

高效液相色谱法测定半边旗中芹菜素含量

吕应年, 吴科锋, 梁念慈

(广东医学院、广东天然药物研究与开发重点实验室, 广东 湛江 524023)

摘要:目的 建立草药半边旗中芹菜素含量的准确测定方法,并测定不同采收期的半边旗中芹菜素的含量。方法 采用高效液相色谱法,色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱,流动相为甲醇-水(梯度洗脱),流速为 0.2 mL/min,检测波长为 283 nm,柱温为 35℃。结果 芹菜素进样量在 0.076~0.76 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r^2=0.9986$),平均回收率为 98.1% ($RSD=1.24\%$)。结论 高效液相色谱法操作简便,测定结果可靠,可用于半边旗草药的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 半边旗; 黄酮; 芹菜素

中图分类号: R284.1 R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2007)05-0016-02

Quantitative Determination of Apigenin in *Pteris semipinnata* L. by HPLC

Lu Yingnian, Wu Kefeng, Liang Nianci

(Guangdong Medical College, Guangdong Key Lab for Research and Development of Natural Drugs, Zhanjiang, Guangdong, China 524023)

Abstract Objective To establish a HPLC method for content determination of apigenin from *Pteris semipinnata* L. **Methods** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ column, the mobile phase was the mixture of methanol (B) and water (A) with a linear gradient elution at a flow rate of 0.2 mL/min. The ultraviolet wavelength was 283 nm, and the column temperature was maintained at 35℃. **Results** The calibration curve showed good linearity in the range of 0.076~0.76 μg ($r^2=0.9986$), the average recovery rate was 98.1% ($RSD=1.24\%$). **Conclusion** The method is simple, convenient and accurate and can be used for the quality control of *Pteris semipinnata* L.

Key words HPLC; *Pteris semipinnata* L.; flavonoid; apigenin

半边旗 *Pteris semipinnata* L. 又名半边蕨、半边莲、单边旗,系凤尾蕨科植物,是南方常用的一种生药,始载于《岭南采药录》,有止血、生肌、解毒、消肿之功效,民间用于吐血、外伤出血、发背、疔疮、跌打损伤、目赤肿痛等的治疗^[1]。现代研究表明,半边旗中含有挥发油、萜类、黄酮、皂苷等多种物质^[2]。有关半边旗的药效成分研究主要集中在萜类化合物^[3-4],而黄酮类物质的药学研究尚未见报道。本课题组曾用分光光度法测定半边旗的黄酮含量^[5],但该方法主要用于植物提取物总黄酮的含量测定,不适合于对黄酮单体的分析。为此笔者采用高效液相色谱法(HPLC法)对半边旗的黄酮单体芹菜素进行研究,建立了半边旗中芹菜素含量的测定方法,并测定了不同采收期的半边旗中芹菜素的含量,为植物半边旗的广泛开发利用奠定了基础。

1 仪器和试剂

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪(LC-10ATVP 泵, SCL-10AVP 控制器, SPD-10AVP 紫外检测器, CTO-10AVP 柱温箱);梅特勒 AE240 型分析天平。芹菜素对照品(天津尖峰天然产物研究开发公司)。半边旗草药(采收于广东湛江郊区,经成都中医药大学苟占平博士鉴定为半边旗)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);紫外检测波长: 283 nm;流动相: 甲醇-水溶液, 0~100% 梯度洗脱;流速: 0.2 mL/min;柱温: 35℃。

2.2 溶液制备

精密称取芹菜素对照品 0.00152 g,置 10 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解,定容至刻度,摇匀即得质量浓度为 0.152 g/L 的芹菜素对照品贮备液。精密吸取贮备液 0.1、0.3、0.5、0.7、1.0 mL,分别加入甲醇定容至 1.0 mL,摇匀即得对照品溶液。按文献^[5]方法制备半边旗提取物,称取半边旗提取物约 5 g,先后加氯仿、乙酸乙酯,索氏提取至无色,蒸干乙酸乙酯提取液得半边旗黄酮。精密称取半边旗黄酮约 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解,定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.3 系统适应性及专属性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液各 5 μL,记录色谱图(图 1)。在上述色谱条件下,芹菜素的出峰时间为 29 min,供试品溶液色谱中在芹菜素峰相应位置有一显著峰。结果表明,该方法能使半边旗中黄酮得到较好分离,色谱系统的适应性及专属性良好。

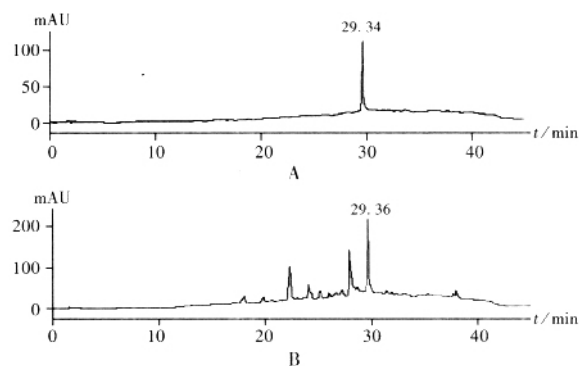


图 1 高效液相色谱图
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

2.4 线性关系考察

分别精密量取上述对照品溶液各 5 μL 进样,以色谱峰面积(Y)对质量(X)进行回归。芹菜素的线性回归方程为 $Y=163997X$, $r^2=0.9986$,线性范围为 0.076~0.76 μg。

2.5 精密度试验

取对照品贮备液 5 μL,连续进样 6 次,测得芹菜素峰面积的 RSD 为 0.67%,表明仪器进样精密度良好。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液 5 μL,分别在 0、2、4、8 h 时进样,测得的芹菜素的峰面积 RSD 为 1.72%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验

取同一批半边旗黄酮样品,按供试品溶液制备方法配制 6 份溶液,分别进样 5 μL,测得芹菜素含量的 RSD 为 1.86%,表明该方法的重现性较好。

2.8 加样回收试验

高效液相色谱法测定盐酸伐昔洛韦分散片的含量

王蔓琳,徐玉红,李玉珍,李成,郭华

(广东医学院附属福田人民医院 广东 深圳 518033)

摘要:目的 采用高效液相色谱法(HPLC法)测定盐酸伐昔洛韦分散片的含量。方法 以 Hypersil ODS 柱为分析柱,流动相为 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇-乙腈(80:15:5),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 250 nm,柱温为室温。以外标法计算标示量百分含量。结果 盐酸伐昔洛韦质量浓度在 10~60 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积呈现良好线性关系, $r=0.999\ 9$,平均回收率 99.20%, $RSD=0.50\%$ ($n=5$)。结论 HPLC 法操作简便、快速,结果准确可靠,重现性好,可用于测定盐酸伐昔洛韦分散片的含量。

关键词: 盐酸伐昔洛韦;分散片;含量测定;高效液相色谱法

中图分类号:R927.2 R978.7

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2007)05-0017-02

Determination of Dispersible Valaciclovir Chloride Tablets by HPLC

Wang Manlin, Xu Yuhong, Li Yuzhen, Li Cheng, Guo Hua

(The Affiliated Futian People's Hospital of Guangdong Medical College, Shenzhen, Guangdong, China 518033)

Abstract: Objective To develop a HPLC method for determination of dispersible valaciclovir chloride tablets. Methods Hypersil ODS C₁₈ column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) was used as an analytical column. The mobile phase consisted of 5% acetonitrile, 15% of methanol and 80% of 0.02 mol/L KH₂PO₄ with 1.0 mL/min of flow rate, the detective wavelength was 250 nm, and the column temperature was under the room temperature. External standard method was used. Results The standard curve of dispersible valaciclovir chloride tablets was linear in the concentration of 10~60 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 9$), the average recovery rate was 99.20%, $RSD=0.50\%$ ($n=5$). Conclusion The HPLC method is simple, rapid and accurate for the determination of dispersible valaciclovir chloride tablets.

Key words: valaciclovir chloride; dispersible tablets; content determination; HPLC

盐酸伐昔洛韦是一种新型抗病毒药物,是阿昔洛韦的 L-缬氨酸酯的盐酸盐,属于阿昔洛韦的前体药物,在体内转化为阿昔洛韦发挥作用,临床用于治疗单纯疱疹病毒 I、II 型感染和带状疱疹病毒感染等^[1]。但盐酸伐昔洛韦生物利用度不高,为进一步提高其生物利用度,充分发挥其临床疗效,笔者研制了盐酸伐昔洛韦分散片^[2],并建立了分散片的高效液相色谱测定方法,现报道如下。

精密称取半边旗黄酮样品(芹菜素含量为 0.26 mg/mg)6 份,每份约 10 mg,按低、中、高剂量分别加入 10、15、20 mL 的含量为 0.158 mg/mL 的芹菜素对照品,每一剂量组 2 份,加甲醇定容至 100 mL,用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液 5 μL ,注入高效液相色谱仪。结果见表 1。

表 1 芹菜素加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{x} (%)	RSD(%)
0.134	0.079	0.211	97.4	98.1	1.24
0.142	0.079	0.218	96.2		
0.138	0.118	0.253	97.5		
0.146	0.118	0.263	99.2		
0.144	0.158	0.301	99.4		
0.136	0.158	0.292	98.7		

2.9 样品含量测定

取不同采收期的半边旗全草,按供试品溶液制备方法制备样品溶液,各取 5 μL 进样,测定峰面积,由线性回归方程计算样品中芹菜素的含量。结果采收期为 6、7、8、9、10 月份的半边旗中芹菜素含量分别为 0.011%、0.032%、0.046%、0.022%、0.018%。

3 讨论

黄酮类化合物是中草药中的一种重要药效成分,芹菜素是一种很具有代表性的天然黄酮,在植物界分布较广^[6]。芹菜素的肿瘤化学预防作用及其机制已得到较为深入的研究,近年来它的其他药理药效作用也受到日益广泛的关注。芹菜素还具有抗炎症、降血压、抗动脉硬化和血栓症、抗菌、抗病毒以及抗氧化作用等多方面的生物学活性^[7-8],而且其致畸变毒性比其他黄酮类化合物低,因

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(G1311A 四元泵,G1322A 真空脱气机,G1315B-DAD 检测器,D1316A 柱温箱,rheodyne-7725i 手动进样器,ChemStation 工作站);UV-2201 紫外分光光度计(日本岛津);AG285 电子天平(梅特勒托利多仪器有限公司)。盐酸伐昔洛韦对照品(含量 94.8%,中国药品生物制品检定所,批号为

此芹菜素是一种具有良好应用前景的天然活性物质。

用 HPLC 法测定半边旗中芹菜素的含量快速准确,重现性好,杂质干扰小,因此该法适合半边旗中芹菜素的含量测定。从含量测定结果看,半边旗中芹菜素含量不高,不同采收期的含量差别较大,七八月份采收的半边旗中芹菜素含量最高。

作者简介:吕应年(1975-),男,湖北应城人,广东医学院讲师,硕士,主要从事天然活性成分的研究,(电话)0759-2388405(电子信箱)lyn7591@hotmail.com。

参考文献:

- [1] 谢宗万,余有琴.全国中草药名鉴(上册)[M].北京:人民卫生出版社,1996:53.
- [2] Maurakami T, Takana N. Occurrence, structure and taxonomic applications of fern constituents[J]. Prog Chem Organic Nat Prod, 1988, 54: 1.
- [3] 张 晓,崔 燎,田中信寿,等.半边旗有效成分抗肿瘤活性研究[J].中国药学杂志,1997,32(1):37-40.
- [4] Li JH, He CW, Liang NC, et al. Effects of antitumor compounds is isolated from *Pteris semipinnata* L. on DNA topoisomerases and cell cycle of HL-60 cells[J]. Acta Pharmacol Sin, 1999, 20(6): 541-544.
- [5] 傅玉萍,苟占平,胡菊英,等.分光光度法测定不同时期半边旗总黄酮含量[J].时珍国医国药,2001,12(12):1080-1081.
- [6] 姚新生.天然药物化学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2001:89.
- [7] 孙 斌,瞿伟青,张晓玲.芹菜素的药理作用研究进展[J].中药材,2004,27(7):88.
- [8] Basile A, Giordano S, Lopez-Saez JA, et al. Anti-bacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses[J]. Phytochemistry, 1999, 52: 1479-1482.

(收稿日期 2006-08-14;修回日期 2006-11-01)