

反相高效液相色谱法测定植物钩藤中钩藤碱含量

仲崇林^{a*} 赵为民^b 杨美林^a 刘诗月^a 许家杰^c

(^a吉林省中医中药研究院 长春 130021; ^b长春中医学院附属医院 长春; ^c吉林敖东延边药业股份有限公司 敦化)

摘 要 采用反相高效液相色谱法测定了 5 种植物钩藤中钩藤碱含量。色谱柱为 Diamonsil C₁₈; 流动相为 V(甲醇):V(体积分数为 0.02% 三乙胺溶液)=70:30 混合液; 检测波长为 250 nm。测定结果表明, 钩藤碱的平均回收率为 98.98%, RSD=1.31% (n=5)。

关键词 钩藤, 钩藤碱, 高效液相色谱法

中图分类号: Q657 文献标识码: A 文章编号: 1000-0518(2006)09-1061-02

钩藤为茜草科植物钩藤的带钩茎枝, 具有清热平肝、息风定惊之功效。临床上主要用于治疗高血压病。通过对钩藤的降血压作用有效成分进行研究, 证实钩藤总生物碱具有稳定持久降血压作用^[1~3]。在钩藤总生物碱中主要有 4 种生物碱^[4~7], 钩藤碱 (Rhynchophylline)、异钩藤碱 (Isorhynchophylline)、去氢钩藤碱 (Corynoxene)、异去氢钩藤碱 (Isocorynoxene)。2005 年版《中国药典》钩藤项下收载 5 种钩藤来源, 分别为: 钩藤 (Uncaria rhynchophylla (Miq.) Jacks), 大叶钩藤 (Uncaria macrophylla Wall.), 毛钩藤 (Uncaria hirsuta Havil.), 华钩藤 (Uncaria sinensis (Oliv.) Havil.), 无柄果钩藤 (Uncaria sessilifructus Roxb.)。但未对上述 5 种钩藤所含有效成分进行含量限定, 也未见对其进行含量测定的文献报道。本文对 5 种钩藤进行了含量测定, 为临床用药提供一定参考依据。

LC-DAT^{VP}型高效液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-10AVP 型检测器; 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μL), 流动相为 V(甲醇):V(体积分数为 0.02% 三乙胺溶液)=70:30 流速为 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm; 柱温室温; N2010 型色谱数据工作站 (浙江大学智能信息工程研究所)。

钩藤碱对照品自制, 纯度>99%。5 种钩藤植物 (云南省医药公司), 甲醇 (色谱纯), 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

精确称取钩藤碱试样, 配制每毫升甲醇中含钩藤碱 56 μg 的溶液作为对照试样。分别吸取 3.0、6.0、9.0、12.0 和 15.0 μL 上述溶液, 注入高效液相色谱仪, 按上述条件测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 钩藤碱的浓度为横坐标, 测定结果进行线性回归计算。测得回归方程: Y=-4 700.40+361 502.38X (r=0.999 9)。结果表明, 钩藤碱含量在 0.168~0.840 μg 范围内呈良好的线性关系。

分别取 40 mm 的 5 种药材 (表 1) 粉末 7.0 g 浓氨水湿润, 置索氏提取器中, 60 mL 氯仿回流提取 6 h 提取液水浴蒸干, 残渣加 50 mL 体积分数为 2% HCl 溶解, 滤过, 用浓氨水调 pH 值为 11~13 氯仿提取, 至无生物碱反应为止。提取液水浴蒸干, 残渣中加入体积分数为 2% HCl 溶解, 定容于 50 mL 称量瓶中。分别吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以外标法计算。

结果与讨论

样品的液相色谱含量测定结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果

Table 1 Sample content analysis results

Sample	ω (Rhynchophylline) /%	Sample	ω (Rhynchophylline) /%
I Uncaria rhynchophylla	0.019	IV Uncaria sinensis	0.031
II Uncaria macrophylla	0.042	V Uncaria sessilifructus	0.019
III Uncaria hirsuta	0.026		

2005-11-10 收稿, 2006-03-10 修回
国家中医药管理局资助项目 (国中医药科 00-01K(ZL))
通讯联系人: 仲崇林, 男, 研究员; E-mail: jilinchl@163.com; 研究方向: 植物化学

分别取样品Ⅱ(大叶钩藤)3.665 g、3.809 g、3.785 g、3.857 g和3.738 g,再精确加入一定量的钩藤碱对照品,按上述样品含量测定方法制成测试样品溶液进行测定。测定结果见表2。

表 2 样品回收率试验结果
Table 2 Recovery of Uncaria macrophylla

Rhynchophylline/mg	Added rhynchophylline/mg	Measured quantity/mg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
1.54	1.48	3.00	98.65	98.98	1.31
1.60	1.67	3.25	98.80		
1.56	1.59	3.12	98.11		
1.52	1.62	3.16	101.23		
1.50	1.57	3.04	98.09		

精确吸取试样Ⅱ(大叶钩藤),按上述样品含量测定,平行测定5次。测定钩藤碱质量分数分别为0.042%、0.043%、0.042%、0.041%和0.042%,平均值为0.042%,相对误差为1.68%。

测定钩藤中所含有效成分钩藤碱的方法有分光光度法、双波长薄层扫描法和高效液相色谱法等^[8-9]。本文采用高效液相色谱法测定结果表明,本法重现性好,色谱峰分离度高,含量测定结果精密度和稳定性好。对5种钩藤进行了含量测定,实验结果表明,5种钩藤中钩藤碱含量大小顺序为大叶钩藤>华钩藤>毛钩藤>无柄果钩藤>钩藤。

参 考 文 献

1 Sakakibara J, Terabayashi S, Kubo M, et al. *Phytochemistry* [J], 1999, 6(3): 163
2 Kuramochi T, Chu J, Suga T. *Life Sci* [J], 1994, 54(26): 2 061
3 HU Shi-Yun(胡世云), FAN Wu-Qing(范武庆). *Lishi Zhong Med Mat Med Res*(时珍国医国药)[J], 2002, 13: 307
4 ZHOU Cheng-Yan(周程艳), WANG Shu-Hua(王树华), HAN Gang(韩刚), et al. *Chinese J Coal Ind Medicine*(中国煤炭工业医学杂志)[J], 2002, 5: 747
5 LIU Hong-Mei(刘红梅), YANG Jing-Zhi(杨敬芝). *Chinese Tradit Herbal Drugs*(中草药)[J], 1993, 24: 61
6 LIU Hong-Mei(刘红梅), JIANG Zhong(蒋忠). *Acta Pharm Sin*(药学学报)[J], 1993, 28: 849
7 WANG Ying-Feng(王英峰), WEI Lu-Xue(魏璐雪). *J Cardio Pulm Dis*(药物分析杂志)[J], 1999, 19: 58
8 ZHANG Jun(张峻), YANG Cheng-Jin(杨成金), WU Da-Gang(吴大纲). *Chinese Tradit Herbal Drugs*(中草药)[J], 1998, 29: 649, 1999, 30: 12
9 SONG Chun-Qing(宋纯清), FAN Zhi(樊懿), HUANG Wei-Hui(黄伟晖), et al. *Chinese Tradit Herbal Drugs*(中草药)[J], 2000, 31: 367

Determination of The Rhynchophylline Contents in
Five Kinds of Uncaria by RP-HPLC

ZHONG Chong-Lin^{a*}, ZHAO Wei-Min^b, YANG Mei-Lin^a, LIU Shi-Yue^a, XU Jia-Jie^c
(^a Jilin Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun 130021;
^b The Affiliated Hospital of Changchun University of TCM, Changchun;
^c Jilin Aodong Yanbian Pharmaceutical Co., Ltd., Dunhua)

Abstract An RP-HPLC method was used to determine the rhynchophylline content in five kinds of uncaria. The mobile phase was a mixture of V(CH₃OH):V(0.02% (volume fraction) C₂H₅)₃N)=70:30, detection wavelength 250 nm, and the average recovery of rhynchophylline was 98.98%, RSD=1.31% (n=5). The method is simple and accurate.

Keywords uncaria, rhynchophylline, HPLC