

## HPLC法测定螃蟹甲中山梔苷甲酯的含量

赵斌<sup>1,2</sup>, 董小萍<sup>1</sup>, 吴健明<sup>1</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 610075; 2. 中山火炬职业技术学院, 中山 528436)

**摘要** 目的: 采用反相高效液相色谱法测定螃蟹甲药材中山梔苷甲酯的含量。方法: 采用 TIANHE C<sub>18</sub> 色谱柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水 (12:88) 为流动相; 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长为 236 nm。结果: 山梔苷甲酯进样量在 0.052~0.52 μg 范围内, 与峰面积呈良好线性关系 ( $r = 0.9993$ ); 高、中、低 3 个剂量组平均回收率分别为 99.5%, 100.6%, 98.1%; RSD 分别为 1.1%, 1.3%, 0.42%。结论: 该方法简便、准确, 重复性好, 可作为螃蟹甲药材的质量控制方法。

**关键词:** 螃蟹甲; 山梔苷甲酯; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)02-0323-03

## HPLC determination of shanzhiside methyl ester in *Phlomis younghusbandii* Mukerjee

ZHAO Bin<sup>1,2</sup>, DONG Xiaoping<sup>1</sup>, WU Jianming<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 2. Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, China)

**Abstract Objective** To develop an RP-HPLC method for the determination of shanzhiside methyl ester in *Phlomis younghusbandii* Mukerjee. **Methods** TIANHE C<sub>18</sub> column (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water (12:88) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, the detective wavelength was set at 236 nm. **Results** The linear range of shanzhiside methyl ester was 0.052–0.52 μg ( $r = 0.9993$ ). In the high, medium, low concentration, the average recoveries of shanzhiside methyl ester were 99.5%, 100.6%, 98.1% with corresponding RSD 1.1%, 1.3%, 0.42%. **Conclusion** The method is simple and accurate with good repeatability which can be used for the quality control of *Phlomis younghusbandii* Mukerjee.

**Key words** *Phlomis younghusbandii* Mukerjee; shanzhiside methyl ester; RP-HPLC

螃蟹甲为唇形科糙苏属多年生草本植物螃蟹甲 (*Phlomis younghusbandii* Mukerjee) 的干燥块根, 藏药名为“露木尔”。主要分布于西藏、青海等省区<sup>[1]</sup>。其味苦性凉, 具有疏风清热、散寒润喉、止咳化痰、生肌敛疮等功效, 现收载于卫生部药品标准藏药第一册 (1995 版)<sup>[2]</sup>。目前未见关于该药含量测定方法的文献报道。山梔苷甲酯属于环戊烷型环烯醚萜苷, 在螃蟹甲药材中含量较大。本文采用高效液相色谱法测定螃蟹甲中山梔苷甲酯的含量, 可为螃蟹甲药材的质量控制提供一定的科学依据。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10ATvp 型高效液相色谱仪; KQ250B 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); Sartorius BP121S 电子天平 (德国赛多利斯公司); 乙腈为色谱纯 (Merck 公司), 水为重蒸水, 其余试剂均为分

析纯。山梔苷甲酯对照品为本实验室自制 (从螃蟹甲药材中分离得到, 通过<sup>1</sup>H-NMR 及<sup>13</sup>C-NMR 数据确定为山梔苷甲酯, 经 HPLC 面积归一化法计算, 纯度在 99% 以上)。螃蟹甲对照药材由中国药品生物制品检定所提供, 批号为 121407-200401; 螃蟹甲药材由成都中医药大学鉴定教研室严铸云副教授鉴别为唇形科糙苏属植物螃蟹甲 (*Phlomis younghusbandii* Mukerjee) 的干燥块根。

### 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 取螃蟹甲粉末 (过四号筛) 0.5 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 (150 W, 40 kHz) 30 min 冷却, 再称定重量, 加 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2 对照品溶液的制备** 取山栀苷甲酯对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 0.05 mg 的溶液,即得。

**2.3 色谱条件及系统适应性试验** 色谱柱: TIAN-HE C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 水 (12: 88); 检测波长: 236 nm; 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 进样量 5 μL。在该色谱条件下,药材色谱图中山栀苷甲酯色谱峰峰形对称,与其他成分达到基线分离,理论板数按山栀苷甲酯峰计算不低于 5000。色谱图见图 1。

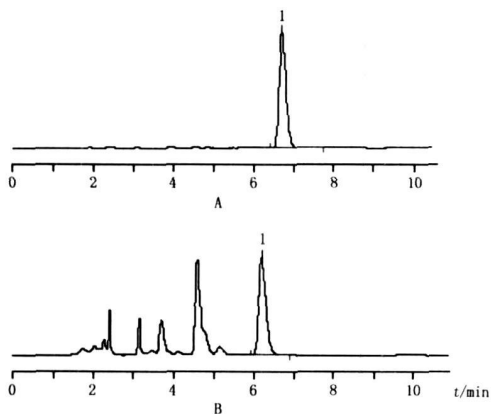


图 1 对照品 (A) 及 6 号样品 (B) 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and sample No 6 (B)

1. 山栀苷甲酯 (shan zhi si de methyl ester)

**2.4 线性关系的考察** 分别精密吸取 (0.052 mg ·

mL<sup>-1</sup>) 对照品溶液 1, 2.5, 5, 7.5, 10 μL 注入液相色谱仪, 测定。以进样量  $X$  (μg) 为横坐标, 峰面积  $Y$  为纵坐标作图, 绘制标准曲线, 得回归方程为:

$$Y = 1.649 \times 10^6 X - 3.264 \times 10^3 \quad r = 0.9993$$

结果表明: 山栀苷甲酯进样量在 0.052 ~ 0.52 μg 范围内, 与峰面积有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取 0.052 mg · mL<sup>-1</sup> 对照品溶液 5 μL, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 其 RSD 为 0.79%。

**2.6 重复性试验** 取同一药材粉末 (过四号筛) 6 份, 每份约 0.5 g 精密称定, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液。按上述色谱条件进行测定, 计算山栀苷甲酯平均含量为 0.38%, RSD 为 1.2%。

**2.7 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 精密进样 5 μL, 测定峰面积, 计算 RSD 为 1.8%, 表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

**2.8 加样回收率试验** 取已知含量 (0.38%) 的药材粉末 9 份, 每份约 0.25 g 精密称定, 每 3 份为一组, 分别精密加入 0.4707 mg · mL<sup>-1</sup> 对照品溶液 1.6, 2.0, 2.4 mL, 再按“2.1”项下方法制备加样回收供试液, 在上述色谱条件下进行测定, 计算回收率。其平均回收率分别为 99.5%, 100.6%, 98.1%; RSD 分别为 1.1%, 1.3%, 0.42%。

**2.9 样品测定** 分别取不同来源的螃蟹甲药材, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样 5 μL, 在上述色谱条件下进行测定, 采用外标一点法计算山栀苷甲酯的含量, 测定结果见表 1。

表 1 不同来源螃蟹甲中山栀苷甲酯的含量 (% , n = 3)

Tab 1 Content of shanzhisidemethyl ester in *Phlomis younghusbandii* Mukerjee from different sources

样品号 (sample No.)	来源 (source)	山栀苷甲酯含量 (content) %
1	西藏昌都 (Changdu Tibet)	0.35
2	西藏昌都 (Changdu Tibet)	0.30
3	四川阿坝 (Aba Sichuan)	0.10
4	青海 (购于成都荷花池中药材市场) (Qinghai obtained from Chengdu Hehuachi market of TCM)	0.22
5	四川 (购于成都荷花池中药材市场) (Sichuan obtained from Chengdu Hehuachi market of TCM)	0.13
6	西藏 (购于成都荷花池中药材市场) (Tibet obtained from Chengdu Hehuachi market of TCM)	0.38
7	中国药品生物制品检定所对照药材 (Reference drug from National Institute for the Control of Pharmaceutical Biological Products)	0.29

### 3 讨论

**3.1 螃蟹甲** 为常用藏药, 其对肺部疾病有显著疗效, 但目前质量控制标准水平较低, 未见其鉴别及含量测定的文献报道。本文以环烯醚萜类化合物山栀苷甲酯作为其含量测定指标, 所建立的高效液相色谱法具有操作简单、重复性好、准确性高等优点, 可为螃蟹甲药材的质量控制提供一定的科学依据。

**3.2 将山栀苷甲酯对照品溶液** 于 200 ~ 400 nm 进行紫外扫描, 其在 236 nm 处有最大吸收, 故选择 236 nm 作为最大测定波长。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

3.3 本试验对流动相甲醇-水、乙腈-水系统及不同比例进行了比较研究,结果表明采用乙腈-水(12:88)为流动相,分离度较好。

3.4 本试验对药材提取溶剂甲醇、50% 甲醇、水进行了考察,结果表明以 50% 甲醇作为提取溶剂提取效率最高;还对回流提取、超声提取、索氏提取 3 种提取方法进行了比较,结果表明超声法提取效率高,操作简便,提取时间短。对超声时间 15、30、60 min 进行了比较,结果表明提取 30 min 即可基本提取完全。

#### 参考文献

- 1 Qinghai Institute For Drug Control Qinghai Institution of Zang Medicine (青海省药品检验所,青海省藏医药研究所). China Zang Medicine, Vol 3 (中国藏药第三卷). Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Publishers (上海科学技术出版社), 1996. 310
- 2 Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health P.R. China Zang Medicine, Vol 1 (卫生部药品标准藏药第一册). 1995. 126

(本文于 2008 年 6 月 12 日修改回)

## 中国药学会杂志岛津杯 第九届全国药物分析优秀论文评选交流会征文通知

为推动我国药物分析事业的发展,促进药物分析技术的交流,在中国药学会支持下,中国药学会药物分析专业委员会、《中国药学杂志》编辑部和岛津国际贸易(上海)有限公司曾先后于 1992、1995、1997、1999、2001、2003、2005、2007 年 8 次分别在北京、苏州、西安、武汉联合举办中国药学会杂志岛津杯全国药物分析优秀论文评选交流会,该会议已成为药物分析界的品牌会议。2009 年即将举办中国药学会杂志岛津杯第九届全国药物分析优秀论文评选交流会。征文通知如下。

### 1 征文内容

近几年国内外药物分析新理论、新技术、新方法研究;现代分析手段和检测技术在药物分析中的应用;新药质量标准的建立和要求;注射剂的质控和安全性研究;药物血药浓度监测和药代动力学;药物生物利用度和溶出度的研究;药物快速分析检定新方法、新技术;毒物快速分析检定;药典标准的相关研究;计算机和数学在药物分析领域中的应用;药物分析技术在打假中的应用。

### 2 征文要求

2.1 要求未公开发表及未在全国性会议上交流过,有一定创新性和指导意义。

2.2 论文体例、格式请参见本刊 2009 年第 1 期稿约。

### 3 其他事宜

3.1 本次会议通过论文交流后将由国内著名药物分析专家组成评委会,评选出优秀论文一等奖 3 名(每名奖金 3000 元)、二等奖 6 名(每名奖金 2000 元)、三等奖 10 名(每名奖金 1000 元)。获得一、二等奖的论文在征得作者同意后将在《中国药学杂志》上发表。

3.2 征文截止时间:2009 年 4 月 30 日(以邮戳为准)。稿件及信封请注明“岛津征文”字样并附单位介绍信。同时将电子文件发至:daojinbei@yahoo.com.cn zgyxzz@cpha.org.cn(标题请注明岛津征文)。

3.3 联系地址及联系方式:地址:北京朝阳区建外大街 4 号建外 SOHO 九号楼 1803 室(邮编:100022)。联系人:李亚娟 田菁 电话:010-58699275/80 转 831/829 传真:010-58699295

3.4 会议时间及地点:2009 年 5 月(暂定)。地点:广州市(暂定)。

3.5 应征论文被录用后,将通知作者,论文录用与否,一律不退稿,请自留底稿。

中国药学会药物分析专业委员会  
中国药学会杂志编辑部