

《UPLC法测定不同来源及其部位苦楝皮中川楝素的含量》来自南京廖华

[点这里，有很多篇《UPLC法测定不同来源及其部位苦楝皮中川楝素的含量》](#)

在线阅读本文：http://www.njliahua.com/lhd_2yi3o34ftu3h0qr03o83_1.html

UPLC法测定不同来源及其部位苦楝皮中川楝素的含量

() : 5, 4 3 6 1 7 1 ~ 1 7 4 0 1 贵州农业科学 2

u i z h o u A r i c u l t u r a l S c i e n c e s G g

[文章编号] () 3 6 0 0 3 2 0 1 7 0 4 1 0 0 1 1 2 0 1 5 0 6 9 1 - - - -

U P L C法测定不同来源及其部位苦楝皮中川楝素的含量

王远敏¹, 吴红梅^{1*}, 王祥培¹, 冯华², 潘成莉¹, 杨留波¹

(贵阳中医学院, 贵州贵阳⁵ 贵州省遵义市食品药品检验所, 贵州遵义⁵) 1. 0 0 2; 2. 0 0 2 5 0 6 3

摘要] 为建立苦楝皮药材中川楝素U并评价不同来源苦楝药材的质量, 为苦楝皮C的测定方法, P L [

药材的临床使用提供参考, 采用超高效液相色谱法对不同来源苦楝皮中的川楝素进行测定。结果表明: 在色

, 流动相为乙腈-水 () , 流速谱柱为A 2. 1 × 1 3 4 : 6 n t Z O R B A X R R H D E c 1 i s e P l u s C 0 0 m m , 1. 8 μ m) 6 i l e p g 1 8 (

为 0. / , 检测波长为 2 柱温为 3 川楝素在 0. 平均加样 0 m L m i n m , 4 4 8 ~ 0. 7 8 4 0 μ 1 1 0 n 0 ° C 时, 0 g 的线性良好,

) 。不同来源苦楝药材中川楝素的含量差异较大, 回收率为 9 同部位 (茎皮) 中川 R S D 小于 3 % (n = 6 0 3 % , 7 .

楝素的含量差异达 1 同植株不同部位的药材川楝素的含量以根皮 > 茎皮 > 枝皮的顺序排列。0 倍以上,

[关键词] 苦楝皮; 不同来源; 川楝素; U C ; 药材质量 P L

[文献标识码] A [中图分类号] 7. 9 S 5 6

D e t M e l t o o a n d e r m i n a t i o n o f D i f f e r e n t S o u r c e s o f T o o s e n d a n i n i n i a s e n d a n

11*1

WU, WANG WANG Ho Yuan min mei Xi an ei, g g p 2 1
1, FENG PAN CYANG Hua hen li Li ubo, g

(o 1. Gu i a C o l o T r a C h i M e d G u i a G u i 5 5 0 Z u n i I n s F o o a
n d n l e e d i t i o n a l n e s e i c i n e, n z h o u 0 0 2; 2. t i t u t e
d r f y f y y g g g,

, , ,) t r o l Z z h o u 5 0 0 2 C n a C o n u n i G u i 6 3 h i D r u y g

: T b s t r a c t o e s t a b l i s h t h e d e t e r m i n a t i o n m e t h o d s
a n d e v a l u a t e u a l i t o f d i f f e r e n t s o u r c e s o f A
q y

, U M. t o o M. a z e A D a n d s o a s t t o o s e n d a n i n i n s e n d a n d
a r a c h, o r o v i d e a r e f e r e n c e f o r c l i n i c a l u s e P L C
- D p

: m e r f o r m e d o n A i l e n t Z O R B A X e t h o d w a s e m l o e d i n t h
e d e t e r m i n a t i o n. R e s u l t s T h e s e a r a t i o n w a s
p g p y p

(, c o l a t R R H D E c l i s e P l u s C h a s e a c e t o n i t r i l e u m
(2. 1 x 1 0 0 m m, 1. 8 μ m) w i t h t h e m o b i l e e r 3 4: 6 6) - w
p p 1 8

/, t o o a d a s e n d a n i n h f l o w r a t e 0. 1 0 m L m i n d e t e c t i o
n w a v e l e n t h 2 1 0 n m a n d t h e c o l u m n t e m e r a t u r e 3 0 ° C,
g p

, o R S D w a s l o d l i n e a r i n 0. 0 4 4 8 ~ 0. 7 8 4 0 μ t h e a v e r a e
r e c o v e r w a s 9 7. 0 3 %, e s s t h a n 3 % (n = 6) .
g g g y

, t o o r o t o o e r T h e c o n t e n t s o f s e n d a n i n f m d i f f e r e
n t s o u r c e s w e r e u i t e d i f f e r e n t d i f f e r e n c e s i n s e n
d a n i n e u q p a r t s f o l l o w e d t h e s e u e n c
e o f r o o t m o r e t h a n 1 0 t i m e s i n c o n t e n t s i t e s (b a r k),
c o n t e n t s i n d i f f e r e n t p q

b a r k > b a r k > b r a n c h b a r k .

: ; M e l t o o M e l a z e t o o a n d d i f P L w o r d s K e i a s e n d a n i a
d a r a c h; f e r e n t s o u r c e s s e n d a i n; U C; m e d i c a l
y u a l i t m a t e r i a l q y

M e l t o o i a s e n d a n 苦楝皮为楝科植物川楝 (

) 的干燥) 或楝 (L. S i e M e l a z e b. e t Z u c c. i a d a r a c h 树皮和
根皮。始载于《证类本草》。具有清热、燥湿、杀虫的功效, 用于蛔虫病、虫积腹痛、疥癣瘙

痒等

1]

。苦楝皮药材中主要含有川楝素、症的治疗 [苦楝

物，具有驱虫、抑制神经递质、抗肉毒等多种生物活

8]

，也具有抑制实体肿瘤体外增殖和诱导凋亡等性 [

作用，是治疗前列腺癌、神经母细胞瘤、肺腺癌、乳腺

] 1 9 0 —

，且在 2 癌等实体肿瘤的活性成分 [0 1 0 版药典以

川楝素为控制苦楝皮药材质量的指标，故试验以川楝素的含量为指标，建立川楝素高效、快速、简单的含量测定方法，并评价同植株不同部位来源的苦楝皮药材质量，以期苦楝皮药材的质量控制、资源的合理开发利用及临床使用提供参考。

萜酮内酯、苦楝皮萜酮、苦楝萜酸甲酯、4，8—二羟基—

[2 6

1—四氢萜醌和儿茶素等化合物—。苦楝皮为多基源药材，市场上的苦楝皮药材包括川楝或楝的茎皮、7]

等比较了同植株不同部位来枝皮、根皮等。杨焯 [

源的苦楝皮的挥发性成分发现，不同部位的挥发性成分存在差异，而不同品种、不同部位的苦楝药材中川楝素是否存在差异，目前未见文献报道，不利于苦楝药材资源的开发和合理利用。川楝素是从楝科植物川楝子和苦楝皮中提取的一种呋喃三萜类化合

1

1 . 1

材料与amp;方法

药材、仪器与试剂

，药材：川楝素对照品（批号：1 4 0 T 3 1 5 0 3 M U S —

成都曼思特生物科技有限公司，，纯度≥ 9 2 6 批 8 %)

；收稿日期] 5 1 5 0 1 0 1 1 5 2 0 0 6 1 0 修回 2 [— — — —

基于指纹图谱模式识别技术在中药材鉴别教学中应用的示范性研究” [黔省专合字基金项目]
贵州省优秀科技教育人才省长专项基金“ [

)] ; 贵州省教育厅年普通本科高校自然科学研究项目“贵州省特色药材规范化生产技术研究及
应用团队建设”(1603012012

)] [黔教合人才团队字(312201

[作者简介], 女, 在读硕士: w] 王远敏(, 研究方向: 中药、民族药的品种鉴定与质量控制。
E-mail: 01234@sinac.com199 y

, 女, 副教授, : 从事中药及民族药新制剂及质量控制研究。1-) 1381176659@q.
com198E-mail *通讯作者: 吴红梅(q

贵州

农业科学

·1 u i z h o u A r i c u l t u r a l S c i e n c e s 7 2 ·
G g

苦楝根皮、茎皮、枝皮来自不同的地区和药店, 包括湖北省、贵州省天柱县清浪村、贵州省麻江县黄坝村、贵州省贵阳市花果园药材市场、贵州省开阳县上坝、贵州省黔西县重新镇、贵州省龙里县湾寨乡、贵州省贞丰县者相镇、四川省新都区斑竹园、贵州省贵阳市南明区省委、贵州省六盘水市六枝特区蟠龙、贵州省贵阳市药用植物园、云南省保山市一心堂药房、四川省成都市杏林大药房、湖南省长沙青苹果健康药房, 并干燥、粉碎, 经贵阳中医学院王祥培教授鉴定为楝科楝属植物川楝或楝的干燥树皮和根皮。

美国), 仪器: n t 1 2 9 0 超高效液相色谱仪(A i l e g 带有四元泵溶剂洗脱系统、柱温箱、自动进样器; /万分析天平(I C 0 4 T L E R T O L E D O 仪器A L 2 M E T - 有限公司), 天津市恒奥10260T超声波清洗机(H S - 科技发展有限公司), 常州6数显恒温水浴锅(H H - 澳华仪器有限公司)。

, 水试剂: 乙腈为色谱纯(美国T T A公司) E D为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。1. 2

供试品与对照品溶液的制备

将不同来源苦楝药材粉碎, 过4号筛, 取粉末约, 精密称定, 置于圆底烧瓶中, 精密加入甲醇0. 5 g

称定重量, 加热回流1 h, 放冷。再称定重L, 50 m

量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用0. 即得供试品溶液。2 μ m的微孔滤膜滤过, 2

精密称取川楝素对照品适量, 置于2 L的容5 m量瓶中, /加甲醇至刻度, 摇匀, 制成0. 4 8 mm L的4 g对照品储备液。精密量取5 m L的L储备液于10 m容量瓶中, /加甲醇定容, 制备成0. 2 4 mm L的对2 g照品溶液。1. 3

色谱条件的考察

乙腈-0. 在色谱分离过程中考察乙腈-水、0.1%甲酸水、甲醇-水等流动相系统, 选择川楝素分离效/果好的洗脱条件进行洗脱, 考察不同流速(L 0. 1 m//对峰分离效果的m i n,

0.15 mL/min, 0.2 mL/min)

对分离度影响, 考察柱温 (5 °C, 30 °C, 35 °C) 20 °C, 2 果及分析时间的影响, 考察 DAD 检测器和 ELS

检测器的灵敏度。

电压/Mau%Voltage

稳定性: 取供试品溶液 2 μ 分别于 0 h, 1, 2 h, 记录并计算 6 h, 8 h, 10 h 和 12 h 进样测定, 4 h,

楝素的保留时间及峰面积的 RSD 值。

重复性: 取四川省成都市杏林大药房的茎皮粉末 (过 4 号筛) 精密称取 0.5 g, 按 1.2 制备供试品溶液, 5 g 试品溶液, 在上述色谱条件下进行测定, 计算川楝素含量的平均值及 RSD 值。

加样回收率试验

精密称取采于四川省成都市杏林大药房的茎皮

, 置于圆底烧瓶粉末 (过 4 号筛) 每份约 0.5 g 6 份, 2

中, 加入适量的川楝素对照品储备液, 按 1.2 制备供试品溶液, 按上述的色谱条件进行测定, 计算回收率。1.7 样品川楝素的含量测定

取 2 按 1.6 批不同来源的苦楝皮药材, 2 制备供试品溶液, 在最佳色谱条件下测定, 记录色谱峰, 以川楝素对照品作为对照, 并计算川楝素的含量。1.6

2

2.1

结果与分析

色谱条件

经试验表明, 在色谱柱为 Ant ZORBAX i l e g

, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm) RRHDE c l i s e P l u s C p 1 8 (

流动相乙腈-水 (, 流速 0. / 柱温 34 : 66) 0 mL/min, 1

对照品进样波长 2 m, 30 °C, DAD 作为检测器, 10 n

量为 1 μ 样品进样量为 2 μ L, L 时的分离效果最好, 仪器灵敏度较高。2.2 系统适应性试验

由图示可知, 在对照品和供试品保留时间相应的位置都具有川楝素的色谱峰, 且在供试品中的川楝素色谱峰不受其他峰的干扰。川楝素对照品结构中具有半缩醛结构, 始终有 2 个互变异构体存

在。因此，试验以川楝素 2 个峰面积之和计算。川楝素与相邻峰的分度均大于 1，理论塔板数按川楝 5，素峰计算不低于 8 0 0 0。

电压/Mau%

Voltage

50403020100

对照品

1 . 4

系统适应性试验

在最佳色谱条件下，分别吸取对照品溶液和供

50

403020100

0%2.5%5%7.5%10%12.5%15%17.7%20%22.5

时间/min

供试品

Time

试品液注入液相色谱仪，考察川楝素对照品及样品与邻近峰的分度及川楝素的理论塔板数。1 . 5

线性关系与方法学考察

线性关系：分别取对照品溶液 0 . 5 μ L、2 μ L、0 . 1 μ L、2 μ L、3 μ L 和 3 . 5 μ L 注入液相色谱仪。以峰

，样品含量为横坐标（制作工作面积为纵坐标（Y）X）曲线。

精密度：精密吸取对照品溶液 1 μ 重复进样 6 L，

次，并计算川楝素的保留时间及峰面积的 R S D 值。

0%2.5%5%7.5%10%12.5%15%17.7%20%22.5

时间/minTime

图示

川楝素对照品和苦楝皮药材供试品的UPLC色谱图

M. toondi. heUPLC chromatogram of sendana F
T g g

d a r a c h M. a z e

C法测定不同来源及其部位苦楝皮中川楝素的含量 P L 王远敏等 U

e l o o e l z e n d P L Y u a n m i n e t a l e t e r m i n a t i o n o f D i f f e
r e n t S o u r c e s o f T o o s e n d a n i n i n i a s e n d a n i a d a r a c h
C m e t h o d M t M a a b U D W A N G y

· 1 7 3 ·

线性关系与方法学考察

由工作曲线得到川楝素的回归方程为

。川楝素在 $6x + 0.81$ $R = 0.9996$ 9.9695 ($y = 6$

$4.48 \sim 0.7840 \mu 0.0$ g 有良好的线性关系。在同一台仪器上检测，其稳定性、精密度、重复性试验中的川楝素的保留时间和峰面积的 R S D 值分别为 2. 且重复性试验计 7%、1. 6 7% 和 2. 6 0%， 7

算四川省成都市杏林大药房的茎皮的川楝素含量为

／，仪器的稳为 1 R S D 值为 2. 6%。表明， 5 8 m l . g g

定性、精密度、重复性好。 2. 4 加样回收率

由表 1 可知，苦楝皮中川楝素的回收率在

表明，试验结果准确、可靠。 0 5%， 9 5%~1 2. 3

表 1

称样量 / g o f u a n t i t Q y

s a m l e 0 . 2 5 2 5 0 . 2 5 2 8 0 . 2 5 0 5 0 . 2 5 1 3 0 . 2 5 2
9 0 . 2 5 1 0 样品含量 / m g e S a m l p c o n t e n t

2 . 9 2 4 3 2 . 9 2 7 8 2 . 9 0 1 1 2 . 9 1 8 5 2 . 9 0 4 6 2 .
9 0 6 9 2 . 5

不同来源苦楝皮中的川楝素含量

由表 2 可知, 样品 1~4、茎 5~8、9~26 为根皮、皮、枝皮部位, 3 个部位川楝素的含量都有差异。其

而最低含量为 2%, 18 批茎皮的最高含量为 2.2

两者相差 1 差异较大, 可能是受到 6%, 0.10 倍以上,

产地、海拔、土壤、采收时间的影响; 样品 1、5、9、2、

其 2 来源于同植株的不同部位, 6、10、3、7、11、4、8、1

川楝素的含量差异也较大, 但川楝素的含量都以根皮>茎皮>枝皮的顺序排列, 显示次生代谢产物川楝素在植物根皮、茎皮、枝皮的分布极不均匀, 表现出该成分由下至上的分布和积累趋势, 同时也说明川楝素的含量可能受水分、无机盐、土壤等因素的影响。

苦楝皮中川楝素的加样回收率

测得量/mg Measured value 5.2570 5.2179 5.8205
5.7907 6.4138 6.4717 回收率/% Recovery rate

97.2095.4297.31 95.7497.4899.02

平均回收率/%

rae Ave g r e c o v e r r a t e % R S D

M. toondM. azerates of le1 The recovers endanada
r achTab y

加入量/Mg Adding amount

2.4000 2.4000 3.0000 3.0000 3.6000 3.
6000 表 2

样品编号 No.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 来
源 Location

贵州省天柱县清浪村①贵州省天柱县清浪村②贵州省麻江县黄坝村①湖北省

贵州省天柱县清浪村①贵州省天柱县清浪村②贵州省麻江县黄坝村①湖北省

贵州省天柱县清浪村①贵州省天柱县清浪村②贵州省麻江县黄坝村①贵州省麻江县黄坝村②贵州
省麻江县黄坝村③

贵州省贵阳市花果园药材市场贵州省开阳县上坝贵州省黔西县重新镇贵州省龙里县湾寨乡贵州省
贞丰县者相镇

云南省保山市一心堂药房四川省成都市杏林大药房四川省新都区斑竹园

贵州省贵阳市南明区省委

贵州省六盘水市六枝特区蟠龙湖南省长沙青苹果健康药房贵州省贵阳市药用植物园

97.03 1.35

不同来源与部位的苦楝皮中川楝素的含量

%

拉丁名

Latin name

darachM. azeL. darachL. M. aze

M. azeL. darach

darachM. azeL.

M. azeL. darach

darachL. M. aze

L. M. aze darach

zedarachM. aL. darachM. azeL.

M. azeL. darach

darachL. M. aze

M. azeL. darach

darachM. azeL. darachM. azeL.

M. azeL. darach

darachM. azeL.

M. azeL. darach

darachM. azeL.

M. azeL. darach M. azeL. darach

darachM. azeL.

结论与讨论

试验表明, 在色谱柱为Ant ZORBAX i l e g

, 2. 1×1 R R H D E c l i s e P l u s C 0 0 m m, 1. 8 μ m) p 1 8 (

流动相为乙腈-水 (, 流速为 0. / 3 4 : 6 6) 0 m L m i n, 1 检测波长为 2 m, 柱温为 3 1 0 n 0 ° C, 川楝素在

农业科学

贵州

· 1 u i z h o u A r i c u l t u r a l S c i e n c e s 7 4 ·
G g

平均加样回收率 0. 0 4 4 8 ~ 0. 7 8 4 0 μ g 的线性良好,

, 测定方法精确、为 9 R S D 小于 3 % (n = 6) 0 3 %, 7.

可靠。

试验测定了共 1 结 8 批楝茎皮中川楝素的含量, 果发现各批次楝茎皮部位的川楝素含量差异较大, 其中以贵州省天柱县清浪村的川楝素含量最高, 为贵州省开阳县上坝的川楝素含量最低, 为 2 %, 2. 2

两者相差 1 6 %, 0. 1 0 倍以上。而不同产地的相同部位如根皮、枝皮中川楝素的含量差异也较大。提示苦楝皮川楝素的含量受药材产地、采收时间、加工炮制和土壤等因素的影响较大, 故临床上使用苦楝皮药材时应注意影响其质量的因素, 确保临床用药的安全有效。

考虑到不同植株同一采收期的含量有差异, 为避免不同植株间的川楝素含量的差异, 试验以楝同一植株进行不同部位的采样, 以减少误差。通过测定湖北、贵州麻江黄坝村、贵州天柱县清浪等 4 个产地共 1 2 批同植株不同部位药材中川楝素含量发现, 同植株不同部位药材川楝素的含量差异较大, 都以根皮 > 茎皮 > 枝皮的顺序排列, 说明川楝素在植株不同部位的代谢积累极不均匀, 具有部位的选择性, 可能受水分、无机盐、土壤等因素的影响, 且根皮、茎皮、枝皮川楝素的含量符合或超过药典范围, 从资源利用与保护角度, 建议药材来源以枝皮为主。0 版药典规定, 川楝素的含量应该在 2 0 1

从收集到的 2 有 5 1 % ~ 0. 2 2 %, 0. 0 6 批药材来看,

批药材在药典范围内, 2 1 批药材川楝素的含量都高于此范围。虽然川楝素是苦楝皮药材的主要药理活性成分, 但已有研究证明川楝素可引起较严重的急性消化道不良反应, 还可发生急性中毒性肝炎, 出现转氨酶升高、黄疸、肝大叩痛等症状

[1 1]

时应注意控制其质量, 保证临床用药的安全性。

[参

考

文

献]

[中华人民共和国药典 (一部) [北1] 国家药典委员会. S] .

京: 中国医药科技出版社, 0: 189. 201 [黄晨. 苦楝皮的化学成分研究 [] 药学实2] 颜滢, J.

() : 践杂志, 1, 294285201286. - [白虹, 唐文照, 等. 苦楝皮化学成分研究 3] 刘少超,

[] 中国实验方剂学, () : 6. J. 2011, 176939 - [陈玉, 张世璉. 苦楝皮的化学成分研究 [] 4] 杨光忠, J. 天然产物研究与开发, () : 1998, 1044547. - [enZP, LiuSC, CuiSX, et al. C t o t o x i c a c t i v i t 5] D g y y

o f f i v e l i m o n o i d s f r o m M e l i a e c o r t e x a n d t h e i r s t r u c -

[] e i v i t r e l a t i o n s h i J. C h i n e s e J o u r n a l o f N a t u r a c t - - y p

, () : e d i c i n e s 2 0 1 2 , 1 0 3 2 3 8 r a l M 2 4 0 . -

苦楝皮中儿茶素的含量测定 [杨莉, ~桂新. 6] 曹丹,

研究 [] 中国药学杂志, () : J. 2130010, 451713057. -

[王祥培, 徐峰, 等. 苦楝皮不同部位挥发油 7] 杨烨,

化学成分分析 [] 中国实验方剂学, : 3, 19 (14) J. 201888. 4 -

[王文萍. 驱蛔中药的活性成分川楝素的生物 8] 施玉梁,

效应 [] 生理学报, () : J. 2006, 585397406. -

[Y H, QiX M, GonLK, et al Roles of reac 9] Zhan - g g

t i v e o x e n s e c i e s a n d M A P k i n a s e s i n t h e r i m a r y g p p y

[] r a t h e t o c t e s d e a t h i n d u c e d b t o o s e n d a n i n J. T o x y p , 8. 2008, 249: 62 i c o l o 6 - g y

] S [M Z. C e l l d e a t h a n d a o t o s i s 0 h i Y L, T a n l i n d u c e d - g p p

, e f f e c t o f t o o s e n d a n i n [J] . C h i n J N e u r o s c i 2 0 0 4 ,

() : 6461464. —

□ L11uZQ. Characteristic and Melia toosem dan fu
n c t i o n

modern clinical application [J]. Neimen u Tradit
p p g g

, Chin J Med 19971: 46.

(责任编辑: 孙小岚)

◦ 提示以楝

的根皮、茎皮、枝皮作为苦楝皮药材来源, 内服给药

南京廖华 <http://www.njliaohua.com/>

免费文档下载