

HPLC 测定藏药翼首草中马钱苷的含量

谭德, 古锐, 张艺*, 孟宪丽, 赖先荣
(成都中医药大学 民族医药学院, 四川 成都 611137)

【摘要】 目的: 建立藏药翼首草中马钱苷的含量测定方法, 可为翼首草质量标准提高提供参考。方法: 运用高效液相色谱法测定, 色谱柱为 Welchrom C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈-水(12:88), 流速 1 mL·min⁻¹; 检测波长 240 nm。结果: 马钱苷在 0.06~1.2 μg 线性关系良好($r=0.9999$)。平均回收率为 97.0%, RSD 1.4%。结论: 该方法操作简便, 测定结果可靠, 可以为翼首草的质量控制提供参考。

【关键词】 藏药; 翼首草; 马钱苷; 高效液相色谱法

翼首草又名榜孜毒乌, 为川续断科植物匙叶翼首草 *Pterocephalus hookeri* (C. B. Clarke) Høeck 的干燥全草, 系大宗藏药材^[1], 2000 年被西藏红十字会列为一级濒危藏药^[2]。翼首草具有解毒除瘟, 清热止痢, 祛风通痹之功效, 主治外感发热, 风湿热痹等症, 临床用于治疗类风湿性关节炎。目前主要通过测定游离三萜皂苷元齐墩果酸和熊果酸来控制翼首草药材的质量^[3-4], 尚未见翼首草药材或其制剂中对其它化合物含量测定的相关报道。马钱苷是翼首草中重要的化学成分^[5], 具有抗炎、抗氧化等作用^[6-7], 建立马钱苷的含量测定方法, 对翼首草药材及其制剂质量标准完善具有重要的意义。本实验在确定了测定方法后, 对 20 个批次不同产地来源翼首草及其地上地下部位中马钱苷含量进行了测定。

1 材料

岛津 LC-2010A HT(四元泵, 自动进样器, 紫外检测器), LC solution 化学工作站; UPT-I-10T 型优普 PUT 系列超纯水器; ASI0200 超声波清洗器(天津奥特赛斯仪器有限公司)。

马钱苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 111640-200604); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

药材原植物经成都中医药大学民族医药学院张

艺研究员鉴定为川续断科植物匙叶翼首花 *P. hookeri*。药材分为全草、地上部分(叶、花萼、花)和地下部分(根及根茎)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 Welchrom C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水(12:88); 检测波长 240 nm; 柱温 30 °C; 流速 1 mL·min⁻¹。理论塔板数以马钱苷计不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备 取马钱苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含马钱苷 60 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取药材粉末(过 3 号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 密塞, 称重, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 再称重, 用甲醇补足失重, 离心 20 min (3 000 r·min⁻¹), 取上清液经微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 线性关系考察 分别吸取对照品溶液 1, 2, 5, 10, 20 μL 进样测定, 以马钱苷峰面积积分值为纵坐标, 马钱苷对照品进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 1\,250\,745X$, $r = 0.9999$ 。马钱苷在 0.06~1.2 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取马钱苷对照品溶液 5 μL 连续进样 6 次, 峰面积 RSD 0.84%。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液在 0, 1, 2, 4, 12 h 分别进样 5 μL, 记录峰面积, RSD 0.43% ($n=5$), 表明马钱苷在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取同一批药材粉末 0.5 g, 同 2.3 项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 计算

【稿件编号】 20110307001

【基金项目】 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-327)

【通信作者】 * 张艺, 教授, 博士生导师, Tel: (028) 61800274, E-mail: 9006zmy@sina.com

马钱苷含量 其 RSD 1.1% ($n=6$)。

2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份已知含量的药材粉末 0.25 g, 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加

入马钱苷对照品溶液 ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.5 mL, 同 2.3 项下方法制备供试品溶液。结果平均加样回收率为 97.0%, RSD 1.4%, 见表 1。

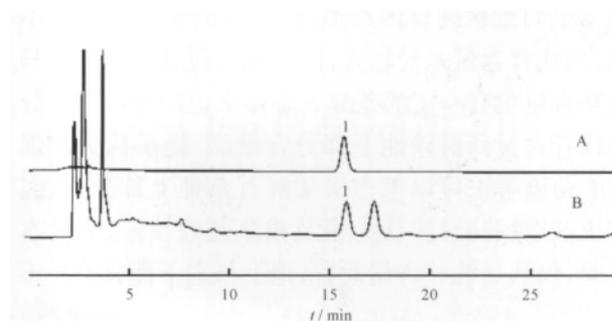
表 1 马钱苷加样回收率

No.	取样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.248 8	0.477 7	0.500 0	0.955 1	95.48	97.0	1.4
2	0.250 8	0.481 5	0.500 0	0.963 5	96.39		
3	0.250 9	0.481 7	0.500 0	0.973 2	98.29		
4	0.249 0	0.478 1	0.500 0	0.960 1	96.40		
5	0.249 9	0.479 8	0.500 0	0.969 5	97.94		
6	0.251 0	0.481 9	0.500 0	0.970 3	97.68		

2.9 样品的测定 按上述方法分别对 15 批翼首草自采药材(样品 1~15)和 5 批商品药材(样品 16~20)进行了测定, 外标法计算马钱苷的含量。结果见图 1 表 2。

3 讨论

2 种常用的提取方法 2 种提取方法提取效率相当, 采用较为简便的超声提取; 分别对 20% 甲醇、60% 甲醇、80% 甲醇、甲醇和乙醇作为提取溶剂进行考察, 80% 甲醇优于其他提取溶剂; 对溶媒用量和提取时间进行了考察, 确定以 50 mL 溶媒提取 30 min 较完全。本方法操作简便, 可以准确测定翼首草药材中马钱苷的含量。



A. 马钱苷对照品; B. 翼首草样品; 1. 马钱苷。
图 1 翼首草对照品和样品的色谱图

表 2 翼首草中马钱苷的测定 ($n=2$)

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	药材来源	地下部分	地上部分	药材全草
1	康定县新都桥镇日阿宗巴	0.39	0.27	0.31
2	康定县塔公乡山坡草甸	0.32	0.73	0.49
3	道孚县八美镇草甸灌丛	0.10	0.20	0.12
4	道孚县八美镇雪瓦村附近	0.47	0.33	0.40
5	道孚县八美镇少乌农场嘎子桥	0.44	0.56	0.45
6	道孚县八美镇龙灯草原北口	0.06	0.03	0.02
7	炉霍县仲仁达乡林边草甸	0.44	0.69	0.62
8	炉霍县雅德乡林边草甸	0.28	1.00	0.41
9	甘孜县下雄乡灌丛草甸	0.41	1.67	0.88
10	甘孜县绒坝岔乡青裸地边	0.84	0.96	0.77
11	德格县错阿乡流石坡地	0.35	0.10	0.17
12	石渠县牧场高山草甸	0.12	0.12	0.17
13	若尔盖县唐克乡 1	1.39	1.33	1.24
14	若尔盖县唐克乡 2	1.57	1.57	1.50
15	若尔盖多玛山牧场	0.81	1.22	1.05
16	甘孜州藏医院	-	0.78	-
17	青海省药材市场卓玛藏蒙药材所	1.34	1.04	1.18
18	西藏样毛加药材收购站	1.64	-	-
19	西藏卓玛药材收购站	0.99	1.41	1.34
20	西藏俄吾药材收购点	-	-	0.57

引入马钱苷的含量测定能够更全面的控制翼首草药材质量。药典2010年版翼首草项下采用HPLC测定齐墩果酸和熊果酸的含量,旨在通过测定二者的含量控制翼首草药材中三萜皂苷的含量。课题组通过市场调查发现,不同批次药材中地上部分与地下部分比例差异大;同时,参考药典条件研究表明:翼首草地上与地下部位齐墩果酸和熊果酸含量差异较大,药材地下部位游离皂苷元的含量普遍低于药典规定指标,而水解测定齐墩果酸和熊果酸含量药材地下部分反而较地上部分高,提示单以未水解条件下游离皂苷元评价翼首草药材质量可能不够全面,可考虑选用马钱苷作为指标,与齐墩果酸、熊果酸含量测定互补,客观反映翼首草药材质量。

不同批次药材因产地、贮藏时间长短等因素不同,马钱苷含量差异较大,同一批次药材不同部位马钱苷含量也有一定的差异。总体来说药材地上部分马钱苷含量药材较地下部分含量高,提示从资源保护的角度考虑可以考虑采集翼首草地上部分入药。传统藏医用药经验认为根及根茎药效较好,通过本试验,仅从马钱苷含量而言,地上与地下部分差异不

明显。本文建立了翼首草中马钱苷的含量测定方法,为翼首草药材质量标准的提高提供了参考和借鉴。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 358.
- [2] 李隆云,占堆,卫莹芳,等. 濒危藏药资源的保护[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 561.
- [3] 冯瑜娟,张芝. HPLC-ELSD法测定藏药翼首草中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 成都中医药大学学报, 2007, 30(3): 54.
- [4] 刘小兰,周剑波,陶燕铎,等. 高效液相色谱法测定翼首草中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(7): 546.
- [5] 田军,吴风铎,丘明华,等. 匙叶翼首花的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 12(1): 35.
- [6] Noriko Yamabe, Jeong Sook Noh, Chan Hum Park, et al. Evaluation of loganin, iridoid glycoside from Corni Fructus, on hepatic and renal glucolipotoxicity and inflammation in type 2 diabetic db/db mice [J]. Eur J Pharmacol 2010, 648(1/3): 179.
- [7] Seung-Hwan Kwon, Ji-Ah Kim, Sa-Ak Hong, et al. Loganin protects against hydrogen peroxide-induced apoptosis by inhibiting phosphorylation of JNK, p38, and ERK 1/2 MAPKs in SH-SY5Y cells [J]. Neurochem Int, 2011, 58(4): 533.

Determination of loganin in *Pterocephalus hookeri* by HPLC

TAN De, GU Rui, ZHANG Yi*, MENG Xianli, LAI Xianrong

(College of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of loganin in *Pterocephalus hookeri*. **Method:** The analysis was performed on a Welchrom C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-water (12:88) as the mobile phase at a flow rate of 1 mL · min⁻¹ and the detection wavelength was 240 nm. **Result:** The peak areas and injection amounts of loganin had a good linear relationship at the range of 0.06-1.2 μg. The average recovery was 97.0%, and the RSD was 1.4%. **Conclusion:** The method is simple, accurate, and can be used for its quality control.

[Key words] Tibetan medicinal material; *Pterocephalus hookeri*; loganin; HPLC

doi: 10.4268/cjcm20112418

[责任编辑 丁广治]