

HPLC法测定蒙药复方述达格-4中庚酮类成分的含量^Δ

信莎莎*, 杨洋, 孙国园, 董玉*(内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010059)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3826-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.29

摘要 目的:建立测定蒙药复方述达格-4中1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Intersil ODS-3,流动相为乙腈-0.5%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮进样量在0.102~1.02 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 1.52\%$;平均加样回收率为97.10%,RSD为1.80%($n=6$)。结论:该方法准确、简便、重复性好,可用于蒙药复方述达格-4的质量控制。

关键词 蒙药;复方述达格-4;1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Heptanone in Mongolian Medicine Compound Shudage-4 by HPLC

XIN Sha-sha, YANG Yang, SUN Guo-yuan, DONG Yu(College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of 1-phenyl-7-(3-methoxy-4-hydroxy) phenyl-5-ol-3-heptanone in active ingredients of Mongolian medicine compound shudage-4. METHODS: HPLC was performed on the column of Intersil ODS-3 with the mobile phase of acetonitrile-0.5% phosphoric acid at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 210 nm, temperature was 30 ℃, and the volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of 1-phenyl-7-(3-methoxy-4-hydroxy) phenyl-5-ol-3-heptanone was 0.102-1.02 μg($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.52%; average recovery was 97.10% (RSD=1.80%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is accurate, simple and reproducible, and can provide basis for the quality control of Mongolian medicine compound shudage-4.

KEYWORDS Mongolian medicine; Compound shudage-4; 1-phenyl-7-(3-methoxy-4-hydroxy) phenyl-5-ol-3-heptanone; HPLC; Content determination

蒙药复方述达格-4的法定质量标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册)》^[1]。其处方由高良姜、紫硃砂、木香、石菖蒲(质量比为4:2:1:1)四味药材组成,具有镇“巴达干赫依”、消喘止痛的功能,可用于治疗膈肌痉挛、胸闷气短、胸肋刺痛、消化不良等症。高良姜主要含有黄酮类及庚烷类化合物。本课题组前期对该药进行了分离与鉴定,并测定了其中黄酮类成分的含量^[2-4]。在此基础上,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对前期分离纯化得到的庚烷类成分进行定量测定,以为全面控制蒙药复方述达格-4有效成分的含量提供参考。

1 材料

1260型HPLC仪,包括梯度泵、自动进样器、检测器、柱温箱、化学工作站(美国Agilent公司);AB135-S型超声波清洗仪(瑞士Mettler-Toledo公司);BS224S型电子分析天平(北京塞多利斯仪器系统公司)。

1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮对照品(内蒙古医科大学药学院实验室自制,纯度:99%);乙腈(色谱纯,美国Fisher公司);甲醇、乙醇、三氯甲烷、二氯甲烷、石油醚、丙酮、乙酸乙酯均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81260680);内蒙古自然科学基金面上项目(No.2013JQ03);内蒙古医科大学jyt149nyc02青年科技英才计划-A类(No.NJYT-14-A12)

* 硕士研究生。研究方向:蒙药(复方)药效物质基础及药物创新。E-mail:nmgxss@163.com

通信作者:教授,博士,硕士生导师。研究方向:蒙药(复方)药效物质基础及药物创新。E-mail:dongyu010@126.com

蒙药复方述达格-4中各味药材均由内蒙古天立药材有限公司提供(经内蒙古医科大学药学院乔俊敏教授鉴定为真品)。样品共有4批(编号1~4)。其中,编号1:高良姜(批号:20140410),紫硃砂(批号:20140410),木香(批号:20140101),石菖蒲(批号:20140108);编号2:高良姜(批号:20140426),紫硃砂(批号:20140410),木香(批号:20140101),石菖蒲(批号:20140108);编号3:高良姜(批号:20140528),紫硃砂(批号:20140410),木香(批号:20140101),石菖蒲(批号:20140108);编号4:高良姜(批号:20140707);紫硃砂(批号:20140410);木香(批号:20140101);石菖蒲(批号:20140108)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Intersil ODS-3(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈(A)-0.5%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~25 min, 45% A→55% A; 25~40 min, 55% A→100% A);流速: 1.0 ml/min;检测波长: 210 nm;柱温: 30 ℃;进样量: 20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取经减压干燥至恒质量的1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮对照品0.51 mg,置于10 ml量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取复方述达格-4样品5.0 g,精密称定,置于100 ml圆底烧瓶中,精密加入10倍体积的50%乙醇,回流提取2次,每次2 h,趁热用棉花粗滤,合并提取液,回收溶剂至无醇味,加蒸馏水稀释至15 ml。后经大孔树脂柱,用2倍体积的水洗脱,弃去洗脱液,再用8倍体积的50%乙醇洗脱;收集洗

脱液,回收溶剂,用70%乙醇定容于25 ml量瓶中,摇匀。精密量取上述溶液1.0 ml,置于25 ml量瓶中,用70%乙醇定容于25 ml量瓶中,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按复方述达格-4比例,制得不含高良姜的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,供试品中1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮色谱峰能达到有效分离,且保留时间与相应对照品一致;阴性对照溶液在相同保留时间处无色谱峰,表明其余药味对1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮测定无干扰。

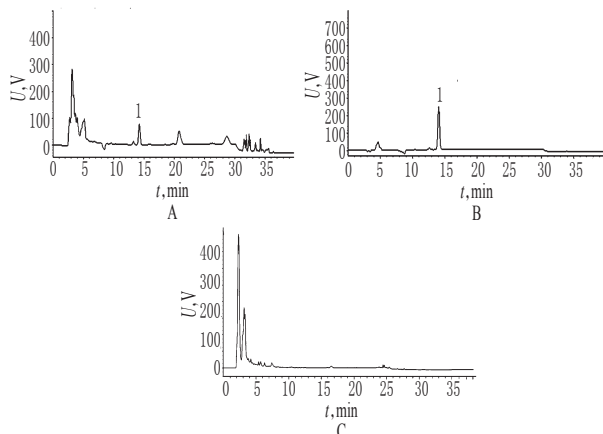


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substances;B.test samples;C.negative control;1.1-phenyl-7-(3-methoxy-4-hydroxy) phenyl-5-ol-3-heptanone

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液2.0、6.0、10.0、14.0、16.0、20.0 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮回归方程为 $y = 6988.436 10x + 63.950 60$ ($r = 0.999 9$)。结果表明,1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮进样量在0.102~1.02 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系。

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6次,记录峰面积。结果,1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮峰面积的RSD为0.50% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取样品(编号1)5.0 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于放置0、2、4、6、8、10、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮峰面积的RSD为0.05% ($n = 8$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取本品(编号1)6份,各5.0 g,精密称定,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。结果,1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮的平均含量为3.421 3%,RSD为1.52% ($n = 6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

称取已恒质量的干燥药材粉末(编号1)6份,各2.5 g,精密称定,分别加入一定量的1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n = 6$)

Table 1 Results of recovery tests ($n = 6$)

| 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,% |
|---------|--------|---------|---------|-----------|-------|
| 0.185 1 | 0.15 | 0.327 8 | 95.13 | | |
| 0.225 2 | 0.15 | 0.371 9 | 97.80 | | |
| 0.219 4 | 0.15 | 0.369 4 | 100.00 | | |
| 0.195 5 | 0.15 | 0.339 1 | 95.73 | 97.10 | 1.80 |
| 0.234 8 | 0.15 | 0.379 4 | 96.40 | | |
| 0.271 6 | 0.15 | 0.417 9 | 97.53 | | |

2.9 样品含量测定

取4批样品各适量,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,结果4批样品的含量分别为3.421 3%、3.128 5%、2.848 5%、3.369 5%。

3 讨论

3.1 待测成分的选择

自1885年至今已发现并确立结构的天然线性二苯基庚烷类化合物共有67个^[5]。1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮为二苯基庚烷类化合物,主要存在于姜科植物中,是一类结构比较特殊的化合物。蒙药复方述达格-4中主要药材高良姜为姜科植物,文献报道其主要成分有黄酮类、二苯基庚烷类及挥发油等^[6]。有报道对二苯基庚烷类及其单体进行了相关的药理研究^[7],发现1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮具有温胃散寒和消食止痛的作用。本课题从复方整体出发,采用现代化手段,对复方的化学成分进行研究,以确定与复方主治功能相一致的主要活性成分,并对其质量控制方法进行探讨。

3.2 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器,以本研究所用的流动相为溶剂,在200~400 nm波长范围内对1-苯基-7-(3-甲氧基-4-羟基)苯基-5-醇-3-庚酮进行扫描。结果发现,该成分在200~210 nm波长范围内有吸收,但在200 nm波长末端吸收处信号干扰大,基线不平,故选取210 nm为检测波长。

3.3 流动相的选择

在流动相系统的选择中,笔者比较了甲醇-水、甲醇-0.5%磷酸水、乙腈-水、乙腈-0.5%磷酸水等为流动相时的分离情况和出峰时间。结果发现,以乙腈-0.5%磷酸水溶液为流动相,采用梯度洗脱能使样品峰达到良好分离,峰形对称。

综上所述,本方法准确、简便,重复性好,可用于蒙药复方述达格-4的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[S].1998:158.
- [2] 杨洋,贾鑫,董玉,等.蒙药述达格-4的化学成分研究[J].内蒙古大学学报:自然科学版,2013,44(4):392.
- [3] 贾鑫,武娜,董玉.高效液相色谱法测定蒙药复方述达

HPLC 指纹图谱结合共有模式识别评价重庆市售青蒿饮片质量的一致性^Δ

贾成友^{1,2*}, 赵凤平¹, 李 微¹, 陈 娇¹, 杨荣平^{1,2#}, 王云红²(1.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2.重庆市中药研究院, 重庆 400065)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3828-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.30

摘要 目的:建立青蒿指纹图谱并对其共有模式进行识别,评价重庆市售青蒿饮片质量的一致性。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters XTerra C₁₈, 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),柱温为 30 ℃,流速为 1.0 ml/min,检测波长为 220 nm,进样量为 10 μl。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A 版)对 12 批样品的相似度进行评价,并通过主成分分析、系统聚类分析对其进行共有模式识别。结果:筛选出 11 批样品,建立了指纹图谱共有模式,并标定了 16 个共有特征峰。经对照,指出东莨菪内酯、青蒿素、青蒿酸 3 种主要成分;精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均 ≤ 2.53%。11 批样品与对照图谱相似度 > 0.990。结论:该方法稳定、易操作,可为科学评价和控制青蒿药材的质量提供参考依据。重庆市售青蒿饮片质量整体较好,尚有少量批次质量欠佳,应加强青蒿饮片规范化生产和监督。

关键词 青蒿; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 主成分分析; 聚类分析

Evaluation of Quality Coherence of Commercially Available *Artemisia apiacea* Decoration Pieces in Chongqing by HPLC Fingerprint Combined with Common Model Recognition

JIA Cheng-you^{1,2}, ZHAO Feng-ping¹, LI Wei¹, CHEN Jiao¹, YANG Rong-ping^{1,2}, WANG Yun-hong²(1.College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2.Chongqing Academy of Chinese Traditional Materia Medica, Chongqing 400065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the fingerprint of *Artemisia apiacea* to identify common model and evaluate the quality coherence of the commercially available *A. apiacea* decoration pieces in Chongqing. METHODS: HPLC method was performed on the column of Waters XTerra C₁₈ with the mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 220 nm, column temperature was 30 ℃ and the sample size was 10 μl. The similarity of 12 batches of samples was evaluated by TCM Chromatogram Fingerprint Similarity Evaluation System (2004A edition); a common model of fingerprints was identified by principal component analysis (PCA) and cluster analysis (CA). RESULTS: Totally 11 batches of samples were screened to establish common model of fingerprints and 16 common peaks were obtained, among which, 3 common components were identified; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.53%. The similarity of 11 batches of *A. apiacea* and reference chromatogram was more than 0.990. CONCLUSIONS: The method is stable and easy, and can provide reference for the scientific quality evaluation and control of *A. apiacea*; the quality of commercially available *A. apiacea* decoration pieces is generally good, however, there is still a little number of batches with poor quality. The production procedures and supervision of *A. apiacea* decoration pieces should be strengthened.

KEYWORDS *Artemisia apiacea*; HPLC; Fingerprint; Principal component analysis; Cluster analysis

青蒿 (*Artemisia apiacea*) 系菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 的干燥地上部分,具有清热、解暑、除蒸、截疟的功

效,主治暑热、暑湿、湿温、阴虚发热、疟疾、黄疸等证^[1]。现代药理研究表明,青蒿在抗疟、抗肿瘤、抗菌杀虫、抑制免疫功能

格-4 有效部位中山素和高良姜素的含量[J].内蒙古医学院学报,2011,33(3):225.

[4] 马强,贾鑫,董玉.高效液相色谱法同时测定蒙药复方达格-4 中 3 种黄酮类成分的含量[J].内蒙古大学学报:自然科学版,2010,41(6):665.

Δ 基金项目:国家科技支撑计划课题(No.2011BAI13B03)

* 硕士研究生。研究方向:中药新剂型、新技术及中药制剂分析。E-mail:zzchengyou0302@sina.cn

通信作者:研究员,硕士生导师,博士。研究方向:中药新剂型、新技术及中药制剂分析。E-mail:yangrp@cqacmm.com

[5] 罗京超,冯毅凡,吉星.天然线性二苯基庚烷类化合物的研究进展[J].中草药,2008,39(12):1912.

[6] 郭晓玲,孟青,冯毅凡,等.GC 法测定高良姜醇提物中两个二苯基庚烷类化合物[J].中草药,2011,42(8):1554.

[7] 李洪福,李永辉,王勇,等.高良姜化学成分及药理活性的研究[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(7):236.

(收稿日期:2014-12-15 修回日期:2015-06-27)

(编辑:余庆华)