

HPLC 测定祖师麻不同部位紫丁香苷的含量

张金, 张超*

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定祖师麻中紫丁香苷含量的方法, 并比较祖师麻不同部位中紫丁香苷的含量。方法: 采用 70% 甲醇超声提取制备供试品溶液, 选用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 甲酸水(15:85), 检测波长 265 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C。结果: 紫丁香苷在 3.64 ~ 72.80 mg·L⁻¹ 有良好的线性关系($Y = 22.345X - 0.517, r = 0.9997$), 平均回收率为 99.47%, RSD 1.50%。结论: 紫丁香苷在叶部含量最低, 在芯部有较高的含量, 可考虑从祖师麻的根芯和茎芯中分离制备紫丁香苷。

[关键词] 祖师麻; 紫丁香苷; 高效液相色谱; 不同部位

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0096-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150096

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140609.1544.015.html>

[网络出版时间] 2014-06-09 15:44

Determination of Content of Syringin from Different Fractions in Cortex Daphnes by HPLC

ZHANG Jin, ZHANG Chao*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for the determination of the content of syringin and compare the distribution of syringin in the different parts of Cortex Daphnes. **Method:** 70% methanol and supersound was used to extract syringin. Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used to analyze syringin content with acetonitrile-0.1% methanoic acid aqueous solution as mobile phases. Flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Detection wavelength was set at 265 nm. **Result:** Linearity of each standard was established in the concentration range of 3.64-72.80 mg·L⁻¹ for syringin, with correlation coefficient $r = 0.9997$. Average recoveries ($n = 6$) of syringin was 99.47% with a RSD of 1.50%. **Conclusion:** The content of syringin in the leaf segment is the lowest. The elder pith is higher in the content of syringin. So, solution and preparation of syringin from the elder pith of root and stem can be considered.

[Key words] Cortex Daphnes; syringin; HPLC; different fraction

祖师麻为瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche、陕甘瑞香 *D. tangutica* Maxim. 或凹叶瑞香 *D. retusa* Hemsl. 的干燥茎皮及根皮, 收载于 1977 年版《中国药典》一部, 具有祛风湿, 活血止痛的作用, 临床常用于风湿痹痛, 关节炎, 类风湿性关节炎。相

关祖师麻化学成分的研究均从以上 3 种来源中分离获得紫丁香苷^[1-3], 亦有文献[4-6]将紫丁香苷作为祖师麻药材及其制剂质量控制的指标之一, 但未见 HPLC 测定祖师麻不同部位中紫丁香苷含量的报道, 本研究分析了紫丁香苷在祖师麻不同部位的分

[收稿日期] 20130804(002)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09401-302-4-12)济南市高校院所自主创新科技计划项目(201102017)

[第一作者] 张金, 博士, 从事中药资源与中药质量控制研究, Tel: 0531-89628081, E-mail: aazhangjin78527@126.com

[通讯作者] * 张超, 博士, 讲师, 从事中药新制剂新技术和中药炮制研究, E-mail: zhangchaotem@126.com

布情况,为全面评价和利用祖师麻不同部位奠定基础。

1 材料

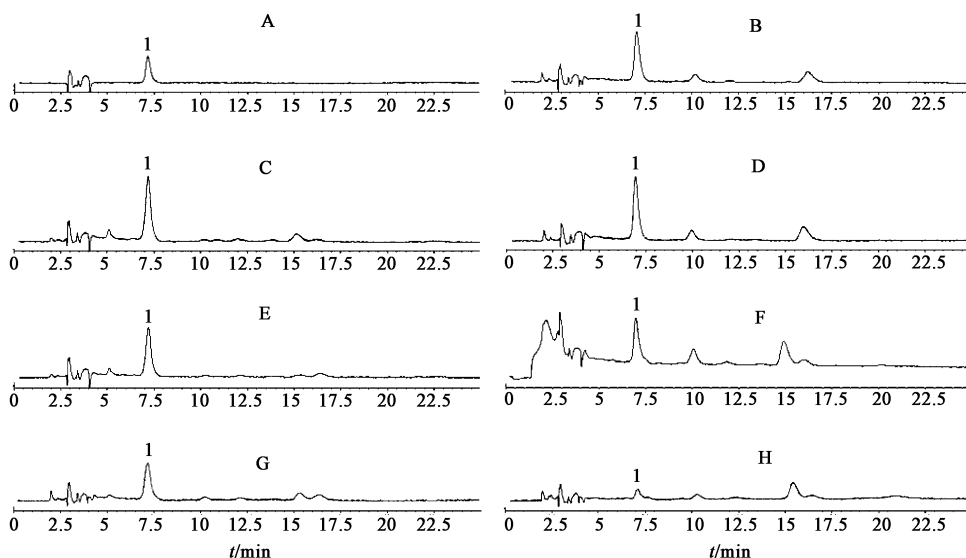
1100系列高效液相色谱仪(G1312A二元泵、G1315B紫外检测器、G1316A柱温箱,美国安捷伦科技公司),KQ-250E型医用超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司),AE240型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);甲醇、乙腈均为色谱纯,水为高纯水,其他试剂为分析纯;紫丁香苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号111574-200502,供含量测定用);祖师麻样品采自甘肃省陇南市康县(采集时间为2013年5月下旬),经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为瑞香科植物黄瑞香

Daphne giraldii Nitsche。

2 方法与结果

2.1 祖师麻不同部位样品的制备 祖师麻全植株采集后,按照产地处理方式干燥,取干燥全植株分离制备根皮、根芯、老茎皮、老茎芯、嫩茎皮、嫩茎芯和叶等7个部位,每个部位均取100 g分别粉碎,使通过二号筛,以备测定含量和水分。

2.2 色谱条件 Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1%甲酸水(15:85),检测波长为265 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温25℃。在此条件下,对照品、供试品色谱均在7 min相同时间有同一色谱峰,附近无其他杂质峰干扰,见图1。



A. 对照品;B. 根皮;C. 根芯;D. 老茎;E. 老茎芯;F. 嫩茎皮;G. 嫩茎芯;H. 叶;1. 紫丁香苷

图1 祖师麻不同部位 HPLC

2.3 对照品溶液制备 精密称取紫丁香苷对照品1.82 mg,置25 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 取祖师麻不同部位0.25 g,精密称定,分别置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,称定质量,超声处理30 min,放冷,再称定质量,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.5 线性关系考察 分别精密量取2.3项下对照品溶液0.5,1.0,2.0,4.0,8.0 mL置10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。分别吸取以上稀释溶液和原对照品溶液各20 μL进样测定,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。结果紫丁香苷对照品在3.64~72.80 mg·L⁻¹有良好的线性关系($Y =$

$22.345X - 0.517, r = 0.9997$)。

2.6 精密度试验 吸取紫丁香苷对照品溶液(14.56 mg·L⁻¹),重复测定5次,结果紫丁香苷的精密度较好(RSD 0.67%)。

2.7 稳定性试验 取嫩茎芯供试品溶液,分别于0,2,4,8,12 h测定,结果紫丁香苷的稳定性较好(RSD 1.29%)。

2.8 重复性试验 取老茎芯粉末0.25 g,精密称定,共5份,按确定的含量测定方法测定紫丁香苷的含量,结果重复性好,变异系数小,符合含量测定要求(RSD 1.17%)。

2.9 加样回收试验 取已测定含量的老茎芯样品(紫丁香苷质量分数为5.014 mg·g⁻¹,未按干燥品计算)约0.12 g,精密称定,共6份,加入适量的紫丁

香苷对照品,按确定方法测定,结果见表 1。

表 1 紫丁香苷回收率试验

样品量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.133 7	0.670 4	0.314 8	0.986 9	100.55		
0.119 8	0.600 7	0.314 8	0.908 8	97.89		
0.130 5	0.654 3	0.314 8	0.964 1	98.41		
0.124 6	0.624 7	0.629 6	1.247 6	98.92		
0.135 2	0.677 9	0.629 6	1.319 4	101.88	99.10	1.35
0.127 1	0.637 3	0.629 6	1.260 7	99.01		
0.120 9	0.606 2	0.944 4	1.542 9	99.19		
0.128 5	0.644 3	0.944 4	1.573 3	98.37		
0.125 9	0.631 3	0.944 4	1.554 2	97.72		

2.10 样品的含量测定 分别取祖师麻不同部位样品 0.25 g 各 3 份,精密称定,按 2.4 项下供试品溶液制备方法 & 2.2 项下色谱条件进行测定,计算各样品中紫丁香苷含量,并均按干燥品进行折算,见表 2。

表 2 紫丁香苷含量测定 (n=3)

样品	水分/%	紫丁香苷	
		质量分数/mg·g ⁻¹	RSD/%
根皮	10.58	5.474	1.60
根芯	9.11	6.068	1.84
老茎皮	10.05	6.215	1.46
老茎芯	9.50	5.540	1.52
嫩茎皮	9.78	4.995	1.70
嫩茎芯	9.45	4.568	1.54
叶	11.09	0.879	1.38

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的考察 紫丁香苷稳定性差,易被氧化,对光、热敏感,供试品溶液制备时比较了甲醇超声和甲醇回流的提取结果,发现超声提取对紫丁香苷的提取效果较好,故采用更为简便的超声提取法。同时,分别考察了不同浓度甲醇水溶液对紫丁香苷提取效果的影响,结果发现 70% 甲醇提取率高,故采用 70% 甲醇作为提取溶剂。

3.2 色谱条件的考察 紫丁香苷在 223,265 nm 处有最大吸收,考察发现在 265 nm 下紫丁香苷即使保留时间较短,也不存在干扰峰,其他杂质峰较少,图谱效果好,故选择检测波长为 265 nm。还对流动相系统进行了考察,发现无论是甲醇-水、乙腈-水体系,虽不影响成分的分离,但加入酸(磷酸、甲酸、乙

酸均可)能明显改善峰形,最终确定了乙腈-0.1% 甲酸水洗脱体系。

3.3 结果分析 由表 2 可知,紫丁香苷在叶部含量最低,其他 6 个部位的含量为叶部含量的 5~7 倍,紫丁香苷在芯部和皮部的分布未见显著差异,含量均较高。本实验所采集祖师麻全株采用产地常用的日晒夜露方式干燥,叶片呈暗褐色,作者同时将鲜叶片置阴凉处风干,叶片呈绿色,紫丁香苷质量分数为 2.116 mg·g⁻¹,与表 2 叶部结果差别较大,可见,叶部所含成分易受采收季节、干燥方式等因素影响。

紫丁香苷为典型的苯丙醇类酚苷化合物,具有调节机体免疫^[7]、抗炎^[7]、镇痛^[8]、中枢镇静作用^[8]、抗肝毒作用^[9]、降血压^[10]、抗肿瘤作用^[10]等活性。当前,多从救必应、毛泡桐皮中分离制备紫丁香苷供单体成分研究和应用,祖师麻的根芯和茎芯传统上是不药用的,但本研究发现其中含一定量的紫丁香苷,约在 0.5% 左右,可以考虑从祖师麻的非药用部位根芯、茎芯中分离制备紫丁香苷,这样既充分利用了祖师麻植物资源,又拓宽了紫丁香苷分离制备来源。

[参考文献]

[1] 扈晓佳. 四种药用植物的化学成分及活性研究[D]. 上海:上海交通大学,2009.

[2] 潘莉. 唐古特瑞香和大果大戟的化学成分研究[D]. 成都:中国科学院研究生院(成都生物研究所),2006.

[3] 李书慧. 祖师麻化学成分及其原植物黄瑞香细胞培养的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005.

[4] 齐香君,李楠,单燕凤,等. HPLC 法测定祖师麻中紫丁香苷[J]. 中草药,2005,36(8):1243.

[5] 张晓萍,丁永辉,李玲莉,等. HPLC 法测定祖师麻膏药中祖师麻甲素和紫丁香苷[J]. 中成药,2011,33(10):1727.

[6] 周颖,庞兴寿. 祖师麻注射液中紫丁香苷和祖师麻甲素的含量测定[J]. 中国药业,2010,19(4):25.

[7] 宋媛媛,李媛,张洪泉. 丁香苷抗炎镇痛作用及部分机制研究[J]. 中国野生植物资源,2010,29(4):27.

[8] 陈日道. 天山雪莲培养物的化学成分及紫丁香苷含量研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2009.

[9] 聂淑琴. 紫丁香苷对半乳糖胺致肝毒性的防护作用[J]. 国外医学:中医中药分册,2000,22(6):346.

[10] Mansoor Ahmad, Khalid Aftab. Hypotensive action of syringin from *Sytingia vulgaris*[J]. Phytother Res, 1995, 9(6):452.

[责任编辑 邹晓翠]