

高效液相色谱法测定蔓荆子生品与炮制品中蔓荆子黄素的含量

王 坤^{1*}, 张桂菊², 王 宏³

(1. 山东省药品检验所, 山东 济南 250000; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250000;
3. 山东科伦药业有限公司, 山东 济南 250101)

[摘要] 目的: 建立蔓荆子的含量测定方法及测定生品与不同炮制样品蔓荆子黄素含量变化。方法: 高效液相色谱法, 色谱柱用 Hypersil BDS(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(60:40), 检测波长为 258 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 ℃。对不同地区生品与不同炮制方法制备的蔓荆子中蔓荆子黄素的含量进行测定。结果: 蔓荆子黄素线性范围为 0.1525~0.7625 μg, r = 0.999 9, 平均回收率为 98.39%, RSD = 1.48%。蔓荆子经清炒炮制后, 样品中蔓荆子黄素含量略有上升; 经炒焦、炒炭炮制后, 样品中蔓荆子黄素的含量下降, 以炒炭法含量最低。结论: 不同炮制方法使蔓荆子炮制前后蔓荆子黄素的含量发生明显改变。

[关键词] 蔓荆子; 蔓荆子黄素; 高效液相色谱法; 炮制品

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-0011-02

蔓荆子为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *Vitex trifolia* L. 的干燥成熟果实, 是用于风热感冒头痛的常用药。蔓荆子应用历史悠久, 其炮制方法有微炒、炒焦、炒炭等多种饮片规格用于临床。对于蔓荆子及其炮制品的含量标准还不完善, 而蔓荆子黄素是蔓荆子的主要化学成分^[1], 因此我们以蔓荆子黄素为指标, 在对其方法学研究的基础上, 我们对不同地区生品与不同炮制方法制备的蔓荆子中蔓荆子黄素的含量进行测定, 明确了不同炮制方法对蔓荆子中蔓荆子黄素含量的影响。从而为蔓荆子的合理炮制与质控指标的建立及蔓荆子的深入研究提供客观依据。

1 仪器与试剂

Waters 515-717-2487 型高效液相色谱仪, METTLER 电子天平。试剂为色谱纯或分析纯。蔓荆子黄素(中国药品生物制品检定所提供); 蔓荆子药材购自不同地区市售品。

2 溶液的制备

2.1 对照品溶液制备 取蔓荆子黄素对照品约 15

mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 每 1 mL 含 30 μg 对照品。

2.2 供试品溶液制备 取蔓荆子生品与炮制品粉末(过三号筛)约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件 色谱柱为 Hypersil BDS(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(60:40); 检测波长为 258 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 35 ℃。在该液相色谱条件下, 色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察 分别吸取上述对照品溶液 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 μL 进样, 按上述色谱条件测定, 以蔓荆子黄素峰面积积分值为纵座标, 蔓荆子黄素对照品的量为横座标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 3\,300\,670.82X - 770.7$, $r = 0.999\,9$, 线性范围为 0.1525~0.7625 μg。

2.5 精密度试验 在上述色谱条件下, 对同一浓度的对照品溶液连续进样 6 次, RSD 为 0.78%。

2.6 重复性试验 按照样品测定方法, 对同一批号样品进行 5 次平行试验, 测定含量, 计算得 RSD 为 1.56%。

2.7 稳定性试验 在室温条件下, 将供试品溶液放

[收稿日期] 2009-06-12

[基金项目] 国家“十五”重大科技专项“五十味中药饮片炮制规范化研究”(2001BA701A55)

[通讯作者] * 王 坤, Tel: (0531) 81216508

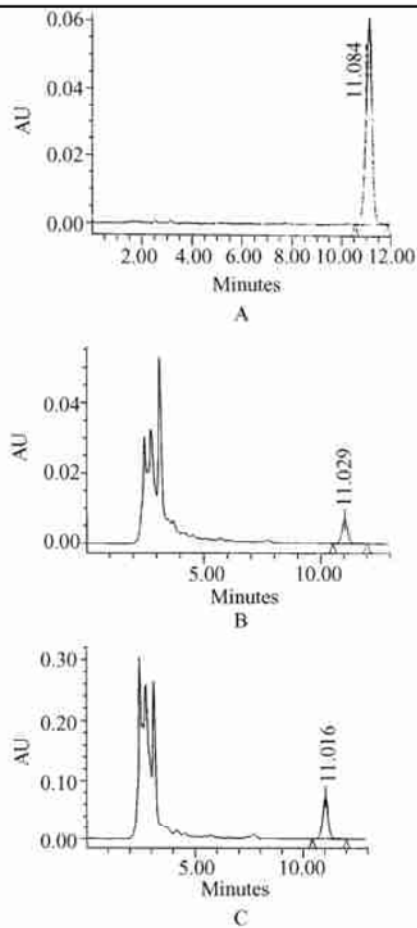


图 1 蔓荆子的 HPLC 色谱图
A. 对照品; B. 生品; C. 清炒

置 0.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0 h, 按照上述色谱条件进行测定, 记录峰面积积分值, 计算得 RSD 为 1.68%, 说明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验 称取已知含量的蔓荆子药材中粉约 1 g (蔓荆子黄素含量为 0.079%) 5 份, 精密称定, 分别加入蔓荆子黄素储备液 1 mL (精密称取蔓荆子黄素对照品 8.15 mg, 甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 作为蔓荆子黄素对照品的储备液), 按照样品含量测定方法, 进行测定, 得平均回收率为 98.39%, RSD 为 1.48% (n=5)。见表 1。

表 1 蔓荆子黄素加样回收率试验数据

编号	取样量 (g)	含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.024 1	0.809 0	0.815	1.622 9	99.86		
2	1.054 7	0.833 2	0.815	1.624 4	97.08		
3	1.078 2	0.851 8	0.815	1.639 2	96.62	98.39	1.48
4	1.033 9	0.816 8	0.815	1.627 3	99.45		
5	1.015 3	0.802 1	0.815	1.608 6	98.96		

2.9 蔓荆子不同炮制品中蔓荆子黄素含量测定 分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 10 μL 进样

测定, 计算, 见表 2。炮制品为山东中医药大学炮制教研室吕文海教授炮制。

表 2 不同地区蔓荆子生品与炮制品蔓荆子黄素的含量测定结果 (n=3)

地区名称	炮制方法	平均含量 (%)	RSD (%)
山东威海	生品	0.079	0.56
	清炒品	0.081	0.69
	炒焦品	0.032	0.35
	炒炭品	—	0
江西	生品	0.092	0.26
	清炒品	0.095	0.53
	炒焦品	0.042	0.96
	炒炭品	未检出	0
浙江	生品	0.055	0.31
	清炒品	0.051	0.20
	炒焦品	0.021	0.88
	炒炭品	未检出	0
江苏	生品	0.065	0.22
	清炒品	0.068	0.67
	炒焦品	0.030	1.13
	炒炭品	—	0
广西	生品	0.041	0.22
	清炒品	0.040	0.67
	炒焦品	0.025	1.13
	炒炭品	—	0

4 讨论

实验结果表明, 蔓荆子经清炒炮制后, 样品中蔓荆子黄素的含量略有上升, 经炒焦、炒炭炮制后, 样品中蔓荆子黄素的含量下降, 且炒炭中蔓荆子黄素的含量较炒焦品含量更低。说明蔓荆子不同炮制方法对蔓荆子中蔓荆子黄素的含量均有不同程度影响, 且炒焦法、炒炭法对其的影响更大。本研究为蔓荆子炮制品质量标准的制订提供参考资料。

本实验研究表明, 蔓荆子炮制品与生品在化学成分上有很大的区别。因此, 有必要对蔓荆子各炮制品的化学变化及药理进行研究, 阐明化学成分在各炮制品中的作用和地位。在制订蔓荆子质量标准时, 应将炮制品与生品相区分, 单独制订蔓荆子炮制品(饮片)的质量标准。

[参考文献]

[1] 王 坤, 管玉民. HPLC 法测定蔓荆子黄素的含量[J]. 中草药, 1999, 30(1): 26-27.