

HPLC-ELSD 法同时测定参麦止嗽糖浆中 8 种成分

谭雄斯

(肇庆医学高等专科学校, 广东 肇庆 526020)

摘要: 目的 建立 HPLC-ELSD 法同时测定参麦止嗽糖浆(枇杷叶、麦冬、北沙参等)中蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 的含有量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Alltima C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相(乙腈-甲醇)-0.5% 醋酸铵, 梯度洗脱; 体积流量 0.7 mL/min; 柱温 35 °C。结果 8 种成分在各自范围内线性关系良好($r > 0.999 0$), 平均加样回收率 96.85% ~ 99.43%, RSD 0.57% ~ 1.33%。结论 该方法简便、快速、准确, 可用于参麦止嗽糖浆的质量控制。

关键词: 参麦止嗽糖浆; 化学成分; HPLC-ELSD

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)03-0609-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.020

Simultaneous determination of eight constituents in Shenmai Zhisou Syrup by HPLC-ELSD

TAN Xiong-si

(Zhaoqing Medical College, Zhaoqing 526020, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC-ELSD method for the simultaneous content determination of euscaphic acid, tormentic acid, cratogeolic acid, corosolic acid, ophiopogonin D, ophiopogonin D', methyllophiopogonanone A and methyllophiopogonanone B in Shenmai Zhisou Syrup (*Eriobotryae Folium*, *Ophiopogonis Radix*, *Glehniae Radix*, etc.). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 35 °C Alltima C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of (acetonitrile-methanol) -0.5% ammonium acetate flowing at 0.7 mL/min in a gradient elution manner. **RESULTS** Eight constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r > 0.999 0$), whose average recoveries were 96.85% - 99.43% with the RSDs of 0.57% - 1.33%. **CONCLUSION** This simple and accurate method can be used for the rapid quality control of Shenmai Zhisou Syrup.

KEY WORDS: Shenmai Zhisou Syrup; chemical constituents; HPLC-ELSD

参麦止嗽糖浆具有清热化痰、润肺止咳的功效, 可用于肺燥咳嗽、急慢性支气管炎等症状的治疗, 是由枇杷叶、麦冬、北沙参、买麻藤、鱼腥草 5 味药材加工而成的糖浆剂, 其现行质量标准收载于《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第 2 册, 但仅对性状、相对密度和 pH 值进行了控制, 尚无成分定量检测^[1]。其中, 枇杷叶具有清肺止咳、降逆止呕的作用^[2], 是止咳化痰的良药, 其主要化学成分有三萜酸、黄酮类、多酚、倍半萜、糖苷

类等, 药理作用主要集中在三萜酸的抗炎止咳、抗病毒、降血糖、抗氧化等, 包括蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸、熊果酸等^[3-6]; 麦冬具有生津解渴、润肺止咳的作用, 主要有效成分为皂苷、黄酮和多糖^[7], 其中皂苷类主要有麦冬皂甙 D、D'、C、C' 等, 黄酮类主要有麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B、麦冬黄烷酮 A、麦冬黄酮 A、B 等^[8], 其水提物、皂苷类及高异黄酮类成分均具有抗炎活性^[9]。本实验采

收稿日期: 2017-05-18

作者简介: 谭雄斯(1979—), 男, 硕士, 药师, 从事药物分析、质量标准研究等药学教育工作。Tel: 13450185366, E-mail: zhaoqing5366@163.com

用 HPLC-ELSD 法对参麦止嗽糖浆枇杷叶中蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸, 麦冬中麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 的含有量同时进行测定, 方法简便准确, 可为该制剂的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); ELSD2000ES 蒸发光散射检测器 (美国奥泰公司); BP-211D 电子天平 (德国赛多利斯公司); KQ5200E 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 参麦止嗽糖浆 (每瓶 100 mL) 来源于泉州中侨药业有限公司。蔷薇酸对照品 (53155-25-2) 来源于上海谷研实业有限公司; 委陵菜酸 (13850-16-3)、马斯里酸 (4373-41-5) 对照品来源于上海胜隆实业有限公司; 科罗索酸对照品 (4547-24-4) 来源于宝鸡市辰光生物科技有限公司; 麦冬皂苷 D (41753-55-3)、麦冬皂苷 D' (65604-80-0)、麦冬甲基黄烷酮 A (74805-92-8)、麦冬甲基黄烷酮 B (74805-91-7) 对照品来源于上海纯优生物科技有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯; 醋酸铵为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 供试品溶液 精密量取参麦止嗽糖浆 8.0 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇超声提取 10 min, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 过滤, 即得。

2.1.2 对照品溶液 精密称取各对照品适量, 置于不同的 20 mL 量瓶中, 甲醇溶解并定容, 振摇均匀, 即得贮备液 (蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 质量浓度分别为 5.716、2.894、3.532、4.958、0.414、0.392、0.354、0.368 mg/mL), 分别量取 5.0、5.0、5.0、5.0、5.0、2.5、5.0、2.5 mL, 置于同一 100 mL 量瓶中, 甲醇定容, 振摇均匀, 使得每 1 mL 溶液分别含蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 285.8、144.7、176.6、247.9、20.7、9.8、17.7、9.2 μg, 精密量取 25 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 甲醇定容, 振摇均匀, 即得。

2.1.3 阴性样品溶液 根据参麦止嗽糖浆质量标准项下的处方比例, 分别称取缺枇杷叶、麦冬的药味各 1 份, 按“2.1.1”项下方法制备, 即得。

2.2 色谱条件 Alltima C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); ELSD2000ES 蒸发光散射检测器 (漂移管温度 100 °C, 氮气体积流量 2.5 L/min)。流动相 A 为乙腈-甲醇 (1 : 2), B 为 0.5% 醋酸铵, 梯度洗脱 (0 ~ 9 min, 11.0% A; 9 ~ 17 min, 11.0% → 16.0% A; 17 ~ 26 min, 16.0% → 38.0% A; 26 ~ 39 min, 38.0% → 62.0% A; 39 ~ 45 min, 62.0% → 11.0% A); 体积流量 0.7 mL/min; 柱温 35 °C。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密量取“2.1.2”项下各对照品贮备液 5.0 mL, 甲醇定容至 50 mL, 摇匀, 作为溶液 I, 取适量用甲醇分别稀释至 75%、50%、25%、10%、5%, 制得溶液 II、III、IV、V、VI, 分别吸取 20 μL, 在“2.2”项色谱条件下进样测定。以峰面积积分值的对数值为纵坐标 (Y), 质量浓度的对数值为横坐标 (X) 进行线性回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

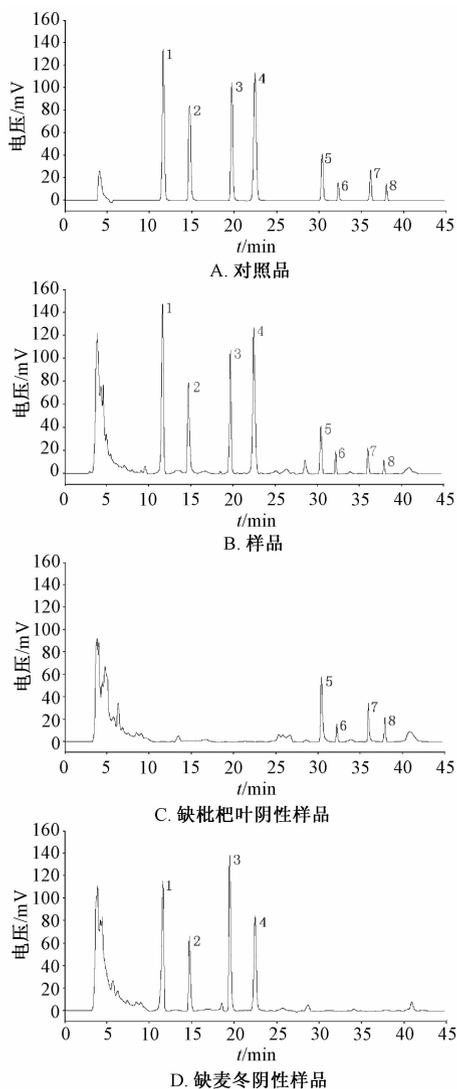
Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)	r
蔷薇酸	lgY = 1.287 1lgX + 6.839 1	28.58 ~ 571.60	0.999 3
委陵菜酸	lgY = 1.860 5lgX + 6.247 2	14.47 ~ 289.40	0.999 9
马斯里酸	lgY = 1.572 9lgX + 6.378 4	17.66 ~ 353.20	0.999 9
科罗索酸	lgY = 1.931 4lgX + 6.607 6	24.79 ~ 495.80	0.999 4
麦冬皂苷 D	lgY = 1.831 7lgX + 5.797 5	2.07 ~ 41.40	0.999 7
麦冬皂苷 D'	lgY = 1.115 9lgX + 4.935 7	1.96 ~ 39.20	0.999 6
麦冬甲基黄烷酮 A	lgY = 1.872 5lgX + 5.679 8	1.77 ~ 35.40	0.999 5
麦冬甲基黄烷酮 B	lgY = 1.165 7lgX + 5.527 0	1.84 ~ 36.80	0.999 8

2.3.2 专属性考察 精密吸取阴性样品、对照品、供试品溶液适量, 在“2.2”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由图可知, 在各阴性样品溶液色谱图中各成分对应的位置均无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.3.3 重复性试验 取样品 (批号 160327) 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2”项色谱条件下进样测定, 测得蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 含有量 RSD 分别为 1.23%、0.73%、1.25%、0.91%、1.44%、0.77%、0.56%、1.83%, 表明该方法重复性良好。

2.3.4 精密度试验 取对照品溶液适量, 在“2.2”项色谱条件下进样测定, 测得蔷薇酸、委



1. 蔷薇酸 2. 委陵菜酸 3. 马斯里酸 4. 科罗索酸 5. 麦冬皂苷 D 6. 麦冬皂苷 D' 7. 麦冬甲基黄烷酮 A 8. 麦冬甲基黄烷酮 B

1. euscaphic acid 2. tormentic acid 3. cratogenic acid 4. corosolic acid 5. ophiopogonin D 6. ophiopogonin D' 7. methyllophiopogonanone A 8. methyllophiopogonanone B

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B

表 2 各成分含有量测定结果 (mg/mL)

Tab. 2 Results of content determination of various constituents (mg/mL)

批号	蔷薇酸	委陵菜酸	马斯里酸	科罗索酸	麦冬皂苷 D	麦冬皂苷 D'	麦冬甲基黄烷酮 A	麦冬甲基黄烷酮 B
160327	1.971	0.894	1.135	1.769	0.117	0.073	0.096	0.049
160503	2.066	0.932	1.241	1.800	0.107	0.065	0.088	0.045
160512	1.870	0.807	1.046	1.735	0.132	0.082	0.109	0.056

3 讨论

3.1 检测方法选择 枇杷叶中的三萜酸类成分蔷

峰面积 RSD 分别为 0.65%、0.77%、0.68%、0.80%、1.13%、1.04%、1.06%、1.08%，表明仪器精密良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液，于室温下 0、2、4、8、12、16 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 峰面积 RSD 分别为 0.63%、0.71%、0.67%、0.79%、1.12%、1.03%、1.10%、1.21%，表明溶液在 16 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取各对照品适量，甲醇溶解并稀释成分别含蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 0.987、0.891、0.906、0.879、0.466、0.294、0.382、0.198 mg/mL 的对照品溶液，备用。取含有量已知的样品（批号 160327）9 份，每份精密量取 4.0 mL，置于 50 mL 量瓶中，按照 2015 年版《中国药典》四部“药品质量标准分析方法验证指导原则”^[10]要求精密加入各对照品溶液，加入量分别为供试品含有量的 50%、100%、150%，再按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、麦冬皂苷 D、麦冬皂苷 D'、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬甲基黄烷酮 B 平均加样回收率分别为 98.78%、96.94%、99.43%、97.43%、96.85%、98.45%、99.11%、97.85%，RSD 分别为 1.29%、0.85%、1.22%、0.76%、0.57%、1.09%、1.12%、1.33%。

2.4 样品含有量测定 取 3 批样品，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，精密吸取对照品、溶液 I、供试品溶液各 20 μL，在“2.2”项色谱条件下进样测定，外标两点法计算含有量，结果见表 2。

薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸等属于末端吸收化合物，检测波长在 210 nm 左右，采用紫外

检测器测定时基线漂移严重,而ELSD检测器能解决这一难题。同时,麦冬中的皂苷类和黄酮类成分无共轭结构,在紫外色谱区只有末端吸收,检测灵敏度降低。因此,本实验采用蒸发光散射检测器进行测定。

3.2 流动相选择 本实验以所测成分峰形、分离度、基线平稳程度为指标,考察了不同流动相体系对测定效果的影响。参考相关文献,首先比较了乙腈-甲醇-醋酸铵^[3,11-12]、乙腈-水^[7,13-14]流动相体系,发现前者洗脱时各成分分离效果明显优于后者。在此基础上,又考察了醋酸铵溶液的浓度和乙腈-甲醇的比例,最终确定最优流动相体系为乙腈-甲醇(1:2)与0.5%醋酸铵,此时基线平稳,各成分峰形基本对称,分离效果较好。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部颁药品标准(中药成方制剂第2册)[S]. 北京:人民卫生出版社,1990:148.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:155,204-205.

[3] 蔡雪萍,李松林,华俊磊,等. HPLC-ELSD同时测定枇杷叶中6种三萜酸成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(1):84-87.

[4] 李 婷,林文津,徐榕青,等. 枇杷叶的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2010,29(5):

11-14,20.

[5] 叶广亿,李书渊,陈艳芬,等. 枇杷叶不同提取物的止咳化痰平喘作用比较研究[J]. 中药药理与临床,2013,29(2):100-102.

[6] 王立为,刘新民,余世春,等. 枇杷叶抗炎和止咳作用研究[J]. 中草药,2004,35(2):174-176.

[7] 吴发明,杨瑞山,张思荻,等. 高效液相色谱法同时测定麦冬中3个黄酮成分的含量[J]. 中国药学杂志,2016,51(8):655-658.

[8] 陈 屏,徐东铭,雷 军,等. 麦冬化学成分及药理作用的研究现状[J]. 长春中医药大学学报,2004,20(1):35-36.

[9] 袁春丽,孙 立,袁胜涛,等. 麦冬有效成分的药理活性及作用机制研究进展[J]. 中国新药杂志,2013,22(21):2496-2502.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:20.

[11] 华俊磊,蔡雪萍,鞠建明,等. HPLC-ELSD测定枇杷叶总三萜酸固体分散体片中6种三萜酸含量[J]. 中国药学杂志,2014,49(17):1550-1553.

[12] 蔡雪萍,李振华,华俊磊,等. 一测多评法测定枇杷叶有效部位中6种三萜酸成分的量[J]. 中草药,2013,44(21):3057-3062.

[13] 吴发明,张思荻,曾 俊,等. HPLC-ELSD法测定不同产地麦冬中4种代表性成分的含量[J]. 药物分析杂志,2016,36(8):1370-1376.

[14] 贾 诚,叶正良,姜秀晶,等. ELSD-HPLC法测定麦冬药材中麦冬皂苷D、D'含量[J]. 现代中药研究与实践,2012,26(3):79-81.