶样品的供试品溶液进行进样分析。结果表明, 以210 nm为检测波长, 五色梅样品中 $\beta$ -榄香烯色谱峰和相邻色谱峰的分度效果最佳、峰形最好。

**2.1.5 色谱条件的确定** 根据“2.1.3”和“2.1.4”项下的实验结果, 确定最佳的色谱条件为: Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5  $\mu$ m)色谱柱, 流动相为乙醇-乙腈-水(70:10:20), 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 210 nm, 进样量: 20  $\mu$ L, 柱温: 30℃。按上述色谱条件, 得到的对照品溶液和五色梅鲜叶供试品溶液的色谱图见图1。

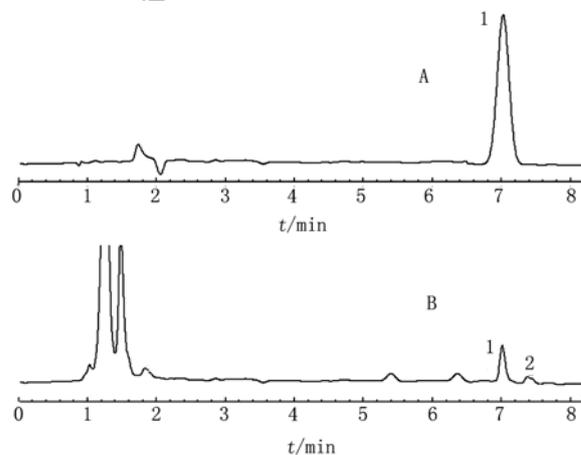


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-样品; 1- $\beta$ -榄香烯

Fig 1 HPLC chromatograms

A-reference substance; B-sample; 1- $\beta$ -elemene

**2.1.6 线性关系考察** 按“2.1.1”项下方法配制对照品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件进样分析。以峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度 X(mg·mL<sup>-1</sup>)为横坐标进行线性回归。得到 $\beta$ -榄香烯的回归方程:  $Y=16\ 765 X+208.54$ ,  $r=0.999\ 5$ , 线性范围: 0.007 5~0.120 0 mg·mL<sup>-1</sup>。

**2.1.7 仪器适应性试验** 取同一对照品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件连续进样6次, 记录色谱峰面积, 计算 $\beta$ -榄香烯峰面积的RSD为1.6%。

**2.1.8 重复性试验** 精密称取五色梅自然晒干叶样品6份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 计算得 $\beta$ -榄香烯含量的RSD为0.65%。

**2.1.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液，分别于配制后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h, 按“2.1.5”项下色谱条件进样，测定峰面积，计算得 $\beta$ -榄香烯含量的 RSD 为 0.84%。

**2.1.10 加样回收率试验** 取已测定含量的自然晒干叶样品约 2 g, 共 3 份(每份 3 个重复样), 精密称定, 分别加入一定量对照品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件进样分析, 计算得 $\beta$ -榄香烯的平均回收率为 99.3%, RSD 为 0.82%, 结果见表 1。

表 2 样品测定结果( $n=5$ )

Tab 2 The results of sample determination ( $n=5$ )

样品	鲜根	鲜茎	鲜叶	鲜花	鲜果	自然晒干叶	60℃烘干叶
含量/%	未检出	未检出	0.025	0.007	未检出	0.083	0.055
RSD/%			1.21	2.11		1.23	1.43

## 2.2 样品中 $\beta$ -榄香烯的定性鉴别

参照中国药典 2010 年版二部方法<sup>[11]</sup>对五色梅中 $\beta$ -榄香烯进行定性鉴别。

**2.2.1 显色反应** 取 $\beta$ -榄香烯对照品, 加石油醚制成  $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的对照品溶液; 按“2.1.2”项下方法制备五色梅自然晒干叶供试品溶液, 并将供试品溶液  $75^\circ\text{C}$  真空旋转蒸发浓缩到约 5 mL。分别取上述对照品溶液和供试品液各 1 滴, 置点滴板上, 加乙醇 4~5 滴, 混匀, 加 1% 的香草醛硫酸溶液 1 滴, 结果对照品溶液和样品溶液均显紫蓝色; 再分别加水 3~4 滴, 对照品溶液和样品溶液均变粉红色。

**2.2.2 TLC 分析** 分别取“2.2.1”项下所述对照品溶液和供试品液各 10  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚为展开剂, 展开后, 晾干, 用碘蒸汽进行显色。结果表明, 五色梅样品和 $\beta$ -榄香烯对照品展开后均含有相同斑点, 其 Rf 值为 0.86。

## 3 讨论

$\beta$ -榄香烯对照品和五色梅样品中 $\beta$ -榄香烯色谱峰的光谱图基本相同, 均在 205 nm 处具有最大吸收。 $\beta$ -榄香烯对照品和五色梅样品含有保留时间基本相同的色谱峰。从定性鉴别结果看, 五色梅样品和 $\beta$ -榄香烯具有相同的颜色反应, TLC 展开后含有相同斑点。综上可以认定, 五色梅样品中的确含有 $\beta$ -榄香烯成分。

用本试验 HPLC 分析五色梅中 $\beta$ -榄香烯含量, 样品中 $\beta$ -榄香烯色谱峰峰形好、和相邻色谱

表 1 加样回收率试验结果( $n=3$ )

Tab 1 Average recovery of samples( $n=3$ )

序号	加入量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
1	0.500	0.499	99.81	0.88
2	1.000	0.965	96.52	0.80
3	1.500	1.523	101.54	0.78

**2.1.11 样品含量测定** 按“2.1.2”项下方法制备各样品的供试品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件进样分析, 用标准曲线法计算各样品中 $\beta$ -榄香烯含量, 结果见表 2。

峰的分离效果达到 1.5 以上, 并且线性范围较宽, 精密度、重复性、稳定性、加样回收率均能达到要求。因此, 本方法完全可用于五色梅中 $\beta$ -榄香烯含量分析。

我国药典中对 $\beta$ -榄香烯的 TLC 分析以 1% 香草醛硫酸溶液为显色剂<sup>[13]</sup>。但实验结果表明, 以 1% 香草醛硫酸溶液为显色剂不仅操作复杂, 且显色效果不够理想。而本试验中以碘蒸汽来进行显色, 不仅操作简便, 而且显色效果更为理想。

从对五色梅样品中 $\beta$ -榄香烯含量的分析结果可见, 五色梅叶和花中均含 $\beta$ -榄香烯, 而以叶中含量最高, 而根、茎、果中均未检出 $\beta$ -榄香烯。鲜叶和自然晒干叶中 $\beta$ -榄香烯含量分别为 0.025%, 0.083%。如果将鲜叶含量按干燥率折算成自然晒干叶含量, 则鲜叶和自然晒干叶间的含量并无显著差异。自然晒干叶和  $60^\circ\text{C}$  烘干叶的 $\beta$ -榄香烯含量有极显著差异,  $60^\circ\text{C}$  烘干叶的含量只相当于自然晒干叶的约 66%。这说明样品采取自然晒干不会造成 $\beta$ -榄香烯的挥发损失, 而采取  $60^\circ\text{C}$  烘干的方法则会造成大量挥发损失。

目前,  $\beta$ -榄香烯依赖于从中药莪术挥发油中提取。据分析, 中药莪术中挥发油含量约为 1.0~1.5%, 莪术挥发油中 $\beta$ -榄香烯含量约为 1.2~1.8%<sup>[8,14]</sup>, 则中药莪术中 $\beta$ -榄香烯含量不会超过 0.027%。由此可见, 四川攀西地区产五色梅鲜叶中 $\beta$ -榄香烯含量与中药莪术大致相当。但莪术为中药, 成本较高; 而五色梅为恶性杂草植物, 成

本极低。因此,如能从五色梅中提取 $\beta$ -榄香烯,不仅可大量降低 $\beta$ -榄香烯的原料成本,而且可为恶性杂草植物的治理和开发利用开辟新的途径。

## REFERENCES

- [1] MA J H, LUO Q, YUAN Y. An integral utility value and developing prospect of *Lantana Camara* [J]. J Xichang Agri Coll(西昌农业高等专科学校学报), 2003, 17(1): 28-30.
- [2] Writing Group of Compilation of Chinese Herbs. Compilation of Chinese Herbs(全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1972: 148-151.
- [3] State Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Herbal Medicine(中华本草) [M]. Vol 18. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 2004: 582-584.
- [4] Nanjing University of Traditional Chinese Medicine. The Dictionary of Traditional Chinese Medicine(中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 2006: 687-689.
- [5] ZU X H. Chemical constituents and bioactivities of *Lantana camara* Linn [J]. World Notes Plant Med(国外医药 植物药分册), 2002, 17(3): 93-95.
- [6] ZHOU Y. Studies on the chemical constituents in the essential oil from *Lantana camara* L [J]. Asia-Paci Trad Med (亚太传统医药), 2009, 5(7): 23-25.
- [7] LI G C. Basic researches and clinic application of  $\beta$ -elemene [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med(长春中医药大学学报), 2009, 25(2): 185-187.
- [8] HUANG H C, JIANG R R, ZHANG X M. The progress on analytical methods and isolated techniques on the development of  $\beta$ -elemene [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(2): 116-120.
- [9] WU S X, LÜ G Y, ZHAO L S, et al. Determination of  $\beta$ -elemene in volatile oil of fresh *Sarcandra Glabra*(Thunb.) Nakai by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(1): 59-61.
- [10] XIANG X D, LÜ G Y, CHEN S H, et al. Progress in research of quality control and pharmacological actions in essential oil of curcuma [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(11): 979-982.
- [11] XIE H, QIU D A. Technological study on extractiong  $\beta$ -elemene from *Wenyujin* [J]. J Chin Mod Tradit Chin Med (中华现代中医学杂志), 2009, 5(4): 209-211.
- [12] ZHOU H, PAN Z W, HUANG K J, et al. Detecting volatile compounds of fresh leaves and flowers of *Lantana camara* L. with headspace solid phase microextraction coupled to gas chromatography and mass spectrometry [J]. J Guangxi Univ: Nat Sci Ed(广西大学学报 自然科学版), 2009, 34(4): 494-496.
- [13] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: 308-309.
- [14] FENG H H, LU T L, XIONG T L, et al. Content determination of  $\beta$ -elemene in different *Curcumas* by GC [J]. Neimonggu J Tradit Chin Med(内蒙古中医药), 2008, 43(2): 37-39.

收稿日期: 2011-05-30