

HPLC 测定祖师麻药材及不同炮制品中祖师麻甲素

康阿龙¹, 汤迎爽², 张苏衡², 孙成荣¹, 张娴¹

(1. 解放军第四五一医院, 西安 710054; 2. 解放军第三二三医院, 西安 710054)

[摘要] 目的: 测定祖师麻及其不同炮制品中祖师麻甲素的含量。方法: 采用 RP-HPLC, C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.5% 磷酸水溶液(20:80), 检测波长 327 nm。测定 18 批祖师麻药材及炮制品中祖师麻甲素含量。结果: 祖师麻甲素在 0.102 ~ 0.510 μg ($r=0.9999$) 与峰面积值呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 98.09% ($n=6$), RSD 0.92%。各样品中祖师麻甲素含量差异较大(0.01% ~ 1.11%), 但炮制前后含量变化不大。结论: 该分析方法快速、准确、重复性好, 为祖师麻药材及炮制品综合质量评价体系的建立提供理论和实验依据。

[关键词] 祖师麻; 炮制品; 祖师麻甲素; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0039-03

Measurement of Daphnetin Contents in Cortex Daphnes and Different Processed Drugs by HPLC

KANG A-long¹, TANG Ying-shuang², ZHANG Su-heng¹, SUN Cheng-rong¹, ZHANG Xian¹

(1. No. 451 Hospital of PLA, Xi an 710054, China; 2. No. 323 Hospital of PLA, Xi an 710054, China)

[Abstract] Objective: To compare the contents of daphnetin in the raw medical material and the different processed products of Cortex Daphnes. **Method:** The contents of daphnetin in 18 samples of Cortex Daphnes and its processed drugs were determined by HPLC. Chromatographic conditions included Hypersil C₁₈ column and the mobile phase consisted of a mixture of methanol 0.5% phosphoric acid (20:80). Daphnetin was detected at 327 nm. **Result:** Daphnetin was linear in the range of 0.102 ~ 0.510 μg with correlation coefficient 0.9999. The average recovery was 98.09% with RSD 0.92% ($n=6$). The contents of daphnetin in 18 samples was big difference (0.01% ~ 1.11%). But the change of contents was small before and after processed. **Conclusion:** The method of analysis was fast, accurate and practicable. The study would provide theoretical and experimental data in order to evaluate the quality of Cortex Daphnes and its processed drugs systematically.

[Key words] Cortex Daphnes; processed drugs; daphnetin; HPLC

祖师麻 Cortex Daphnes 为瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche、陕甘瑞香 *D. tangutica* Maxim. 和凹叶瑞香 *D. retusa* Hemsl. 的干燥根皮与茎皮。始载于《陕西中草药》, 辛、苦, 温; 有小毒; 归肝经。具祛风除湿, 活血止痛的功能。用于风湿痹痛, 关节疼痛, 跌打损伤, 关节炎, 类风湿性关节

炎^[1]。祖师麻主要含有香豆素类、黄酮类、二萜类、木脂素等成分^[2], 以祖师麻甲素为代表的香豆素类成分具有抗炎、镇痛、抑菌、抗血栓、抗凝等药理作用^[3], 为祖师麻的主要活性成分, 其含量测定方法已有文献报道^[4-5], 祖师麻炮制品饮片主要有祖师麻咀和姜祖师麻, 前者为祖师麻经切制后直接入药的饮片, 后者是用姜汁进行加工后的饮片, 增强了散寒止痛的功能。这 2 种炮制品饮片中祖师麻甲素的含量未见报道, 本文对此建立了操作简便、准确可靠的 HPLC 测定法, 测定了 18 个批次的祖师麻药材及炮制品中的含量, 考察了炮制过程对有效成分产生的

[收稿日期] 20100714(007)

[基金项目] 《陕西省中药饮片标准》研究课题项目

[第一作者] 康阿龙, 副主任药师, 研究方向中药资源、鉴定及分析, 医院药学, Tel: 029-84734159, E-mail: kalong1900@163.com

影响,为祖师麻药材及其炮制品饮片的综合质量评价体系建立提供理论和实验依据。

1 仪器与试剂

美国热电 P4000 高效液相色谱仪,UV1000 检测器,SEPU3000 数据工作站(杭州普惠)。

祖师麻甲素对照品(供含量测定用,0900-200001,中国药品生物制品检定所);从不同产地和饮片厂收集的 18 批祖师麻药材、饮片和炮制品,均经西安市药品检验所谢志明主任药师鉴定,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Diamonsil™ C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.5% 磷酸(20:80),检测波长 327 nm,柱温室温,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。对照品及祖师麻药材和炮制品饮片色谱图见图 1。

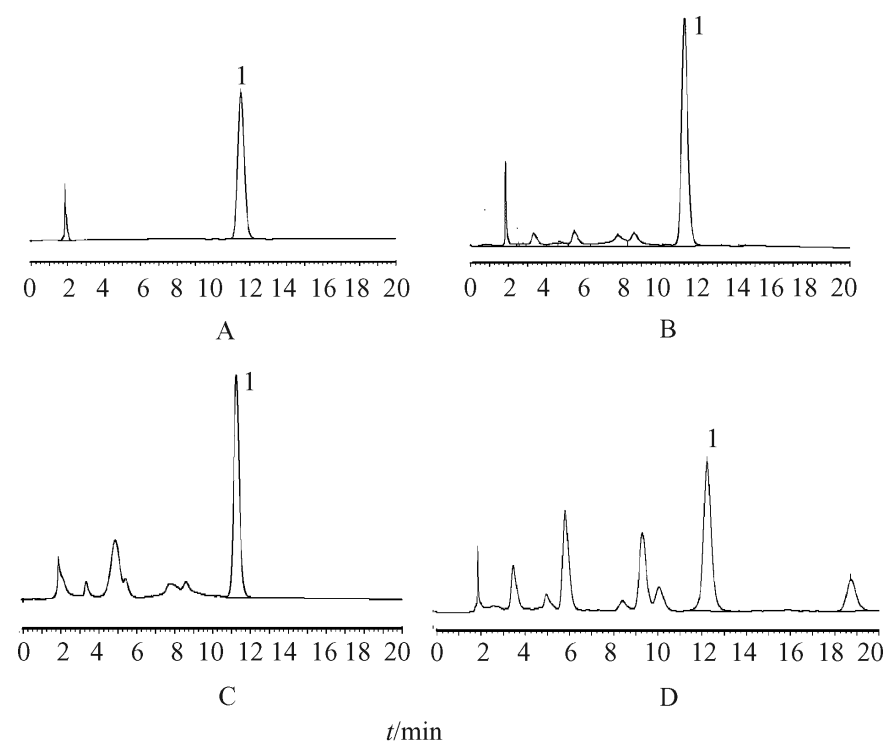


图 1 祖师麻 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 祖师麻药材; C. 祖师麻咀;

D. 姜祖师麻; 1. 祖师麻甲素

2.2 对照品溶液的制备 精密称取祖师麻甲素对照品 2.04 mg,置 10 mL 量瓶中,加 85% 乙醇使溶解,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 85% 乙醇 50 mL,称定质量,回流 2.5 h,放冷,再称定质量,用 85% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.4 线性关系考察 精密称取祖师麻甲素对照品 5.10 mg,置 100 mL 量瓶中,加 85% 乙醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,测定峰面积,并以峰面积对进样量

进行回归,得回归方程 $Y=7.50 \times 10^4 X+1.30 \times 10^4$, $r=0.9999$,以上结果表明在 0.102 ~0.51 μg 祖师麻甲素峰面积值与进样量呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定,结果仪器精密度 RSD 0.9%。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别放置 0, 2, 4, 6, 8 h,各精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,测定,祖师麻甲素 RSD 1.0%,表明其在 8 h 内测定,结果稳定。

2.7 重复性试验 取同一批样品适量,精密称取 6 份,每份约 0.5 g,按 2.3 项下制备供试品溶液,在上述色谱条件下分析测定。祖师麻甲素平均含量为 0.31%,RSD 1.8%。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量(0.308%)的样品共 6 份,分别置具塞锥形瓶中,各精密加入对照品溶液(155.3 mg·L⁻¹) 5 mL,按供试品制备方法制成加样回收供试品溶液,按上述色谱条件分析测定,计算,祖师麻甲素平均回收率为 98.09%,RSD 0.92%(见表 1)。

表 1 祖师麻甲素加样回收率测定

取样量 /g	样品含量 /mg	对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.251 2	0.773 7	0.776 5	1.540 4	98.74	98.09	0.92
0.252 9	0.778 9	0.776 5	1.536 7	97.59		
0.250 8	0.772 5	0.776 5	1.532 0	97.81		
0.248 3	0.764 8	0.776 5	1.515 2	96.64		
0.257 6	0.793 4	0.776 5	1.559 8	98.70		
0.254 2	0.782 9	0.776 5	1.551 9	99.03		

2.9 含量测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,进样,测定,计算,18 批药材及炮制品(祖师麻咀、姜祖师麻)中祖师麻甲素的测定结果见表 2。

3 讨论

本文比较了不同提取溶剂(95% 乙醇、85% 乙醇、65% 乙醇、甲醇、85% 甲醇、65% 甲醇)和不同提取方法(超声和加热回流)的提取效率,并对回流提取时间(1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h)进行了考察,结果显示最佳溶剂为 85%;回流提取比超声可提高 20%,最佳回流时间为 2.5 h。

我们近年来对祖师麻药材主产地和市场商品药材调查发现,陕西秦岭地区的太白山有较大的蕴藏

量, 3 个主要品种均有分布, 其中以主流品种黄瑞香的分布较多, 含量较高, 而市场商品药材以黄瑞香和陕甘瑞香为主。

表 2 18 批祖师麻药材及炮制品饮片中

祖师麻甲素质量分数 (n=3) %

No.	样品名称	批号或采集时间	产地	祖师麻甲素质量分数
1	祖师麻药材	20050915	陕西	0.31
	祖师麻咀	20050917	陕西	0.35
	姜祖师麻	20050917	陕西	0.41
2	祖师麻药材	20050930	宝鸡	0.65
	祖师麻咀	20051002	宝鸡	0.63
	姜祖师麻	20051002	宝鸡	0.73
3	祖师麻咀	20080312	陕西	0.54
	姜祖师麻	20080312	陕西	0.52
4	祖师麻咀	20080410	陕西	1.11
	姜祖师麻	20080410	陕西	0.98
5	祖师麻药材	20080515	眉县	0.48
6	祖师麻药材	20090608	眉县	0.31
7	祖师麻咀	051001-1	汉中	0.01
	姜祖师麻	051001-1	汉中	0.01
8	祖师麻咀	20071216	陕西	0.02
	姜祖师麻	20080105	陕西	0.02
9	祖师麻咀	20070829	陕西	0.02
	姜祖师麻	20070829	陕西	0.01

注: 每一组为同批样品的不同炮制品饮片。

18 个批次样品测定结果显示, 不同饮片厂提供的药材或饮片, 含量差异很大, 最高的达 1.1%, 最低于只有 0.01%, 其原因一是药材品种不同, 文献显示有瑞香属多个品种的药材当祖师麻使用^[6], 可

见其品种之混乱, 所以很有必要对其品种进行考证与研究, 规定其药材来源。另一方面与其产地及采收期有关。不同的产地, 气候土壤不同, 对植物次生代谢产物的生成有直接的影响, 采收期不同, 植株生长状态不同, 成分肯定存在差异; 再者, 本品的药用部位是根皮或茎皮, 药材中根皮与茎皮所占的比例不同, 含量也会有所不同。

炮制品饮片主要有祖师麻咀和姜祖师麻 2 种, 前者是将其除去杂质及非药用部位, 洗净, 稍润, 切成小段, 干燥即得。后者是将饮片祖师麻, 照姜汁炙法炒至姜汁被吸尽即得。测定结果显示, 同批药材与其加工后的 2 种炮制品饮片含量略有差异, 但相差很小, 可见饮片加工过程对祖师麻甲素未产生严重破坏, 说明炮制工艺较为合理。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 第 5 册. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 407.
- [2] 李书慧, 吴立军, 殷红英. 祖师麻化学和药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 401.
- [3] 张文亮, 李荣亨. 瑞香素药理作用研究现状[J]. 实用中医药杂志, 2007, 23(6): 402.
- [4] 党秋萍, 周军, 刘建峰. HPLC 测定祖师麻药材中祖师麻甲素的含量[J]. 陕西中医, 2006, 27(6): 734.
- [5] 位海强, 袁才英, 杨金凤, 等. 祖师麻质量标准研究[J]. 广东药学, 2004, 14(3): 1.
- [6] 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): 109.

[责任编辑 顾雪竹]