

1 槲皮素 2 山柰酚 3 异鼠李素

1 quercetin 2 kaempferol 3 isorhamnetin

图 1 对照品(A)及样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

4.2 以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照, 计算总黄酮醇苷的量, 公式为: 总黄酮醇苷量 = (槲皮素量 + 山柰酚量 + 异鼠李素量) × 2.51。实验结果表明, 蒺藜中以槲皮素为母核的黄酮类成分量最高。

4.3 研究结果表明, 同一采收期蒺藜全草中, 以渭南、西安等地的蒺藜全草中甾体皂苷及总黄酮的量较高; 蒺藜全草不同部位中以叶所含甾体皂苷和总黄酮的量最高, 茎次之, 果实最低; 在同一地区、不同

采收时期, 以 5 月份所采样品中甾体皂苷及总黄酮的量最高, 但考虑到 5 月份所采蒺藜药材植株太小, 仅处于生长初期, 故以 7 月份蒺藜枝叶茂盛时采收为宜。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 南京中医药大学 中药大辞典[M]. 上海: 上海中医药大学出版社, 2006
- [3] 顾关云, 蒋 昱. 蒺藜及其同属植物的化学与药理学研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(4): 198-202
- [4] 孔国珍, 张 洁, 马百平. 蒺藜中甾体皂苷类化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(7): 1111-1115
- [5] 李永国. 蒺藜提取物中黄酮类成分的高效液相色谱分析[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(增刊): 548-550
- [6] 解生旭, 徐敬海, 韩 冬, 等. 蒺藜果中蒺藜呾甾皂苷 B 的 HPLC-ELSD 法测定[J]. 中草药, 2009, 40(2): 309-310
- [7] 惠玉虎, 强 妮, 寇玉锋, 等. HPLC 法测定蒺藜提取物中原薯蓣皂苷[J]. 中草药, 2006, 37(11): 1670-1671
- [8] 郝艳玲. HPLC 法测定蒺藜中总黄酮的含量[J]. 实用药物与临床, 2006, 9(5): 276-278
- [9] 涂光忠, 马立斌, 李喜来, 等. 蒺藜草中一个新的六糖甾体皂苷结构的 NMR 研究[J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(4): 600-604

高效液相色谱法测定祖师麻药材中祖师麻甲素

刘 冰, 吕曙华, 吴贵华, 郭景强
(天津市药品检验所, 天津 300070)

摘要: 目的 建立祖师麻药材定量测定方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 0.5% 醋酸溶液 (25: 75); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 327 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。结果 祖师麻甲素在 0.146 7~ 2.200 5 μg 线性关系良好 (r = 0.999 9), 平均回收率为 100.88%, RSD 为 1.60% (n = 6)。结论 本法操作简便、准确、重现性好, 可用于祖师麻药材的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 祖师麻; 祖师麻甲素

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)05-0832-03

祖师麻(祖司麻)系瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche、甘肃瑞香(陕甘瑞香、唐古特瑞香) *D. tangutica* Maxim. 及凹叶瑞香 *D. retusa* Hemsl. 的干燥茎皮及根皮, 有祛风湿、活血止痛之功效^[1], 产于甘肃、四川、陕西、山西等省山区。民间广泛用于治疗疼痛、跌打损伤、风湿性关节炎和支气管炎等症, 俗称“打得地上爬, 离不开祖师麻”^[2]。祖师麻中主要含有香豆素类、二萜类、木质素类、黄酮类、蒽醌类及甾醇类等化学成分, 主要含有祖师麻甲素(瑞香素)、祖师麻乙素(瑞香苷)^[2]、祖师麻丙素(紫丁香苷)^[3], 其中祖师麻甲素具有明显的镇痛、抗

炎^[4,5]、抑菌^[2]、抗血栓^[6]、中枢神经抑制作用^[7]、降压^[8]、降血脂^[9]、抗缺氧^[10]、抗腹泻^[11]等药理作用, 是祖师麻抗炎、镇痛的有效成分。对于祖师麻的定量测定也有相关报道^[12,13], 为更好地控制药材质量, 本实验采用高效液相色谱法, 以祖师麻甲素为定量指标, 建立祖师麻药材的定量测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, chemstation 工作站, METTLER AE260 电子天平, METTLER AG135 电子天平; 祖师麻甲素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0900-200001, 供

①收稿日期: 2009-08-09

作者简介: 刘 冰(1975—), 男, 主管药师, 研究方向为中药质量标准的研究与制定。

Tel: (022) 23374076 E-mail: wenshui@163.com

定量测定用); 祖师麻乙素对照品(中国药科大学王明时教授提供, 质量分数经归一化法测定为 99.2%); 甲醇为色谱纯, 水为去离子水(自制); 其余试剂均为分析纯。祖师麻药材从甘肃、陕西、山西等地采集、购买所得, 经药材专家鉴定后确定黄瑞香 3 批, 甘肃瑞香 23 批, 凹叶瑞香 7 批。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择: 取祖师麻甲素对照品的甲醇溶液, 在 200~400 nm 波长扫描, 结果在 327 nm 波长处有最大吸收, 故确定 327 nm 作为检测波长。

2.2 色谱条件: Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸溶液(25:75); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长 327 nm, 柱温: 30 °C, 进样量: 10 μL。理论板数按祖师麻甲素峰计算应不低于 5 000。色谱图见图 1。

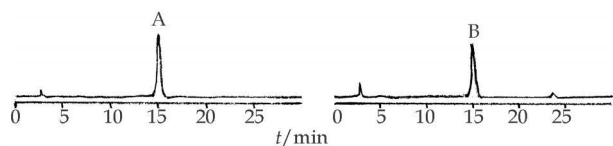


图 1 祖师麻甲素对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of daphnetin (A) and sample (B)

2.3 对照品溶液的制备: 取祖师麻甲素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.4 供试品溶液的制备: 取本品, 粉碎, 取约 1 g, 精密称定, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 1 h 时, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置圆底烧瓶中, 加入 10% 盐酸溶液 5 mL, 加热回流 30 min, 立即冷却, 转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇洗涤圆底烧瓶, 洗液并入量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.5 标准曲线的制备: 取祖师麻甲素适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.146 7 mg/mL 的溶液, 分别精密量取 1、2、5、10、20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱峰面积。以祖师麻甲素进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 制备标准曲线, 得回归方程为 $Y = 3.979 \times 10^4 X - 8.492$, $r = 0.9999$ 。结果表明祖师麻甲素进样量在 0.146 7~2.200 5 μg 线性关系良好。

2.6 重现性试验: 取批号为 2007-7 的样品, 制备供试品溶液, 按上述方法测定, 共测定 6 份, 结果祖师麻甲素质量分数平均值为 2.38%, RSD 为 0.82%。

2.7 精密度试验: 取批号为 2007-7 的样品 1 份, 连续进样 6 次, 每次 10 μL, 测定峰面积, 计算其 RSD

为 0.05%

2.8 稳定性试验: 取批号为 2007-7 的样品 1 份, 分别于 0、2、6、10、12、18、24 h 测定祖师麻甲素峰面积, 结果 RSD 为 0.75%, 表明样品在 24 h 内稳定。

2.9 回收率试验: 取批号为 2007-7 的样品 0.5 g, 共 6 份, 精密称定, 精密加入 0.238 4 mg/mL 的祖师麻甲素对照品溶液 50 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 得平均回收率为 100.88%, RSD 为 1.60%。

2.10 样品测定: 取 33 批祖师麻样品, 制备供试品溶液。分别精密吸取祖师麻甲素对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 计算祖师麻甲素的量, 结果见表 1。

表 1 祖师麻中祖师麻甲素测定结果(n=2)

Table 1 Determination of daphnetin in Cortex Daphnes (n=2)

批号	祖师麻甲素/%	批号	祖师麻甲素/%
黄瑞香 080615	1.48	200805	2.19
080617	1.32	200806	1.80
080713	1.80	070925	1.12
甘肃瑞香 2007-01	0.51	071024	1.56
2007-02	1.06	080801	0.45
2007-03	1.10	080810	1.16
2007-04	2.08	080920	1.24
2007-05	2.84	081013	0.60
2007-06	2.72	081112	1.54
2007-07	2.38	凹中瑞香 2007-11	0.98
2007-08	2.90	2007-12	1.83
2007-09	0.56	2007-13	1.02
2007-10	1.44	2007-14	0.78
2008-01	1.62	2008-07	0.60
2008-02	2.76	2008-08	0.54
2008-03	2.08	080905	0.14
2008-04	1.48		

2.11 药材不同部位祖师麻甲素的测定: 取批号 070925、080801、080810、080920 4 批药材, 分别取茎皮、根皮、茎皮与根皮 3 部分, 分别按“2.4”方法制成供试品溶液, 分别精密吸取祖师麻甲素对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 计算祖师麻甲素的量, 结果见表 2。

表 2 药材不同部位祖师麻甲素测定结果(n=2)

Table 2 Determination of daphnetin in different parts of Cortex Daphnes (n=2)

批号	祖师麻甲素/%		
	茎皮	根皮	茎皮与根皮
070925	1.78	0.52	1.12
080801	1.20	0.35	0.45
080810	1.90	0.72	1.16
080920	2.44	1.11	1.24

3 讨论

3.1 流动相的选择: 分别选用了乙腈水(30:70);

甲醇-乙腈水(15:15:70);甲醇-0.5%醋酸溶液(25:75)3种流动相系统进行试验,结果表明采用甲醇-0.5%醋酸溶液(25:75)系统祖师麻甲素色谱峰保留时间适中,与相邻峰的分度度均达到2。

3.2 提取溶剂及提取方式的选择:选用批号为2007-07、070925、071024 3批祖师麻药材,采用水、50%甲醇、甲醇作提取溶剂,分别采用超声提取、加热回流及冷浸过夜3种方法进行提取,以祖师麻甲素和祖师麻乙素峰面积比值进行评价。结果表明,3种溶剂及提取方法比较,所测得二者峰面积之和基本一致,而二者峰面积之差不同。采用甲醇作为提取溶剂,3种提取方法二者峰面积比值基本一致;采用50%甲醇作为提取溶剂,加热回流与超声提取二者峰面积比值基本一致,但低于冷浸过夜的比值;采用水作为提取溶剂,加热回流、超声提取、冷浸过夜3种方法所测比值呈现由低到高递增,2007-07及071024两批药材均未检出祖师麻乙素。

祖师麻甲素是祖师麻乙素的苷元,当后者去除葡萄糖后即变为前者。由此推测,在药材中可能存在一种酶,以水作溶剂提取时,超声提取与冷浸过夜,易发生酶解现象,使祖师麻乙素转化为祖师麻甲素。采用加热回流,热水抑制了酶解现象发生,采用甲醇及50%甲醇作为溶剂,有机溶剂亦可抑制酶解现象的发生。鉴于目前中国药品生物制品检定所尚无祖师麻乙素对照品,因此,选用50%甲醇提取,采用水解方式将祖师麻乙素全部转化为祖师麻甲素后测定质量分数,能够更全面地反映药材中有效成分的量。

选用50%甲醇作为提取溶剂,分别采用超声提取及加热回流两种方式提取,采用10%盐酸作为水

解溶剂,分别采用不同时间进行正交试验测定,比较后采用超声处理方法加热回流水解方式进行。

3.3 测定结果比较:3批黄瑞香平均测定结果为1.53%(1.32%~1.80%);20批甘肃瑞香平均测定结果为1.62%(0.45%~2.90%);7批凹叶瑞香平均测定结果为0.84%(0.14%~1.83%)。3种原植物中以黄瑞香资源较少,量也较为平均;甘肃瑞香最为常见,量较高,但范围跨度较大;凹叶瑞香量较低,仅有1批量较高,最低的仅为0.14%。药材不同部位定量测定表明茎皮中祖师麻甲素的量明显高于根皮中的量。由以上数据可为祖师麻药材的选用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.1977.
- [2] 于明,张元君,王明时.祖师麻化学成分的研究[J].中草药通讯,1976,7(10):13-17.
- [3] 王明时.祖师麻化学成分的研究(第三报)[J].中草药,1980,11(9):389-390.
- [4] 刘国卿,蒋莹,王秋娟,等.祖师麻甲素的药理研究[J].中草药通讯,1977,8(3):21-24.
- [5] 甘肃省药品检验所,解放军第十医院.祖师麻有效成分的药理研究[J].中草药通讯,1978,9(2):25-28.
- [6] 曲淑岩,姜秀莲,赵学慧,等.瑞香素抗血栓作用[J].药学学报,1986,21(7):498-501.
- [7] 南京市立第一医院,南京市鼓楼医院,江苏新医学院第一医院,等.祖师麻甲素临床应用241例总结[J].中草药通讯,1978,9(2):29-30.
- [8] 刘广余,饶曼人,梁满达.瑞香素对心血管影响的药理研究[J].中国药理学通报,1987,3(5):274-277.
- [9] 姜秀莲,曲淑岩,李伟,等.瑞香素对血清脂质及脂蛋白胆固醇含量的影响[J].药学学报,1987,22(1):53-55.
- [10] 张明发,沈雅琴.瑞香素的抗整体小鼠缺氧作用[J].天然产物研究与开发,1994,6(3):21-23.
- [11] 沈雅琴,张明发,陈瑞明,等.瑞香素和槐果碱的抗腹泻作用及其机理[J].中国新药杂志,1993,2(4):1-4.
- [12] 蒋以号,杨武亮,陈海芳,等.HPLC测定不同基源及不同产地祖师麻中祖师麻甲素[J].中草药,2008,39(7):1096-1098.

HPLC 测定不同产地莲子心中莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱

何晓娟^{1,2},孙长海²,于江华²,王俊杰²,高文远^{1*}

(1 天津大学药物科学与技术学院,天津 300072;2 天津红日药业股份有限公司研发中心,天津 301700)

摘要:目的 建立高效液相色谱测定不同产地莲子心药材中3种生物碱的方法。方法 采用高效液相色谱法,Polaris C₁₈-A 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),甲醇-0.1%三乙胺水溶液(62:38)为流动相,检测波长为282 nm,体积流量为1.0 mL/min。结果 3种生物碱平均回收率为莲心碱96.99%,异莲心碱104.26%,甲基莲心碱100.71%;RSD值分别为0.47%、0.21%、0.16%。结论 该方法简便、快速、准确、重现性好,可用于莲子心中3种生物碱的测定。

①收稿日期:2009-08-25

作者简介:何晓娟(1976—),陕西人,在读硕士,药物化学专业。

* 通讯作者 高文远 E-mail: pharimgao@tju.edu.cn