

HPLC 测定冬凌草饮片中冬凌草甲素含量

段晓颖^{1*}, 高卫芳², 张辉¹, 闫艳仓²

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医学院, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 建立冬凌草饮片的含量测定方法, 并对市售饮片进行含量分析, 以考察其质量。方法: 色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(50:50), 检测波长: 240 nm。结果: 冬凌草甲素在 0.41 ~ 1.02 μg 范围内呈良好线性关系, $r=0.9998$, 加样回收率平均为 99.2% ($n=9$, $RSD=1.5\%$)。结论: 该法灵敏度高、操作简便、结果准确。可用于冬凌草饮片的含量测定。

[关键词] 冬凌草; 冬凌草甲素; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0059-02

冬凌草为唇形科植物碎米亚 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分, 具有清热解毒、消炎止痛、健胃活血及抗肿瘤作用。其主要含有单萜、二萜、三萜等一系列萜类成分, 二萜类主要成分为冬凌草甲素和冬凌草乙素^[1], 本文采用高效液相色谱法建立冬凌草中冬凌草甲素的含量测定方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Shimadzu, 10ATVP 型二元泵, SIL-20A 自动进样器, SPD-M10Avp 型检测器), CLASS-VP 色谱工作站。sartorius cp225D 型电子天平; 冬凌草甲素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111721-200501, 供含量测定用); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

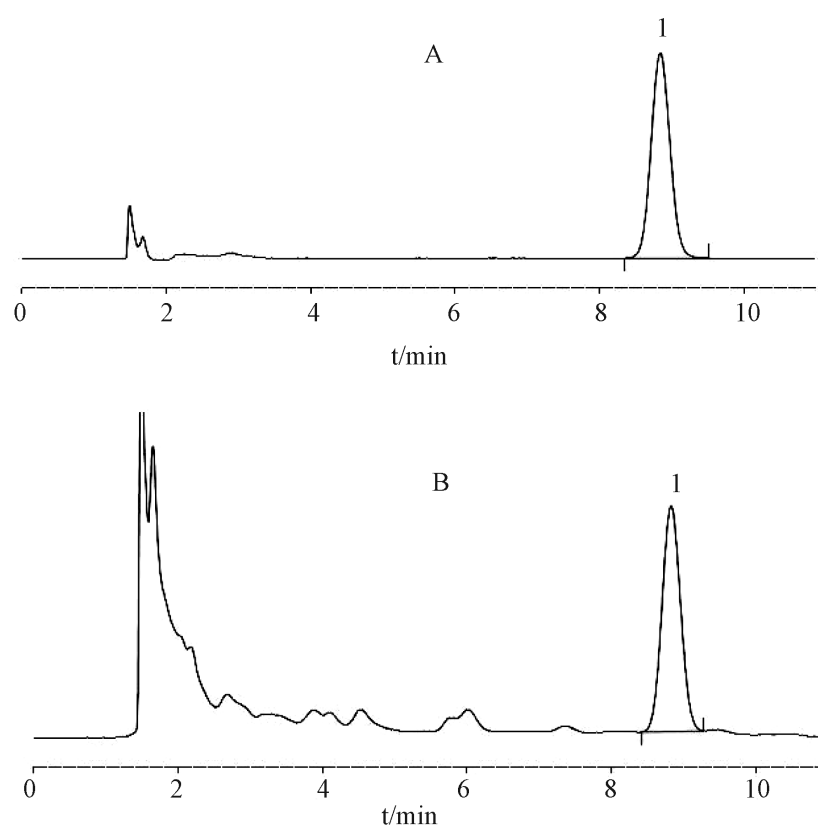
2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(50:50), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 240 nm,

见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取冬凌草甲素适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2036 mg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入醇 50 mL, 称重, 超声 20 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。



A: 对照品; B: 冬凌草供试品; 1. 冬凌草甲素对照品

图 1 冬凌草 HPLC 图

[收稿日期] 2009-08-04

[基金项目] 河南省创新药物与中药现代化项目(项目编号 082102330025)

[通讯作者] * 段晓颖, Tel: (0371) 66233639, Fax: (0371) 66245142; E-mail: dxy137@sina.com

[3] 邱建国, 盛杰, 贾正平, 等. 双波长薄层扫描法测定贞芪增免胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 8.

[4] 李生有. 双波长薄层扫描法测定益心康泰胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2006, 28(12): 1855.

[5] 姚美生. 柱前衍生化 HPLC 法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(4): 17.

[6] 田南卉, 杨国红, 方颖, 等. 高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定黄芪和制剂中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(3): 199.

2.4 线性关系的考察 精密称取冬凌草甲素对照品适量, 加甲醇制成 $0.2036 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 精密吸取对照品溶液 2, 3, 4, 5, 6 μL , 分别注入液相色谱仪, 按照上述色谱条件测定, 记录峰面积, 以冬凌草甲素对照品进样量 (μg) 为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y), 得回归方程为 $Y = 1.568 \times 10^6 X - 7.822 \times 10^4$, $r = 0.9998$; 线性范围 $0.41 \sim 1.02 \mu\text{g}$ 。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 分别测定峰面积, 结果 $\text{RSD} = 0.58\%$ 。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 分别测定峰面积, 结果 $\text{RSD} = 0.92\%$ 。

2.7 重复性试验 精密称取同一批冬凌草药材 6 份, 按照供试品溶液的制备方法制成 6 份溶液, 各精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪, 测定冬凌草甲素的含量, 结果 $\text{RSD} = 1.85\%$ 。

2.8 加样回收率试验 取已知含量为 0.229% 的冬凌草粗粉 9 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 分别精密加入冬凌草甲素对照品, 制备成高、中、低 3 种不同浓度 9 份溶液, 按照上述色谱条件进样, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.2515	0.576	0.459	1.025	97.8		
0.2506	0.574	0.459	1.032	99.8		
0.2542	0.582	0.459	1.035	98.7		
0.2523	0.578	0.574	1.145	98.8		
0.2518	0.577	0.574	1.160	101.6	99.2	1.5
0.2511	0.575	0.574	1.150	100.2		
0.2532	0.580	0.689	1.255	98.0		
0.2529	0.579	0.689	1.248	97.1		
0.2535	0.581	0.689	1.275	100.7		

2.9 不同来源冬凌草含量测定 从郑州市场抽取

5 批冬凌草饮片, 按照上述色谱条件测定冬凌草甲素含量, 结果分别为: 0.336%、0.310%、0.229%、0.216%、0.201%。

3 讨论

分别以甲醇、丙酮、乙酸乙酯为溶媒对冬凌草粗粉进行提取, 结果表明, 甲醇为溶媒对冬凌草甲素的提取率最高。冬凌草甲素虽为脂溶性成分, 在丙酮和乙酸乙酯中有较高溶解度, 但由于它们为亲脂性溶剂, 对药材组织的渗透性较差, 因而影响对冬凌草甲素的提取。故本方法采用甲醇为提取溶媒。

有文献报道冬凌草供试品的制备采用索氏提取法^[2], 本实验以甲醇为溶媒分别采用超声法、回流法、索氏提取法、浸泡法对冬凌草药材进行提取, 结果超声法冬凌草甲素提取率最高, 其次是浸泡法, 回流法和索氏提取法提取率较低。原因可能是冬凌草甲素为四环二萜类化合物, 其环外亚甲基对热不稳定^[3], 回流法和索氏提取法均需要加热, 对其稳定性产生了影响。因此采用超声法提取冬凌草甲素。

取同一批样品, 以甲醇为溶剂, 分别超声 20, 30, 40 min, 结果表明提取效率无差别, 因此选择超声 20 min。

冬凌草药材收载于《中国药典》1977 年版一部和卫生部药品标准 1992 年版, 均未建立含量测定标准。本实验用 HPLC 法测定冬凌草中冬凌草甲素的含量, 经方法学考察, 证明该法准确、灵敏、简便、快速, 可用于控制冬凌草质量。

[参考文献]

- [1] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 第二卷. 北京: 学苑出版社, 1997: 1632.
- [2] 袁珂, 吴崇珍, 张晓明, 等. 高效液相色谱法同时测定冬凌草中冬凌草甲、乙素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(3): 213.
- [3] 袁珂, 杨汉中. HPLC 测定微波提取冬凌草中冬凌草甲素[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(5): 475.