

· 药学 ·

RP-HPLC 法测定酸枣仁汤中芒果苷的含量 *

齐凤琴 李廷利[△] 张 博 张 冰 郭冷秋 黄莉莉

(黑龙江中医药大学 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要 目的 建立测定酸枣仁汤中芒果苷含量的反高效液相色谱分析方法。方法 色谱柱 Waters C18 (250nm× 4.6mm, 5μm) 流动相 乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱 流速 1.0ml/min, 检测波长 257nm。结果 芒果苷在 0.316μg-1.264μg 范围内与峰面积线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均加样回收率为 97.64%, RSD 为 0.36%。结论 本方法简便、准确、可靠、重复性好, 可作为酸枣仁汤中芒果苷的含量测定方法。

关键词 酸枣仁汤 芒果苷 RP-HPLC

中图分类号 R284.1 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 12-2353-03

Determination of Mangiferin in Suanzaoren Decoction by RP-HPLC*

QI Feng-qin, LI Ting-li[△], ZHANG Bo, ZHANG Bing, GUO Leng-qiu, HUANG Li-li

(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Haerbin 150040, China)

ABSTRACT Objective: To establish a HPLC method for the determination of mangiferin in Suanzaoren Decoction. **Methods:** The determination was performed on Waters C18 column (250nm× 4.6mm, 5μm) with a gradient mobile phase composed of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid. The detection wavelength was 257nm, and the flow rate was 1ml/min. **Results:** The Mangiferin showed good linearity ($r=0.9999$) in the range of 0.316μg-1.264μg, the average recovery was 97.64% with RSD 0.36%. **Conclusion:** The method is simple, accurate, reliable and suitable for determination of Mangiferin in Suanzaoren Decoction.

Key words: Suanzaoren Decoction; Mangiferin; RP-HPLC

Chinese Library Classification: R284.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273 (2011) 12-2353-03

前言

酸枣仁汤出自张仲景《金匮要略·血痹虚劳脉证并治第六》篇, 由炒酸枣仁、茯苓、川芎、知母、甘草 5 味中药组成。具有养血安神, 清热除烦之功, 用于治疗肝血不足, 虚热内扰引起的心烦失眠等症。目前有文献报道, 采用 RP-HPLC 法, 以香兰素为内标物, 对酸枣仁汤佐药知母中有效成分芒果苷含量进行测定。本文采用 RP-HPLC 法, 建立了外标法对该方中芒果苷含量进行测定的方法。该方法结果准确、重复性好且快速简便, 期为客观、全面评价酸枣仁汤质量和完善该复方中药的质量标准提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪 (Waters e2695 Separations Module, Waters 2998 Photodiode Array Detector); Waters Symmetry C18 色谱柱 (4.6mm× 250mm, 5μm); Waters Symmetry C18 保护柱 (WAT054225); KQ-500 型医用数控超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

酸枣仁、知母、川芎、茯苓、甘草饮片分别购于哈药集团世一堂中药饮片有限责任公司, 芒果苷对照品购于成都思科华生物制品有限公司, 乙腈为色谱纯, 其它均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Waters Symmetry C18 色谱柱 (4.6mm× 250mm, 5μm) 流动相 A 乙腈, B 0.1%磷酸水溶液 梯度洗脱: 0-10 min, 10%A-20%A; 10-20 min, 20%A-100%A 柱温 30℃ 流速 1.0ml/min 检测波长 257nm 进样量为 10μl 芒果苷对照品及酸枣仁汤样品色谱图, 见图 1。

2.2 对照品溶液制备

精密称取芒果苷对照品 1.5mg, 置 50ml 容量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 酸枣仁汤样品的制备 称定炒枣仁 15g, 川芎 6g, 知母 6g, 茯苓 6g, 甘草 3g 加入 10 倍量水, 浸泡 30 分钟, 回流提取 1h, 过滤, 药渣加入 8 倍量水在回流提 1h, 合并两次滤液, 冷冻干燥, 即得酸枣仁汤冻干粉。

2.3.2 酸枣仁汤样品的制备 精密称取酸枣仁汤冻干粉 0.1g 左

* 基金项目 教育部 2008 年博士点基金 (200802280001)

作者简介 齐凤琴 (1972), 女, 博士研究生, 主要研究方向 中药药理及药效物质基础研究

[△]通讯作者 李廷利, E-mail: litingli8888@sohu.com

(收稿日期 2010-12-31 接受日期 2011-01-28)

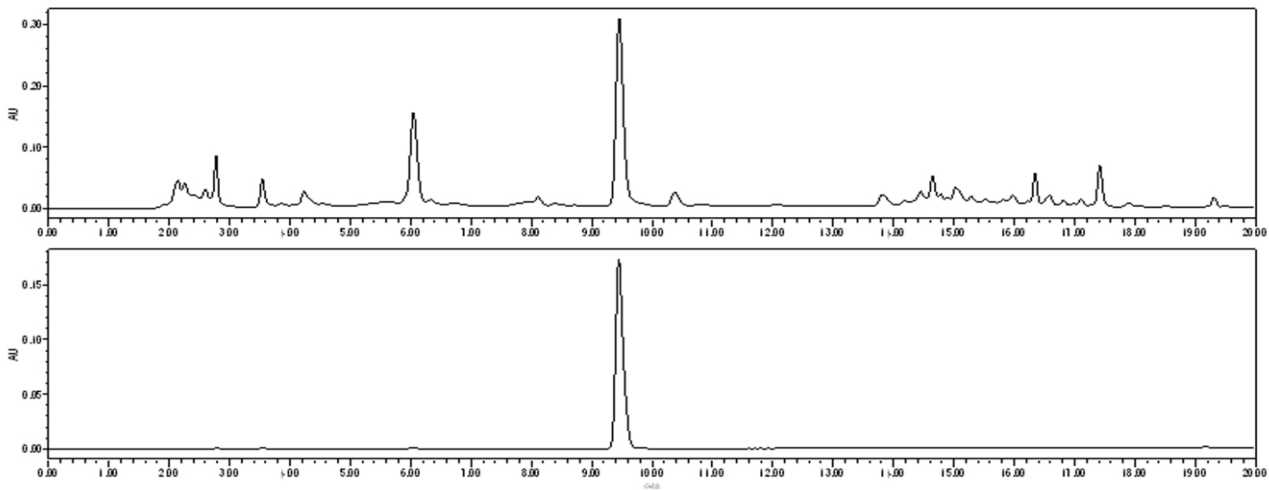


图 1 酸枣仁汤 (A) 和芒果苷对照品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig.1 Suanzaoren Decoction (A)and HPLC chromatograms of reference (B)

右,用 10ml 70%甲醇超声提取 30min,过滤,定容至 10ml,溶液过 0.45μm 微孔滤膜,滤液作为样品供试液。

2.4 线性关系考察

芒果苷对照品溶液分别自动进样 10、15、25、35、40μl,测得

芒果苷的峰面积,以质量 X 与色谱峰面积 Y 做标准曲线,得回归方程为 :Y=4594467X-79913.34 (r=0.9999),结果见表 1,表明芒果苷在 0.316-1.264μg 范围内线性关系良好。

表 1 标准曲线数据表

Table 1 Data sheet of specification curve

Serial number	No 1	No 2	No 3	No 4	No 5
Specimen handling quantity	0.316	0.474	0.790	1.106	1.264
Peak area	1499600	2250855	3778371	5182073	5836811

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10μl,进样,按含量测定项下色谱条件测定,连续测定 5 次,RSD 为 0.43%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一样品溶液,在制备后 0、6、12、18、24h 进样,分别记录芒果苷的峰面积,样品的 RSD 为 0.62%。实验结果表明,24 小时内样品稳定性良好。

2.7 重复性试验

按供试液制备方法平行操作制备 5 份供试品溶液,每份样品进样 10μl,用标准曲线法测定芒果苷含量,样品的 RSD 为 2.41%,实验结果表明,方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的酸枣仁汤冻干粉 0.1g 左右,共 5 份,分别加入一定量的芒果苷对照品,按供试品溶液制备方法制备样品 5 份,每份样品进样 10μl,用标准曲线法测定芒果苷含量,计算回收率,平均回收率为 97.64%,RSD 为 0.36% (n=5)。结果表明,本方法具有良好的回收率。

2.9 样品测定

取本品 5 批,按 "2.3" 项下测定项下制备供试品溶液,按照 "2.1" 项下色谱条件进行测定,根据标准曲线回归方程计算样品中芒果苷的含量,结果见表 2。

表 2 芒果苷的含量结果

Tab.2 Determination of mangiferin contents

Number	Peak area	Mangiferin (mg/g)	Result
1	2443690	4.8492	4.8091± 0.1806 mg/g
2	2269249	4.6188	
3	2439067	4.8216	
4	2287585	4.6741	
5	2594250	5.0817	

3 讨论

本实验采用 DAD 检测器对紫外区扫描的各波长下的图谱进行比较分析,结果表明芒果苷在 257nm 有最大吸收峰,而且在此波长下待测成分与复方中其他成分可有效的分离,故选定 257nm 作为测定波长。

本实验比较了不同提取溶剂如水、乙醇、甲醇、70%甲醇、50%甲醇加热回流,超声提取等不同提取方法的提取效果,以 70%甲醇超声提取 30 min 效果为佳,同时对超声提取次数进行考察,发现 30min 提取一次已可将大部分成分提出,所以采用超声提取一次的方法。

芒果苷属双苯吡酮类成分,具有一定的弱酸性。在流动相中加入磷酸可明显改善峰形,并且磷酸是不挥发性酸,保证了流动相酸度的稳定性。经反复摸索,选用 0.1%磷酸水溶液。由于复方成分较多,等度洗脱难以达到基线的完全分离,最后选用乙腈 0.1%磷酸水溶液进行梯度洗脱,效果较好。

本研究采用 RP-HPLC 外标法直接测定酸枣仁汤中芒果苷的含量,供试品溶液制备方法简便、易行、快速,结果准确可靠,可为酸枣仁汤质量控制和工艺研究提供参考。

参考文献 (References)

- [1] Fang Qian-bo, Qian Kun-ming, Pan Yang, et al. Determination of Mangiferin and Neomangiferin in Baihe Zhimu Decoction by RP-HPLC[J]. Chin Med J Res Prac, 2010,24(4):67-69
- [2] Ma Rong-rong, Tang Yi-hong, Ma Chun-hui, et al. Determination of mangiferin in rhizoma anemarrhenae from diferent habitats by HPLC-UV technique [J]. Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition), 2007,23(6):657-659
- [3] Yang Xiao, Rui Guang-wei, Liao Juan. Determination of Mangiferin content in Rhizoma Anemarrhenal Using RP-HPLC Approach [J]. Journal of Xihua University·Natural Science, 2009,28(2):63-65
- [4] HE Cuiwei, Ding Riling, Huang Qiaoni, et al. Determination of mangiferin and paeonol in Zhibaidihuang Concentrated pill by

RP-HPLC[J]. CHINA Modern Medicine, 2009,16(21):38-39

- [5] LiYu-juan, Bi Kai-shun. Determination of mangiferin and glycyrrhizic acid in Suanzaoren Decoction by RP-HPLC [J]. Chinese Traditional Patent Medicin, 2004,26(10):801-804
- [6] Zhai Hong-Li, Sun Lian, Na, Lai Wei, et al. Determination of Mangiferin and Neomangiferin in Rhizoma Anemarrhenae and its Preparation by HPL C [J]. Pharm J china PLA, 2007, 23(6):472-474
- [7] Xiong XJ, Wang J. Discussion of related problems in herbal prescription science based on objective indications of herbs [J]. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2010,8(1):20-24
- [8] You Qiu-yun, Wang Ping, Huang Pan-Pan. Effects of wild jujube seed decoction on uitrastructure and astrocytes expression in the brain cortex of oldmodel rats with sleep deprivation syndromes [J]. Chin J Behav Med Brain Sci, 2010,19(9):827-829
- [9] LI Yu-juan, Dai Yue han, Wang Rui, et al. Study on Extraction Process of Suanzaoren Decoction[J]. Chin Pharm J, 2007, 42 (3):175-177
- [10] Lin Wen-quan, Chen Xue-xi. The Study and Reflection of Suanzaoren Decoction [J]. Chinese Arhives of Traditional Chinese Medicine, 2007,25(8):1716-1718
- [11] Xu JQ, Wang M Z. Science of C M PXIic m [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995:306
- [12] Li YJ, Wan GR, Chen M, et al. Study on efficacy of Suanza oren decoction with different extraction process [J]. Chin Crude Drugs, 2001,24(12):884-885
- [13] Li YJ. Study on the therapeutic material basis of traditional Chinese medicinal preparation Suanzaoren decoction[D]. Shenyang:Shenyang Pharmaceutical University, 2003
- [14] Li Hui-jun, Liu Shuang-yue, Li Ping. Optimization of Preparative Process of Suanzaoren Decoction by Orthogonal Design [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medicia Research, 2010,12(7):500-501
- [15] Li Yu-juan, Bi Kai-shu. Pharmacokinetics of mangiferin in rat plasma after oral administration of a single dose of Suanzaoren decoction [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2005,40(2):164-167

(上接第 2364 页)

- [15] 郭峥春. 试论网络环境下的自主学习教学模式 [J]. 西广播电视大学学报, 2010(4) :15-16
Guo Zheng-chun. On the teaching model of autonomous learning under the network environment [J]. Journal of shanxi radio &TV university, 2010(4) :15-16
- [16] 李艳玲; 钱建国. 实验课件构建的高校实验教学平台[J]. 实验科学与技术, 2008,6(3) 94-95
Li Yan-ling, Qian Jian-guo. Establishing of Platform for Practical Teaching in University by using Experiment Courseware. Experiment

Science & Technology[J], 2008,6(3) 94-95

- [17] 焦望军. 网络信息安全管理思考[J]. 兰州学刊, 2005(2) 241-242
Jiao Wang-jun. Thinking on management of Network information security[J]. Academic journal of Lanzhou, 2005(2) 241-242
- [18] 何丽娟. 高校公共计算机实验室管理与维护探讨 [J]. 华北航天工业学院学报, 2005,15(3):60-62
He Li-juan. Discussion on the Administration and Maintenance of the Universities' public Computer Laboratory [J]. Journal of North China Institute of Astronautic Engineer, 2005,15(3):60-62