

# HPLC 测定穿心莲配伍绵茵陈后 2 种内酯成分含量的变化

陈倩倩, 李清, 齐会红, 李玉娇, 毕开顺\*

(沈阳药科大学中药学院, 中药质量控制技术国家地方联合工程实验室, 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 考察穿心莲与绵茵陈配伍后对穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量变化的影响。方法: 采用 RP-HPLC, Innersil ODS-3 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm), 流动相乙腈-水梯度洗脱, 流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>, 波长检测程序(0~10 min, 225 nm; 10~20 min, 254 nm), 柱温 35 ℃。结果: 穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯质量浓度分别在 19.66~314.6 ( $r=0.9995$ ), 4.32~69.12 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9995$ ) 与峰面积呈良好线性关系, 平均加样回收率分别为 99.7%, 99.9%, RSD 均 < 2.3%。结论: 穿心莲与绵茵陈配伍后水煎液中 2 种内酯类成分含量显著增加。

[关键词] 穿心莲; 绵茵陈; 配伍; 含量变化; 穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)15-0064-03

[doi] 10.11653/syjf2013150064

## Determination of Content Change of Two Lactone Ingredients from *Andrographis Herba* after Compatibility with *Artemisiae Scopariae Herba* by HPLC

CHEN Qian-qian, LI Qing, QI Hui-hong, LI Yu-jiao, BI Kai-shun\*

(School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, National and Local Joint Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of *Andrographis Herba* compatibility with *Artemisiae Scopariae Herba* on content change of andrographolide and dehydroandrographolide. **Method:** RP-HPLC was performed on an Innersil ODS-3 column (4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm) with mobile phase of acetonitrile-water in gradient elution, flow rate was 1.2 mL·min<sup>-1</sup>, detection wavelengths were set at 225 nm for andrographolide in 0-10 min and 254 nm for dehydroandrographolide in 10-20 min, column temperature was 35 ℃. **Result:** The linear range of andrographolide and dehydroandrographolide were 19.66-314.6 ( $r=0.9995$ ), 4.3-69.12 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9995$ ), respectively. Average recoveries of these two components were 99.7% and 99.9%, respectively with RSD were less than 2.3%. **Conclusion:** The contents of andrographolide and dehydroandrographolide from *Andrographis Herba* increased significantly after compatibility with *Artemisiae Scopariae Herba*.

[Key words] *Andrographis Herba*; *Artemisiae Scopariae Herba*; compatibility; content change; andrographolide; dehydroandrographolide

[收稿日期] 20121203(017)

[基金项目] 2012年辽宁省高等学校中药质量控制关键技术创新团队项目(LT2012018)

[第一作者] 陈倩倩, 硕士, 从事中药化学分析研究, Tel: 023-23986434, E-mail: camellia58@126.com

[通讯作者] \* 毕开顺, 博士, 教授, 从事药物分析研究, Tel: 024-23986259, E-mail: kaishunbi\_syphu@gmail.com

穿心莲和绵茵陈均具有利胆、抗菌等药理作用<sup>[1-3]</sup>。研究证实茵陈煎剂对金黄色葡萄球菌等细菌有抑制作用<sup>[4]</sup>, 穿心莲水提物对细菌性与病毒性上呼吸道感染及痢疾等有特殊疗效<sup>[5]</sup>。两者在临床上经常配伍使用, 用于治疗肝胆系统疾病, 尤其是伴胆道结石合并感染<sup>[6]</sup>等。内酯类成分是穿心莲解热、抗炎<sup>[7]</sup>、抗病毒、保肝利胆<sup>[8]</sup>的主要有效成

分,其中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量最高,药理作用最强<sup>[9-10]</sup>。本实验旨在考察穿心莲配伍绵茵陈后穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量的变化,为该药对的临床应用提供参考。

## 1 材料

BS110S型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),L-2000型日立高效液相色谱仪(Hitachi L-2130型泵,Hitachi L-2400型紫外检测器,D-2000Elite型色谱数据工作站,日本日立公司),Innersil ODS-3色谱柱(日本岛津公司)。

穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为0797-9803,0854-9902),甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。绵茵陈、穿心莲均购自沈阳市同仁堂药房,经沈阳药科大学中药学院贾英副教授鉴定,分别为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分和爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分。

## 2 方法与结果

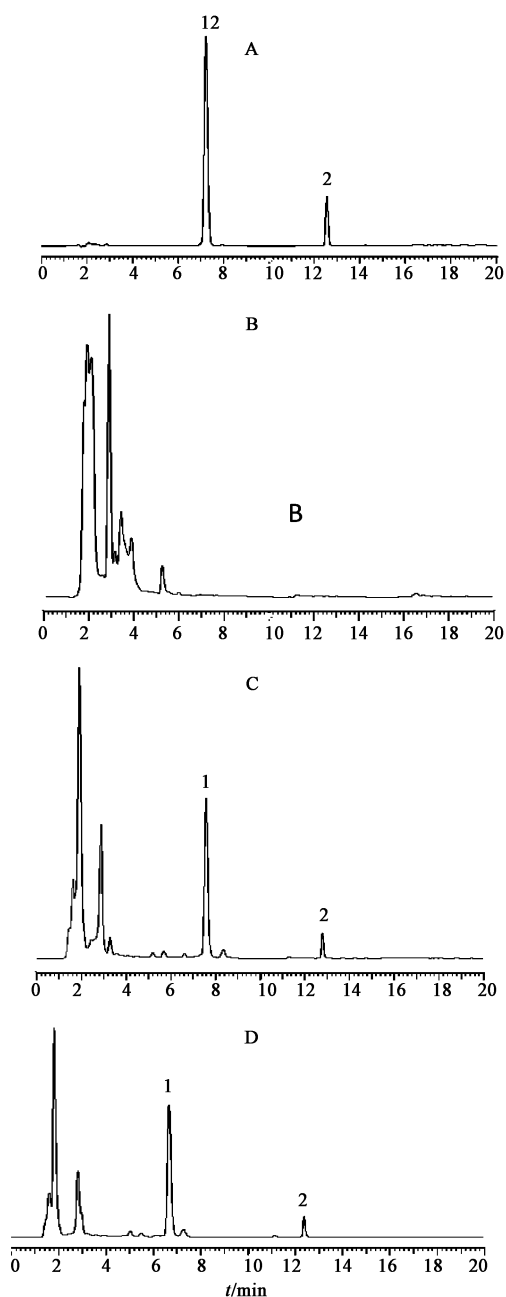
**2.1 色谱条件** Innersil ODS-3色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~8 min, 33%~36% A; 8~8.1 min, 36%~60% A; 8.1~14 min, 60%~66% A; 14~14.1 min, 66%~100% A; 14.1~20 min, 100% A),流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>,双波长切换时间序列采样(0~10 min, 225 nm, 10~20 min, 254 nm),柱温 35℃,进样量 20 μL,见图1。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 供试品溶液** 取穿心莲、绵茵陈饮片各5g,精密称定,分别置250 mL圆底烧瓶中,加水100 mL回流提取2 h,过滤,残渣加50 mL水回流提取30 min,过滤,用少量水充分洗涤烧瓶和残渣,合并滤液和洗涤液,转移至250 mL量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。精密量取5 mL置于10 mL量瓶中,用甲醇定容至刻度,作为单煎供试液。称取不同质量比配伍(1:2, 1:3, 1:4, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1)的穿心莲和绵茵陈7份,每份5g,按上述方法分别制备混煎供试品溶液。

**2.2.2 对照品溶液** 取穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成2种内酯成分质量浓度分别为0.100, 0.028 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品储备溶液,于4℃下保存待用。

**2.3 线性范围考察** 分别精密吸取混合对照品储备溶液0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 8.0 mL置10 mL量



A. 对照品; B. 绵茵陈单煎液; C. 穿心莲、绵茵陈混煎液(3:1); D. 穿心莲单煎液; 1. 穿心莲内酯; 2. 脱水穿心莲内酯

图1 穿心莲配伍绵茵陈 HPLC

瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按2.1项下方法测定,记录色谱图,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y_{\text{穿心莲内酯}} = 3.716 \times 10^4 X - 1.761 \times 10^4$  ( $r = 0.9995$ ),  $Y_{\text{脱水穿心莲内酯}} = 1.107 \times 10^5 X + 2.668 \times 10^4$  ( $r = 0.9995$ ),线性范围依次为 19.66~314.6, 4.32~69.12 g·L<sup>-1</sup>。

**2.4 精密度试验** 取混合对照品溶液,重复进样6次,测得穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积的RSD分别为1.5%, 1.1%,表明仪器精密度良好。

**2.5 重复性试验** 取同一批穿心莲药材 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量的 RSD 分别为 2.8%、2.2%,表明该方法重复性良好。

**2.6 稳定性试验** 取供试品溶液,分别于室温放置 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样分析,结果穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积的 RSD 分别为 1.6%、1.4%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 回收率试验** 精密吸取已知含量的穿心莲供试品溶液 9 份,分别精密加入一定量的混合对照品溶液,制成低、中、高 3 种质量浓度的供试品溶液,依上述色谱条件测定,结果穿心莲内酯的平均回收率 99.7%,RSD 2.1%;脱水穿心莲内酯的平均回收率 99.9%,RSD 2.3%。

**2.8 样品测定** 取穿心莲单煎液和 7 份共煎液,分别按上述色谱条件测定,记录色谱图,计算穿心莲内酯质量分数依次为 1.69%、1.72%、1.88%、1.83%、1.72%、1.75%、1.76%、1.73%,脱水穿心莲内酯质量分别为 0.31%、0.38%、0.36%、0.40%、0.36%、0.35%、0.35%、0.34%。采用 SPSS 19.0 软件进行独立样本 *t* 检验,结果表明共煎液中 2 种内酯类成分含量与穿心莲单煎液相比均明显增加( $P < 0.05$ ),且具有显著性差异。当穿心莲和绵茵陈按 1:3 配伍共煎时,穿心莲内酯的总量达最高,多重比较结果表明,该配伍比例下穿心莲内酯含量与其他配伍比例下各组相比,均具有显著性差异;当二者按 1:4 配伍时,脱水穿心莲内酯含量最高,多重比较结果表明,该配伍比例下脱水穿心莲内酯含量与其他配伍比例相比,均具有显著性差异;当二者按 1:2 配伍时,2 种内酯成分比值最小。

### 3 讨论

建立的含量测定方法快速、简便、重复性好,为穿心莲及含穿心莲成方的质量控制提供参考。供试品溶液的提取工艺是经正交试验<sup>[8]</sup>优选的,提取所得水提液中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯总量最高。穿心莲与绵茵陈配伍后穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量较单煎时均有提高,推测可能是因为穿心莲与绵茵陈配伍后能提高 2 种内酯类成分的溶出率。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:223,251.
- [2] 孟繁钦,吴宜艳,雷涛. 茵陈的药理作用及临床应用进展[J]. 牡丹江医学学报,2009,30(1):46.
- [3] 吴俊. 穿琥宁注射液治疗小儿急性呼吸道感染 200 例疗效观察[J]. 中西医结合实用临床急救,1997,4(10):447.
- [4] 林霄. 茵陈蒿的药理作用研究[J]. 长春中医药大学学报,2008,24(6):663.
- [5] 戴桂馥. 穿心莲内酯及其衍生物的药理活性研究进展[J]. 中成药,2006,28(7):1032.
- [6] 黄全勇,艾金钟,喻志林. 穿黄清热胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):110.
- [7] 黄朋纳. UPLC 快速分析穿心莲药材及制剂中内酯成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(14):98.
- [8] 陈国祥,丁伯平,徐瑶,等. 穿心莲胶囊的抗炎作用研究[J]. 现代中西医结合杂志,2000,10(11):1004.
- [9] 梁汝坚. 穿心莲内酯治疗上呼吸道感染疗效观察[J]. 广东医学,1998,19(6):473.
- [10] 赵琰,屈会化,王庆国. 复方配伍实验研究的问题与展望[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(10):51.

[责任编辑 仝燕]