

HPLC法同时测定壮药冰糖草中野黄芩苷和蒙花苷的含量^Δ

马雯芳*, 邓慧连, 唐玉荣, 蔡毅[#](广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3845-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.33

摘要 目的:建立同时测定壮药冰糖草中野黄芩苷、蒙花苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex C₁₈,流动相为乙腈-0.05%磷酸(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为330 nm,柱温30 ℃,进样量为10 μl。结果:野黄芩苷、蒙花苷检测质量浓度线性范围分别为0.015 8~0.316 8 mg/ml($r=0.999\ 9$)、0.000 5~0.010 4 mg/ml($r=0.999\ 7$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3%;加样回收率分别为99.56%~102.38%(RSD=1.07%, $n=6$)、95.14%~98.29%(RSD=1.24%, $n=6$)。结论:该方法操作简便,稳定性、重复性好,可用于冰糖草中野黄芩苷、蒙花苷含量的同时测定。

关键词 冰糖草;野黄芩苷;蒙花苷;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Scutellarin and Linarin in Zhuang Medicine *Scoparia dulcis* by HPLC

MA Wenfang, DENG Huilian, TANG Yurong, CAI Yi (School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of scutellarin and linarin in *Scoparia dulcis*. METHODS: HPLC was performed on the column of Phenomenex C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 330 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.015 8-0.316 8 mg/ml for scutellarin ($r=0.999\ 9$) and 0.000 5-0.010 4 mg/ml for linarin ($r=0.999\ 7$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%; recoveries were 99.56%-102.38% (RSD=1.07%, $n=6$) and 95.14%-98.29% (RSD=1.24%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple with good stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of scutellarin and linarin in *S. dulcis*.

KEYWORDS Scoparia dulcis; Scutellarin; Linarin; HPLC

冰糖草,又称野甘草、土甘草,为玄参科植物野甘草 *Scoparia dulcis* Linn.的全草,是壮族地区常用的一味壮药,其味甜,性凉,具有清热毒、除湿毒、通气通水道的功效^[1]。目前,该药已有生药学^[2]和质量标准初步研究^[3]等相关报道,并收录于《广西壮族自治区壮药质量标准》(第二卷)^[4]。本研究以野黄芩苷、蒙花苷作为指标成分,建立了用高效液相色谱法(HPLC)同时测定冰糖草中野黄芩苷和蒙花苷含量的方法,在现有的基础上进一步补充、完善其质量标准。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括G-1311A高压四元泵、G-1314A单波长检测器、G-1379A在线真空脱气机、G-1311A标准自动进样器、G-1316A智能化柱温箱、1100 Series色谱工作站(美国Agilent公司);CG-16W型高速微量离心机(北京医用离心机厂);BP211D型电子分析天平(德国Sartorius公司)。

1.2 试剂

野黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:

^Δ基金项目:广西“2011协同创新中心”项目(No.桂教科研[2013]20号);广西壮族自治区重点实验室项目(No.桂科基字[2014]32号);广西重点学科(No.桂教科研[2013]16号);广西壮族自治区八桂学者项目

* 讲师,博士。研究方向:中药鉴定及质量控制。电话:0771-3137585。E-mail:alswen@163.com

[#] 通信作者:教授。研究方向:生药鉴别。电话:0771-3137585。E-mail:caiyi118@163.com

110842-201106,纯度:92.1%);蒙花苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:20110828,纯度:97.0%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

1.3 药材

冰糖草(见表1)采自广西各地,经广西中医药大学蔡毅教授鉴定为真品。

表1 冰糖草来源

Tab 1 Results of recovery test

| 编号 | 采集地点 | 分布地区 | 采集时间 |
|----|------|------|---------|
| 1 | 南宁隆安 | 桂中 | 2010.01 |
| 2 | 南宁宾阳 | 桂中 | 2010.01 |
| 3 | 南宁四塘 | 桂中 | 2010.12 |
| 4 | 南宁四塘 | 桂中 | 2011.06 |
| 5 | 南宁横县 | 桂中 | 2011.09 |
| 6 | 贺州昭平 | 桂东 | 2010.01 |
| 7 | 玉林北流 | 桂东 | 2010.01 |
| 8 | 广西北流 | 桂东 | 2011.01 |
| 9 | 广西梧州 | 桂东 | 2012.05 |
| 10 | 百色田阳 | 桂西 | 2011.02 |
| 11 | 广西钦州 | 桂南 | 2010.09 |

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex C₁₈(250 mm×4.60 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-0.05%磷酸(B),梯度洗脱(0~12 min,21% A;13~20 min,21%→28% A);流速:1.0 ml/min;检测波长:330 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取野黄芩苷、蒙花苷对照品 7.92、0.26 mg, 分别置于 25 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并定容, 摇匀, 即得野黄芩苷、蒙花苷质量浓度为 0.316 8、0.010 4 mg/ml 的单一对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 称取样品干燥粗粉 0.30 g, 精密称定, 置于 100 ml 锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 20 ml, 回流提取 1 h, 放冷, 补足损失质量, 滤过, 滤液备用。取上述滤液 1 ml, 以离心半径为 3 cm、10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱。结果, 理论板数以野黄芩苷和蒙花苷峰计分别 > 3 000、5 000; 分离度均 > 1.5, 各成分基线分离良好。色谱见图 1。

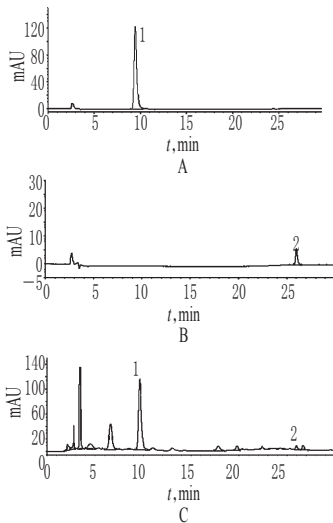


图 1 高效液相色谱图

A. 野黄芩苷对照品; B. 蒙花苷对照品; C. 供试品; 1. 野黄芩苷; 2. 蒙花苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. scutellarin control; B. linarin control; C. test sample; 1. scutellarin; 2. linarin

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下野黄芩苷、蒙花苷单一对照品溶液 0.5、1、2、4、8、10 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 加流动相定容, 制成系列单一对照品溶液。精密量取上述系列单一对照品溶液各 10 μ l, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以野黄芩苷、蒙花苷质量浓度 (x , μ g/ml) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y=2\ 605.71x-14.50$ ($r=0.999\ 9$)、 $y=2\ 029.65x+0.41$ ($r=0.999\ 7$)。结果表明, 野黄芩苷、蒙花苷检测质量浓度线性范围分别为 0.015 8~0.316 8、0.000 5~0.010 4 mg/ml。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果, 野黄芩苷、蒙花苷峰面积的 RSD 分别为 0.37%、0.78% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液 (编号: 1) 适量, 分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 野黄芩苷、蒙花苷峰面积的 RSD 分别为 0.96%、2.24% ($n=6$), 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品 (编号: 1) 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, 野黄芩苷、蒙花苷峰面积的 RSD 分别为 2.82%、2.64% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品 (编号: 1) 6 份, 每份 1 g, 分别加入一定质量的野黄芩苷、蒙花苷对照品, 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, 记录峰面积并计算加样回收率, 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 | 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, % |
|------|----------|---------|---------|----------|------------|--------|
| 野黄芩苷 | 0.796 9 | 0.786 0 | 1.596 9 | 101.78 | 101.21 | 1.07 |
| | 0.793 2 | 0.786 0 | 1.596 0 | 102.13 | | |
| | 0.795 9 | 0.786 0 | 1.600 6 | 102.38 | | |
| | 0.798 5 | 0.786 0 | 1.588 9 | 100.56 | | |
| | 0.797 4 | 0.786 0 | 1.590 0 | 100.83 | | |
| | 0.795 9 | 0.786 0 | 1.578 4 | 99.56 | | |
| 蒙花苷 | 0.035 1 | 0.036 0 | 0.068 5 | 98.29 | 96.67 | 1.24 |
| | 0.034 9 | 0.035 0 | 0.068 8 | 96.86 | | |
| | 0.035 0 | 0.035 0 | 0.069 2 | 97.71 | | |
| | 0.034 7 | 0.035 0 | 0.068 0 | 95.14 | | |
| | 0.034 0 | 0.035 0 | 0.067 5 | 95.71 | | |
| | 0.035 0 | 0.035 0 | 0.068 7 | 96.29 | | |

2.9 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 content determination of samples ($n=3$)

| 编号 | 野黄芩苷 | | | 蒙花苷 | | |
|----|----------|------------|--------|----------|------------|--------|
| | 含量, mg/g | 平均含量, mg/g | RSD, % | 含量, mg/g | 平均含量, mg/g | RSD, % |
| 1 | 3.140 1 | 3.101 1 | 2.08 | 0.099 8 | 0.102 5 | 2.40 |
| | 3.136 6 | | | 0.103 1 | | |
| | 3.026 6 | | | 0.104 7 | | |
| 2 | 1.411 7 | 1.439 4 | 2.55 | 0.055 2 | 0.056 2 | 3.34 |
| | 1.480 9 | | | 0.058 4 | | |
| | 1.425 5 | | | 0.055 1 | | |
| 3 | 1.984 7 | 1.941 7 | 2.00 | 0.070 9 | 0.070 2 | 0.95 |
| | 1.909 3 | | | 0.070 2 | | |
| | 1.931 1 | | | 0.069 6 | | |
| 4 | 5.324 8 | 5.410 8 | 1.39 | 0.233 3 | 0.235 7 | 2.05 |
| | 5.443 0 | | | 0.232 5 | | |
| | 5.464 6 | | | 0.241 2 | | |
| 5 | 2.730 6 | 2.754 3 | 2.32 | 0.058 2 | 0.055 9 | 3.56 |
| | 2.826 6 | | | 0.054 9 | | |
| | 2.705 8 | | | 0.054 6 | | |
| 6 | 1.262 6 | 1.254 3 | 2.20 | 0.051 1 | 0.050 0 | 2.87 |
| | 1.276 7 | | | 0.050 6 | | |
| | 1.223 4 | | | 0.048 4 | | |
| 7 | 1.772 4 | 1.819 5 | 3.23 | 0.067 5 | 0.068 8 | 2.14 |
| | 1.800 9 | | | 0.070 4 | | |
| | 1.885 3 | | | 0.068 6 | | |
| 8 | 1.055 9 | 1.049 1 | 2.12 | 0.042 3 | 0.043 2 | 3.17 |
| | 1.067 1 | | | 0.044 8 | | |
| | 1.024 2 | | | 0.042 6 | | |
| 9 | 0.914 0 | 0.924 9 | 1.04 | 0.055 1 | 0.053 4 | 2.82 |
| | 0.928 8 | | | 0.053 0 | | |

HPLC法同时测定氯苯醇溶液中氯霉素和盐酸苯海拉明的含量^Δ

刘珊*, 蒋琳兰, 谢新民, 晏明, 李冬, 李腾霞, 李辉, 林兰兰, 韩丽萍[#](广州军区广州总医院药剂科, 广州510010)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3847-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.34

摘要 目的:建立同时测定氯苯醇溶液中氯霉素和盐酸苯海拉明含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为含0.01 mol/L庚烷磺酸钠的磷酸盐缓冲液-乙腈(66.5:33.5, V/V),柱温为35℃,流速为1 ml/min,检测波长为盐酸苯海拉明258 nm、氯霉素277 nm,进样量为10 μl。结果:氯霉素、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为34.8~139.4 μg/ml($r=0.9998$)、93.0~930.5 μg/ml($r=0.9998$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为97.70%~104.02%、96.72%~101.72%,RSD分别为2.2%、1.6%($n=9$)。结论:该方法专属性强、结果准确、精密度好,适用于氯苯醇溶液的质量控制。

关键词 氯苯醇溶液;氯霉素;盐酸苯海拉明;含量

Simultaneous Contents Determination of Chloramphenicol and Diphenhydramine Hydrochloride in Chlorobenzene Alcohol Solution by HPLC

LIU Shan, JIANG Linlan, XIE Xinmin, YAN Ming, LI Dong, LI Tengxia, LI Hui, LIN Lanlan, HAN Liping(Dept. of Pharmacy, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous contents determination of chloramphenicol and diphenhydramine hydrochloride in Chlorobenzene alcohol solution. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C with mobile phase of phosphate buffer-acetonitrile (66.5:33.5, V/V) containing 0.01 mol/L sodium heptane, column temperature was 35℃, flow rate was 1 ml/min, detection wavelength was 258 nm for diphenhydramine hydrochloride and 277 nm for chloramphenicol, the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 34.8-139.4 μg/ml for chloramphenicol ($r=0.9998$) and 93.0-930.5 μg/ml for diphenhydramine hydrochloride ($r=0.9998$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 97.70%-104.02% (RSD=2.2%, $n=9$) and 96.72%-101.72% (RSD=1.6%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is specific, accurate with good precision, and suitable for the quality control of Chlorobenzene alcohol solution.

KEYWORDS Chlorobenzene alcohol solution; Chloramphenicol; Diphenhydramine hydrochloride; Content

续表3

Continued tab 3

| | | | | | | |
|----|---------|---------|------|---------|---------|------|
| | 0.931 9 | | | 0.052 2 | | |
| 10 | 3.902 5 | 3.870 3 | 0.72 | 0.229 2 | 0.226 4 | 1.08 |
| | 3.853 0 | | | 0.225 1 | | |
| | 3.855 3 | | | 0.224 8 | | |
| 11 | 1.382 8 | 1.395 3 | 2.52 | 0.055 7 | 0.054 2 | 2.39 |
| | 1.368 1 | | | 0.053 3 | | |
| | 1.455 1 | | | 0.053 7 | | |

3 讨论

清热解暑类药材常具有显著的解热药理作用,现已发现野黄芩苷、蒙花苷是解热作用的物质基础。冰糖草临床上具有显著的解热作用,在药材主要有效成分尚未明确时,可以考虑将与清热解暑作用密切相关的单体成分(野黄芩苷和蒙花苷)作为指标,采用HPLC法进行质量监控,以补充现有标准

Δ 基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(No. 14ZJZ03-3);广州市科技计划项目(No.201509010012)

* 药士。研究方向:中药化学与制剂分析。E-mail: 971607680@qq.com

通信作者:主任药师。研究方向:医院药事管理。E-mail: hliping@163.com

的不足。

冰糖草为一味常见的壮药,分布于广西各地,采收按传统习惯为全年可采。由本研究结果可见,广西各产地冰糖草药材中野黄芩苷和蒙花苷的含量差异较大,分别在0.924 9~5.410 8 mg/g和0.043 2~0.235 7 mg/g之间;从不同采收季节及不同产地数据来看,规律不明显。提示冰糖草最佳产地与采收季节应综合考虑临床疗效,才能得到可靠结果。

本试验采用HPLC法,选择Phenomenex C₁₈为色谱柱、乙腈-0.05%磷酸梯度洗脱为流动相、330 nm为检测波长,测定冰糖草中野黄芩苷和蒙花苷含量。结果表明,本方法操作简便,稳定性、重复性好,可用于冰糖草中野黄芩苷、蒙花苷含量的同时测定。

参考文献

- [1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准: 第二卷[S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2011: 134.
- [2] 朱华, 刘蕊蕊, 黄茂春, 等. 冰糖草的生药学研究[J]. 广西中医学院学报, 2007, 10(2): 63.
- [3] 马雯芳, 邓慧连, 蔡毅, 等. 壮药冰糖草质量标准初步研究[J]. 广西中医药, 2012, 35(4): 51.

(收稿日期:2015-07-18 修回日期:2015-09-21)

(编辑:张静)