

# HPLC法同时测定壮药愈疡散中紫丁香苷和长梗冬青苷的含量<sup>Δ</sup>

奉艳花<sup>1\*</sup>,覃洁萍<sup>1#</sup>,黄志飘<sup>1</sup>,覃洁梅<sup>2</sup>,王 森<sup>1</sup>,刘鹏飞<sup>1</sup>(1.广西中医药大学药学院,南宁 530001;2.广西中医药大学附属瑞康医院,南宁 530011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)06-0818-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.06.31

**摘要** 目的:建立同时测定壮药愈疡散中紫丁香苷和长梗冬青苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ODS,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为1 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μl。结果:紫丁香苷和长梗冬青苷检测进样量线性范围分别为0.71~3.55( $r=0.999\ 7$ )、1.62~8.10 μg( $r=0.999\ 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3%;加样回收率试验分别为100.8%~104.9%(RSD=1.7%, $n=6$ )、96.0%~100.8%(RSD=2.2%, $n=6$ )。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于壮药愈疡散中紫丁香苷和长梗冬青苷含量的同时测定。

**关键词** 紫丁香苷;长梗冬青苷;含量测定;高效液相色谱法;壮药愈疡散

## Simultaneous Determination of Syringin and Pedunculoside in Zhuang Medicine Yuyang Powder by HPLC

FENG Yanhua<sup>1</sup>, QIN Jieping<sup>1</sup>, HUANG Zhipiao<sup>1</sup>, QIN Jiemei<sup>2</sup>, WANG Miao<sup>1</sup>, LIU Pengfei<sup>1</sup>(1.School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 2.Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of syringin and pedunculoside in Zhuang medicine Yuyang powder. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent ODS with mobile phase of acetonitrile-water (gradient elution) at a flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was 210 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 5 μl. RESULTS: The linear range was 0.71-3.55 μg for syringin ( $r=0.999\ 7$ ) and 1.62-8.10 μg for pedunculoside ( $r=0.999\ 8$ ), respectively; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%; recoveries were 100.8%-104.9% (RSD=1.7%,  $n=6$ ) and 96.0%-100.8% (RSD=2.2%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the simultaneous determination of syringin and pedunculoside in Zhuang medicine Yuyang powder.

**KEYWORDS** Syringin; Pedunculoside; Content determination; HPLC; Zhuang medicine Yuyang powder

壮药是指在壮医理论和经验指导下应用于疾病防治和卫生保健的药用物质及其制剂<sup>[1]</sup>。目前,经过国内外专家特别是

壮医药专家的努力,壮药在化学成分分析及药理学等方面的研究取得了许多成果<sup>[2-4]</sup>。壮药愈疡散是全国名老中医蓝青强

- [5] 李欣,郑少华,张沛沛,等.HPLC法同时测定2种金银花复方制剂中的绿原酸和连翘苷的含量[J].西北药学杂志,2015,30(5):559.
- [6] 柳梦婷,方婧,孙昊,等.HPLC法双波长同时测定赤芍中4种成分的含量[J].中国药物警戒,2014,11(9):524.
- [7] 徐魁,韩勇.当归药材HPLC指纹图谱研究[J].中国中医药现代远程教育,2013,11(15):159.
- [8] 朱芹,黄湘杰.HPLC法同时测定三黄散中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J].中国药师,2014,17(8):1432.
- [9] 李振宇,胡景莲,康廷国,等.高效液相色谱法测定连翘败毒丸中黄芩苷的含量[J].辽宁中医杂志,2013,40(4):756.
- [10] 肖雷,黄顺旺,陈曼,等.高效液相色谱法测定双黄连分散

- 片中绿原酸的含量[J].中国医院用药评价与分析,2014,14(3):223.
- [11] 杜建红,寇新民,郗革红,等.HPLC测定杜五液中芍药苷的含量[J].中国执业药师,2015,12(6):28.
- [12] 赵群涛,方永凯,杨俊杰,等.不同厂家归脾丸(浓缩丸)中阿魏酸和甘草酸含量考察[J].中国执业药师,2015,12(4):16.
- [13] 席桂同,陈述.复方黄连片中盐酸小檗碱含量测定[J].世界中医药,2015,10(2):252.
- [14] 曹臣,黄开颜,李珊,等.HPLC法测定肠溶交泰胶囊中盐酸小檗碱的含量[J].中国现代药物应用,2015,9(2):221.
- [15] 郝晶晶,甄会贤,赵正保.鼻炎灵片中黄芩苷含量测定方法的研究[J].山西中医学院学报,2013,14(1):28.
- [16] 尹亚梅.HPLC法同时测定芩翘口服液黄芩苷、连翘苷的含量[J].中国药师,2014,17(17):1973.
- [17] 张婧涵,王光函,邹桂欣.癫痫清颗粒中 $\alpha$ -细辛醚含量测定方法研究[J].中国中医药信息杂志,2014,21(10):83.

(收稿日期:2015-05-18 修回日期:2015-12-16)

(编辑:刘 柳)

<sup>Δ</sup> 基金项目:广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(No.GZY21108);广西高校科技创新能力提升工程专项(No.J15184)

\* 硕士研究生。研究方向:中药分析与质量控制。E-mail:1142930711@qq.com

# 通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:中药分析与质量控制。电话:0771-2279189。E-mail:chinaqip6380@163.com

教授运用中药、壮药治疗消化性溃疡病(胃脘痛)的经验方,主要由壮药救必应及中药蒲公英、黄芪、甘草等药味组成,具有益气生肌、制酸止痛、理气化痰之功效,对促进溃疡的愈合,抗溃疡复发具有独特功效。覃洁梅等<sup>[5]</sup>研究证明壮药愈疡散对消化性溃疡具有较好的临床疗效。本试验建立了壮药愈疡散中救必应的主要功效成分紫丁香苷和长梗冬青苷的高效液相色谱(HPLC)含量测定方法,旨在为壮药愈疡散的质量控制提供试验方法和科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括G1314A型VWD紫外检测器、G1316A型柱温箱、G1313A型自动进样器、G1311A型四元梯度泵、G1322A型脱气机(美国Agilent公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);FW100型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);BS224S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TGL-16GB型离心机(上海安亭科学仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

愈疡散(本课题组自制,批号:131109、131213、131218,规格:5g/包);紫丁香苷对照品(批号:111574-200603,纯度>98%)、长梗冬青苷对照品(批号111868-201001,纯度:89.3%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:1 ml/min;检测波长:210 nm;柱温:30 ℃;进样量:5 μl。在上述色谱条件下,理论板数以紫丁香苷峰计不少于5 000,以长梗冬青苷峰计不少于8 000,分离度分别为3.53、3.06。色谱见图1。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

时间,min	A,%	B,%
0	10	90
10	10	90
30	45	55
35	100	0
40	100	0

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取紫丁香苷对照品35.5 mg、长梗冬青苷对照品81.0 mg,分别置于50 ml量瓶中,加50%甲醇溶解并定容,制成每1 ml分别含0.71 mg紫丁香苷、1.62 mg长梗冬青苷的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品5 g,置于100 ml具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 ml,称定质量,超声(功率:200 W,频率:40 kHz)处理40 min,放至室温;称定质量,加50%甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,滤过,取续滤液,以半径为16 cm、13 000 r/min离心10 min,取上清液,即得。

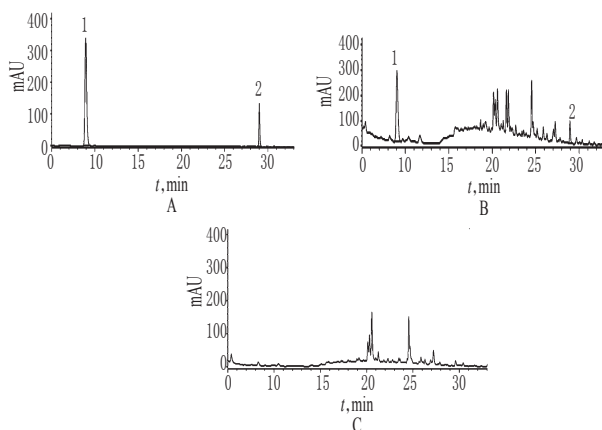


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B供试品;C.阴性对照;1.紫丁香苷;2.长梗冬青苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed substance reference; B.test samples; C.negative control; 1. syringin; 2.pedunculoside

2.2.3 阴性对照溶液 按愈疡散处方和制备工艺制备缺救必应的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

### 2.3 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液2.5 ml,置于5 ml量瓶中,加50%甲醇定容,制成每1 ml分别含0.355 mg紫丁香苷、0.81 mg长梗冬青苷的混合对照品溶液I。精密量取上述混合对照品溶液I 2、4、6、8、10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=2\ 597.7x+98.43$  ( $r=0.999\ 7, n=6$ )、 $y=227.2x+17.40$  ( $r=0.999\ 8, n=6$ )。结果表明,紫丁香苷、长梗冬青苷检测进样量线性范围分别为0.71~3.55、1.62~8.10 μg。

### 2.4 精密度试验

取“2.2.3”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,紫丁香苷、长梗冬青苷峰面积的RSD分别为0.20%、0.18% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:131109)适量,分别于放置0、2、4、8、12、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,紫丁香苷、长梗冬青苷峰面积的RSD分别为0.73%、1.74% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

### 2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:131109)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,紫丁香苷、长梗冬青苷含量平均值分别为0.154%、0.287%,RSD分别为2.7%、2.8% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.7 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:131109)适量,共6份,分别加入一定质量的紫丁香苷、长梗冬青苷对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery test(n=6)

待测成分	取样量, mg	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
紫丁香苷	3 223.5	4.96	4.26	9.27	101.1	102.9	1.7
	3 374.0	5.19	4.26	9.66	104.9		
	2 807.6	4.32	4.26	8.70	102.9		
	2 796.7	4.30	4.26	8.69	103.1		
	3 325.8	5.12	4.26	9.58	104.9		
长梗冬青苷	3 265.4	5.02	4.26	9.32	100.8		
	3 223.5	8.95	9.72	18.61	99.4	98.7	2.2
	3 374.0	9.37	9.72	18.70	96.0		
	2 807.6	7.79	9.72	17.59	100.8		
	2 796.7	7.76	9.72	17.54	100.6		
	3 325.8	9.23	9.72	18.57	96.1		
	3 265.4	9.06	9.72	18.70	99.2		

## 2.8 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果(n=3)

Tab 3 Results of contents determination of samples(n=3)

样品批号	紫丁香苷, %	长梗冬青苷, %
131109	0.150	0.289
131213	0.238	0.392
131218	0.185	0.309

## 3 讨论

壮药是广西壮族自治区特色药物,也是祖国传统医药的重要组成部分。新中国成立后,国家对民族医药的重视程度不断增强。目前,通过联合现代分析技术<sup>[6-8]</sup>,中药、民族医药的研究取得了许多进展和突破。地方政府更是重视壮药的研究和开发,督促壮药的范畴和质量标准体系的形成和完善。但壮药与中药一样,具有多种复杂的组成成分,其疗效也是所含多元化活性成分共同作用的结果,从而无法使产品质量得到有效控制<sup>[9-10]</sup>,严重影响药物的临床应用,制约了壮药新药创制和产业的发展。因此,建立科学、合理、可行的壮药质量控制体系对壮药的发展具有重要意义。

壮药愈疡散处方成分复杂,干扰成分多。笔者经反复多次试验,建立了该制剂中主药成分紫丁香苷和长梗冬青苷的含量测定方法。结果显示,所建立的方法可使目标成分与共存干扰组分达到较好的分离,色谱峰纯度高。

本试验在HPLC检测中分别考察了以50%甲醇、甲醇、乙醇、正丁醇为提取溶剂的测定结果,结果以50%甲醇为溶剂时,目标成分的色谱峰峰形较好,并可与共存干扰组分达到较好分离,峰纯度高,故选择作为供试品提取溶剂。本试验还对

提取溶剂量、超声提取时间及超声提取次数进行了考察。结果显示,5 g愈疡粉,加入50%甲醇25 ml,超声提取40 min,超声1次已能将壮药愈疡散药材提取物中的紫丁香苷和长梗冬青苷提取完全。

经检测器检测,样品溶液HPLC图谱中保留时间与紫丁香苷和长梗冬青苷一致的色谱峰其紫外光谱图与相应对照品的紫外光谱图完全一致。根据紫丁香苷和长梗冬青苷对照品在HPLC仪检测器上得到紫外光谱图显示,紫丁香苷和长梗冬青苷均在210 nm有最大吸收,故笔者选择210 nm为本试验的检测波长。

综上,不同批次的壮药愈疡散中紫丁香苷和长梗冬青苷的含量存在一些差异,这可能与救必应药材的生长环境、采摘时间、加工方式等因素有关。本方法操作简便、稳定、重复性好,可用于壮药愈疡散中紫丁香苷与长梗冬青苷含量的同时测定。

## 参考文献

- [1] 滕红丽.壮药的形与可持续发展研究[J].中国民族医药杂志,2011(9):1.
- [2] 钟鸣,王柏灿.壮药现代研究现状与发展思考[J].湖北民族学院学报:医学版,2006,23(4):36.
- [3] 钟鸣.壮药理论的研究现状与述评[J].中国民族医药杂志,2011(4):65.
- [4] 吴登攀.壮药研究开发现状与趋势[J].中医药导报,2008,14(7):108.
- [5] 覃洁梅,邓鑫.壮药愈疡散治疗消化性溃疡的临床研究[J].中国民族医药杂志,2014(7):1.
- [6] 杨秀岭,张兰桐,袁志芳.色谱联用技术在中药研究领域的应用[J].中国药房,2006,17(1):62.
- [7] 王吉文,房志坚,成金乐,等.HPLC法同时测定铁包金不同药用部位中芦丁和槲皮素的含量[J].中国药房,2014,25(43):4 098.
- [8] 蒋庆峰,金松子,蔡振华,等.现代分析技术在中药质量控制中的应用[J].现代仪器,2007(3):1.
- [9] 何惠芳,赵国庆,郑维.中药质量控制因素分析[J].中国煤炭工业医学杂志,2009,12(5):805.
- [10] 马梅芳,李洁.对中药质量控制的思考[J].中医药导报,2007,13(12):15.

(收稿日期:2015-03-17 修回日期:2015-08-20)

(编辑:张 静)

《中国药房》杂志——《国际药学文摘》(IPA)收录期刊,欢迎投稿、订阅