

高效液相色谱法测定香青兰提取物中田蓟苷的含量

袁勇^{1,2}, 邢建国³, 张永军^{1,2}, 王新春^{1,2*}

(1. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008; 2. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 3. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 建立香青兰提取物中田蓟苷的含量测定方法。方法: 色谱柱为 Reliasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.5% 甲酸(25:75), 检测波长 323 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 40℃。结果: 田蓟苷在 18.26 ~ 91.30 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系, $r=0.9998$ ($n=5$), 平均回收率 99.09%, RSD 1.53% ($n=9$)。结论: 建立的测定方法简便可行、重复性好, 适用于香青兰提取物的质量控制。

[关键词] 香青兰提取物; 田蓟苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0068-02

香青兰为唇形科植物香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 的干燥地上部分, 一年生草本, 分布于华北、东北、西北等省区, 新疆以南疆和东疆栽培较多^[1]。维吾尔名为巴迪然吉布亚, 处方被收载于维吾尔古典医籍《阿里卡农》至今已有 800 多年的历史, 是一味能有效治疗心绞痛的药物。主要含有挥发油、萜类、黄酮类、氨基酸、微量元素等化学成分^[2]。田蓟苷为香青兰提取物的主要活性成分, 本文采用高效液相色谱法测定香青兰提取物中田蓟苷的含量, 为提取物质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪(美国惠普公司); AE-200 电子天平(梅特勒-托利多上海仪器有限公司); KS-5000 超声波清洗器(宁波科生仪器厂); 田蓟苷对照品(批号 20070408, 新疆药物研究所提供)。乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为超纯水。香青兰提取物自制, 批号 080708-1)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Reliasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.5% 甲酸(25:75), 检测波长 323 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 40℃, 进样量 10 μL。在此色谱条件下, 田蓟苷保留时间

为 20 min 左右, 色谱图见图 1。

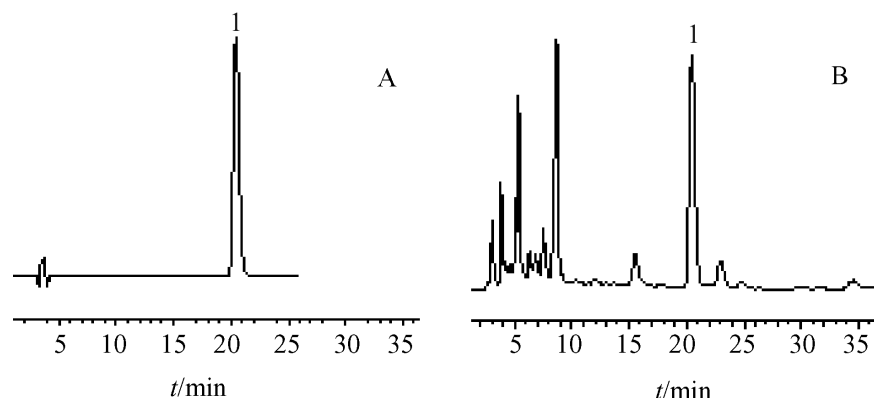


图 1 田蓟苷 HPLC 图 (A. 田蓟苷对照品; B. 样品; 1. 田蓟苷)

2.2 标准曲线的制备 取田蓟苷对照品约 18mg, 精密称定, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加乙醇溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.1826 g·L⁻¹ 的对照品贮备液。精密吸取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 对照品贮备液, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列对照品溶液。精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以对照品浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得田蓟苷标准曲线方程为 $A=3.12 \times 10^4 C+8.67 \times 10^4$ ($r=0.9998$), 田蓟苷在 18.26 ~ 91.30 mg·L⁻¹ 与峰面积线性关系良好。

2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇约 25 mL, 超声提取 30 min, 冷却后用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 静置, 取上清液用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 连续进样 6 次, 测定供试品溶液中田蓟苷峰面积值, 结果峰面积值 RSD 1.33%。

2.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 每隔 2 h 测定供试品溶液中田蓟苷

[收稿日期] 2010-03-03

[基金项目] 国家科技重大专项课题新药创制(2009ZX09103-448)

[第一作者] 袁勇, 硕士研究生, Tel: 0993-2696512,

[通讯作者] * 王新春, 博士, 主任药师, 硕士生导师, Tel: 0993-2855827, E-mail: cwjwxc@163.com

峰面积值, 共测定 6 次, 结果峰面积值 RSD 1.61%。

2.6 重复性试验 取供试品细粉 5 份, 各约 0.1 g, 照 2.3 项下处理, 按含量测定项下色谱条件进行测定, 结果田蓟苷峰面积值 RSD 1.36%。

2.7 加样回收率试验 精密称定已知含量的供试品 9 份, 置 50 mL 量瓶中, 准确加入田蓟苷对照品 1.16, 1.45, 1.74 mg 各 3 份, 按 2.3 项下方法操作。依实验方法测定峰面积, 求算田蓟苷的含量, 结果平均回收率为 99.09%, RSD 为 1.53%。表明方法的准确度良好, 结果见表 1。

表 1 田蓟苷加样回收率试验

称样量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	聊 /%	RSD /%
1.45	1.16	2.619	100.38		
1.45	1.16	2.611	100.05		
1.45	1.16	2.519	96.53		
1.45	1.45	2.822	97.32		
1.45	1.45	2.897	99.91	99.09	1.53
1.45	1.45	2.935	101.22		
1.45	1.74	3.105	97.32		
1.45	1.74	3.187	99.91		
1.45	1.74	3.228	101.22		

2.8 样品测定 取 3 批样品, 按 2.3 项下方法处

理, 在含量测定色谱条件下测定, 外标一点法计算样品含量。结果, 田蓟苷的含量平均值分别为 28.73, 28.51, 27.96 mg·g⁻¹。

3 讨论

有关 HPLC 测定田蓟苷含量的文献尚未见报道, 在流动相考察过程中, 先后比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸、乙腈-磷酸等多种流动相, 结果, 以乙腈-0.5% 甲酸(25:75) 为流动相, 田蓟苷的分离效果和峰形均为最佳, 由此确定了最佳测定的流动相。为进一步完善香青兰提取物的质量标准奠定了基础。

在供试品溶液制备过程中, 依据田蓟苷溶解性, 对甲醇、无水乙醇、三氯甲烷等不同的提取溶媒进行优选, 根据提取效果选择了甲醇作为提取溶媒。考察超声、回流等不同提取方法, 结果 2 种提取方法对田蓟苷的提取率相当, 考虑超声提取方法方便简单的特点, 最终样品处理方法选择为超声提取法。

[参考文献]

- [1] 刘勇民, 沙吾提 - 伊克木. 维吾尔药志[M]. 上册. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1985: 329.
- [2] 冯长根, 李琼. 香青兰化学成分研究[J]. 中成药, 2006, 28(1): 94.

[责任编辑 顾雪竹]