

· 化学与分析 ·

## HPLC 测定荔枝草提取物中高车前苷的含量

葛婷婷, 程建明\*

(南京中医药大学, 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 建立荔枝草提取物中高车前苷含量的高效液相(HPLC)测定方法。方法: Hedera ODS-2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.5% 冰醋酸水溶液(50:50), 柱温 30 ℃, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 335 nm。结果: 高车前苷在 0.20 ~ 2.01 μg 呈良好的线性关系, 平均回收率 101.70%, RSD 1.84%。结论: 该方法简便、准确、专属性强, 可以作为荔枝草提取物中高车前苷含量测定的一种有效方法。

**[关键词]** 荔枝草提取物; HPLC; 高车前苷; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0059-03

## Determination of Homoplantagin Content in *Salvia plebeia* Extract by HPLC

GE Ting-ting, CHENG Jian-ming\*

(Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the assay method for determining content of homoplantagin in extract of *Salvia plebeia*. **Method:** Hedera ODS-2 column was used with methanol-0.5% acetic acid (50:50) as mobile phase; the column temperature was maintained at 30 ℃; the flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>; detection wavelength was set at 335 nm. **Result:** Homoplantagin showed a good linear relationship within 0.20-2.01 μg. The average of coefficient of recovery was 101.70%, RSD was 1.84%. **Conclusion:** This method is simple, accurate, specific, and can be considered as an effective method for determining content of homoplantagin in the extract of *Salvia plebeia*.

**[Key words]** *Salvia plebeia* extract; HPLC; homoplantagin; content determination

荔枝草为唇形科植物荔枝草 *Salvia plebeia* R. Br. 的地上部分, 主产于江苏、浙江、安徽。其味苦、辛, 性凉, 有清热解毒、止咳及平喘、凉血、利尿等功效。主治感冒发热, 咽喉肿痛, 肺热咳嗽, 咳血等。现代临床上常用荔枝草及其复方制剂治疗咳嗽、咽炎等病症, 效果良好<sup>[1]</sup>。全草主要含黄酮类化合物, 包括高车前苷及其苷元、泽兰黄酮、假荆芥属苷、半齿泽兰素等。现代药理研究表明荔枝草黄酮类化合物具有抑菌<sup>[2]</sup>、止咳平喘<sup>[3]</sup>、祛痰及抗组胺<sup>[4]</sup>、保肝<sup>[5]</sup>等作用。通过药效学初步研究发现, 荔枝草总

黄酮提取物具有明显的抗炎作用, 且对急性咽炎模型大鼠具有一定得治疗作用。作者旨在提取荔枝草总黄酮提取物, 通过大孔树脂分离纯化得到总黄酮提取物<sup>[6]</sup>, 经过研究开发成一种治疗慢性咽炎的藥物。本研究主要建立一种检测荔枝草中主要黄酮成分高车前苷的 HPLC 方法, 为更好的建立荔枝草提取物及其制剂的质量标准提供依据。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Agilent 1100 二极管阵列检测器(DAD), Agilent 1100 化学工作站, HT-230A 柱温箱, TGL-16G 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂), KH3200 DE 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司), BP 211 D 型电子天平, MP 51001 型电子天平(上海恒平科学仪器有限公司)。

D101 大孔树脂(河北沧州宝恩化工有限公司)。

**[收稿日期]** 20120711(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173540)

**[第一作者]** 葛婷婷, 硕士, 研究方向为新药研发, E-mail: zyykuaillebaobei@163.com

**[通讯作者]** \*程建明, 中药学博士, 副研究员, 研究方向为新药研发, Tel: 025-86798011, E-mail: cjm7895@163.com

司),高车前苷对照品(自制,含量达 98% 以上),荔枝草提取物(自制,批号 20120503, 20120504, 20120505),甲醇为色谱纯,水为高纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品的制备

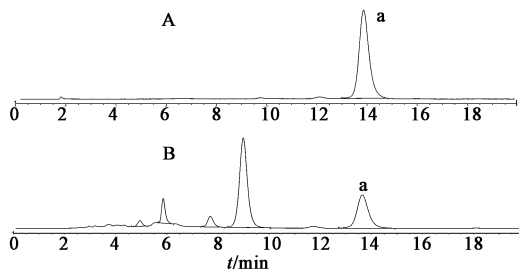
**2.1.1 对照品溶液的配制** 精密称取对照品 5 mg,置于 10 mL 的量瓶中,用流动相(50% 甲醇)定容至刻度,得浓度为  $503 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的高车前苷储备液。再吸取上述储备液 2 mL 至 10 mL 量瓶中,加流动相定容至 10 mL,即得高车前苷标准品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的配制** 荔枝草提取物的制备:荔枝草药材适量,加 6 倍量 60% 的乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,纱布过滤后合并滤液,回收乙醇至药液浓度为  $0.8 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,高速离心后上清液通过 D101 大孔树脂柱,用 7 倍柱体积 75% 的乙醇通过大孔树脂,收集 75% 乙醇部分,回收乙醇后,水浴蒸至近干,减压干燥,研钵研细,过 80 目筛即得。

精密称取荔枝草提取物样品 10 mg,加流动相(50% 甲醇),超声溶解,定容至 10 mL,摇匀。

**2.2 色谱条件摸索** 在文献的基础上调整各参数,选择色谱峰分离较好的色谱条件。最终确定色谱条件为 Hedera ODS-2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.5% 冰醋酸水溶液(50:50),柱温 30 °C,流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,检测波长 335 nm。

**2.3 系统适应性考察** 分别精密吸取上述 2 种溶液各 10 μL,按上述色谱条件分别测定,结果塔板数 > 5 000,分离度  $R > 1.5$ ,见图 1。



A. 对照品; B. 样品; a. 高车前苷

图 1 荔枝草提取物 HPLC

**2.4 线性关系考察** 精密吸取高车前苷对照品溶液 2, 5, 8, 10, 15, 20 μL,按上述色谱条件进行测定,记录峰面积。以进样量(X)对峰面积(Y)进行线性回归,得回归方程  $Y = 1\,021.4X - 8.193\,9 (r = 0.999\,9)$ ,结果表高车前苷在 0.20 ~ 2.01 μg 线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密吸取高车前苷对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,按上述色谱条件进行测定,记录峰面积,计算得高车前苷峰面积的 RSD 为 0.90%,表明仪器的精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一批次样品按 2.1.2 项下方法制得供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18 h 进样 10 μL,按上述的色谱条件进行测定,记录峰面积,计算得峰面积的 RSD 为 0.61%,结果表明供试品溶液至少在 18 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批次样品按 2.1.2 项下方法制得 6 份供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果高车前苷的平均含量在 9.86%, RSD 为 1.97%。

**2.8 加样回收试验** 取同批号的荔枝草提取物 5 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,共 6 份,分别精密量取高车前苷对照品溶液 1 mL(浓度为  $0.503 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件进行色谱分析和测定,计算加样回收率,结果平均回收率为 101.70%, RSD 为 1.84%,结果见表 1。

表 1 高车前苷回收率试验

称样量 /mg	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
4.98	0.498	1.020	103.71		
5.04	0.504	1.021	102.77		
5.03	0.503	1.014	101.53	101.70	1.84
5.02	0.502	0.998	98.54		
5.03	0.503	1.010	100.77		
5.05	0.505	1.022	102.87		

注:加入量为 0.503 mg。

**2.9 样品含量测定** 取 3 批荔枝草提取物样品,分别将对对照品溶液和供试品溶液各进样 10 μL, HPLC 测定,用标准曲线法计算,3 批样品中高车前苷含量测定结果分别为 10.35%, 10.35%, 10.40%,结果见表 2。

## 3 讨论

供试品溶液和对照品溶液均用流动相配制,避免溶剂峰的影响;采用等度洗脱,方法简单,色谱峰分离效果好;流动相采用文献报道的常用有机溶剂甲醇和水,加入一定浓度的冰醋酸调整峰型,效果较好。

# HPLC 测定前列安通胶囊中芍药苷的含量

丁仕强\*

(大连大学环境与化学工程学院, 辽宁 大连 116622)

**[摘要]** 目的:采用高效液相色谱建立前列安通胶囊中芍药苷含量的检测方法。方法:采用 Waters Nova-Pak C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 4 μm), 以乙腈-水 (15:85) 为流动相, 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 芍药苷的保留时间为 3.757 min。结果:芍药苷质量在 0.20 ~ 4.0 μg 呈良好线性关系 ( $r = 0.9976$ )。低、中、高 3 个浓度的平均加样回收率分别为 97.85% ~ 100.38% (RSD 0.37% ~ 0.81%)。结论:该方法简便快速, 结果准确可靠, 可用于前列安通胶囊中芍药苷的 HPLC 含量测定。

**[关键词]** 高效液相色谱; 前列安通胶囊; 芍药苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0061-03

## Determination of Paeoniflorin in Qianlie Antong Capsule by HPLC

DING Shi-qiang\*

(College of Environment and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian 116622, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the content of the paeoniflorin in Qianlie Antong capsule by HPLC.

**Method:** The separation was performed on Waters Nova-Pak C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 4 μm) column eluted

**[收稿日期]** 20120322(010)

**[基金项目]** 辽宁省化工环保工程技术研究中心\大连大学创新教育基金项目(2011144)

**[通讯作者]** \* 丁仕强, 硕士, 实验师, 从事分析教学, Tel:0411-87402436, E-mail:dsq920@163.com

表 2 样品含量测定结果

批号	样品量 /mg	样品百分含量/%	各批平均含量/%	平均含量 /%
20120503	10.04	10.04	10.35	
	10.06	10.03		
20120504	10.06	10.03	10.35	10.37
	10.02	10.04		
20120505	9.99	10.40	10.40	
	10.02	10.40		

考察了温度对高车前苷色谱峰的影响, 发现不同温度对高车前苷的分离度和峰型好坏有一定的影响, 温度为 40, 35 °C, 甲醇比例为 48% 时, 峰型不是很好, 而当温度为 30 °C 时, 甲醇比例为 48% 时, 峰型较好, 但是保留时间比较长, 因此增加甲醇比例, 调整保留时间, 最终定为甲醇比例为 50%, 温度为 30 °C, 峰型和分离度均较好。

在荔枝草中高车前苷是其主要黄酮类成分, 故对制剂中高车前苷的含量测定很有实际意义。作者采用 HPLC 测定荔枝草提取物中高车前苷的含量,

大大提高了试验的灵敏性和选择性, 测定结果准确性可靠。

### [参考文献]

- [1] 傅国强, 王硕, 王跃生. 荔枝草及其混淆品的 HPLC 指纹图谱鉴定[J]. 江西中医学院学报, 2008, 20(6): 72.
- [2] 裴云萍, 吴正红, 方芸, 等. 荔枝草及复方荔枝草提取液体外抑菌实验[J]. 江苏药学及临床研究, 2001, 9(3): 6.
- [3] 郭仁永, 李玲, 郝洪. 荔枝草止咳平喘作用的研究[J]. 国医论坛, 2000, 15(4): 41.
- [4] 刘旭杰, 李玲, 郝海鸥. 荔枝草的祛痰及抗组胺作用[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(19): 1776.
- [5] 卢汝梅, 杨长水, 韦建华. 荔枝草化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(5): 859.
- [6] 张旭, 王锦玉, 仝燕, 等. 大孔树脂技术在中药提取纯化中的应用及展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 16(6): 286.

[责任编辑 顾雪竹]