

HPLC 测定复方贯叶金丝桃滴丸中金丝桃苷的含量

于宁,何承辉,邢建国*

(新疆维吾尔自治区药物研究所,乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的:建立复方贯叶金丝桃滴丸中主要有效成分金丝桃苷的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法, COSMOSIL packed Column 5 C₁₈-MS-II (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相乙腈-水(0.5% 冰醋酸和 2% 四氢呋喃)(13:87),检测波长 360 nm。结果:金丝桃苷在 10.8 ~ 54.0 mg·L⁻¹ 峰面积与进样浓度具有良好线性关系($r=0.9991$),平均回收率 98.31% ($n=6$),RSD 1.23%。结论:该法准确、可行,可用于该滴丸的质量控制。

[关键词] 复方贯叶金丝桃滴丸; 金丝桃苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0104-03

[doi] 10.11653/syjf2013160104

HPLC Determination of Hyperin in Compound Hypericum Perforatum Dropping Pills

YU Ning, HE Cheng-hui, XING Jian-guo*

(Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method to determine the concentration of hyperin in Compound Hypericum Perforatum Dropping Pills. **Method:** HPLC was used for the determination of hyperin in Compound Hypericum Perforatum. A COSMOSIL packed column 5 C₁₈-MS-II (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile-water (0.5% glacial acetic acid and 2% tetrahydrofuran) (13:87). The detection wavelength was set at 360 nm. **Result:** The linear range for hyperin was 10.8-54.0 mg·L⁻¹ ($r=0.9991$). The average recovery was 98.31% (RSD 1.23%). **Conclusion:** The method can control the quality of Compound Hypericum Perforatum Dropping Pills effectively. It was sensitive, accurate and feasible.

[Key words] Compound Hypericum Perforatum Dropping Pills; hyperin; HPLC

复方贯叶金丝桃滴丸是按照中医理论组方的现代中药复方制剂,处方来源于新疆一老中医多年临床经验方,由贯叶金丝桃、板蓝根和一枝蒿 3 味中药经提取、纯化加工制成。具有解表祛风、凉血解毒之功效,用于邪毒所致的感冒发烧、咽喉肿痛、病毒性感冒见上述证候者。主要含金丝桃苷等活性成分,

为控制其质量,本文采用高效液相色谱法对制剂中金丝桃苷含量加以测定,为该制剂的质量控制提供依据。

1 材料

SPD-10AVP 型高效液相色谱仪(日本岛津制造所),BS110S 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),Millipore simplicity-185 型超纯水器(美国密理博公司),KQ-100DE 型数控超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司)。

金丝桃苷对照品(批号 111521-200303)由中国药品生物制品检定所提供,复方贯叶金丝桃滴丸由新疆维吾尔自治区药物研究所提供,乙腈为美国 Fisher 公司产色谱纯,水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

[收稿日期] 20120608(006)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重大科技专项(201130105-3)

[第一作者] 于宁,助理研究员,从事中药新药研究, Tel: 13579235915, E-mail: ynjy798@163.com

[通讯作者] *邢建国,副研究员,硕士生导师,从事中药新药研究, Tel: 13999178585, E-mail: xingjianguo642@sohu.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1-7] COSMOSIL packed Column 5 C₁₈-MS-II 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(0.5%冰醋酸和2%四氢呋喃)(13:87), 检测波长360 nm, 柱温40 ℃, 流速1.0 mL·min⁻¹, 进样量10 μL。见图1。

2.2 对照品溶液制备 精密称取金丝桃苷对照品适量,加甲醇制成43.2 mg·L⁻¹的溶液,摇匀,即得。

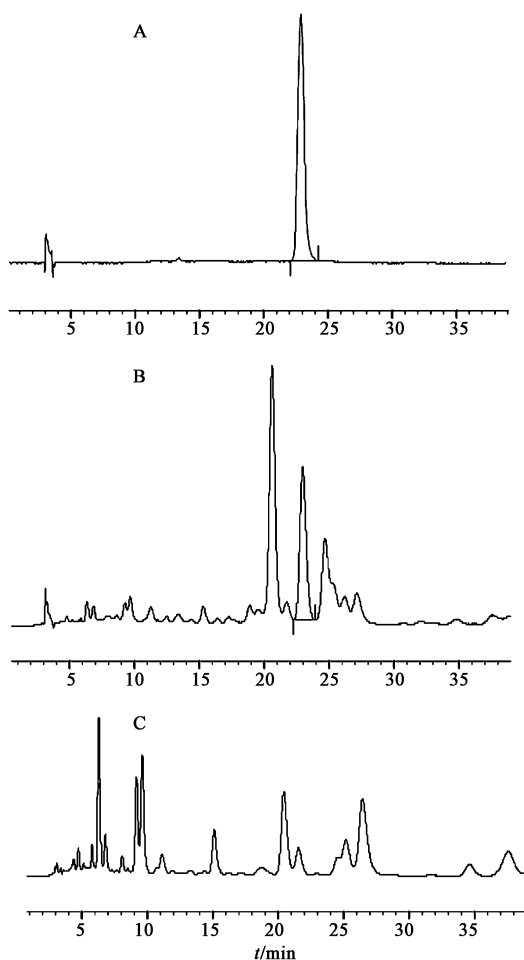
2.3 供试品溶液制备^[7-11] 取本品适量,研细,取粉末0.4 g,精密称定,置50 mL量瓶中,加60%乙醇适量,超声处理(功率100 W,频率40 kHz)30 min,放冷,用60%乙醇定容至刻度,摇匀,滤液经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性液制备及干扰试验 按处方制备不含贯叶金丝桃的阴性样品,按2.3项下方法制备贯叶金丝桃空白溶液,依法测定,结果无干扰。

2.5 线性关系考察 精密称取金丝桃苷对照品5.4 mg,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得216 mg·L⁻¹的金丝桃苷对照品贮备溶液,精密吸取金丝桃苷对照品贮备液0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL,分别置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL含10.8, 21.6, 32.4, 43.2, 54 μg的对照品系列溶液。精密吸取上述溶液10 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积。以进样浓度(mg·L⁻¹)为横坐标X,峰面积为纵坐标Y,进行回归,得标准曲线方程 $Y = 24\ 560X - 21\ 058$ ($r = 0.999\ 1$),表明金丝桃苷对照品在10.8 ~ 54 mg·L⁻¹具有良好线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液10 μL,连续进样5次,在上述色谱条件下,测定色谱峰面积,结果RSD 1.44%,试验结果表明精密度较好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液10 μL,每隔2 h进样1次,在上述色谱条件下,测定金丝桃苷的峰面积,结果RSD 1.07%,表明供试品



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性; 1. 金丝桃苷

图1 复方贯叶金丝桃滴丸 HPLC

溶液8 h内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批供试品,按2.3项下方法制备6份供试品溶液,按上述色谱条件测定金丝桃苷含量,RSD 0.3%,结果表明重复性良好。

2.9 回收率试验 取本品适量,研细,取0.2 g,精密称定7份,置50 mL量瓶中,第1份作为空白,其余6份,精密加入金丝桃苷对照品,按供试品的制备与测定方法,在上述色谱条件下,进行含量测定,计算回收率,结果见表1。

表1 金丝桃苷加样回收率测定

No.	称样量/g	样品含量/mg	测定总量/mg	回收量/mg	回收率/%	加样回收率/%	RSD/%
1	0.200 2	0.631 3	1.290 1	0.658 8	98.03		
2	0.201 9	0.636 6	1.296 4	0.659 8	98.18		
3	0.200 3	0.631 6	1.299 1	0.667 5	99.33		
4	0.200 1	0.631 0	1.286 7	0.655 7	97.58	98.31	1.23
5	0.200 8	0.633 2	1.305 4	0.672 2	100.04		
6	0.199 4	0.628 8	1.278 5	0.649 8	96.69		

注:加入量均为0.672 mg。

2.10 样品测定 取 3 批样品,分别按 2.3 项制备各供试品溶液,按 2.1 的色谱条件,分别进样,对照品溶液和供试品溶液,按外标法计算供试品中金丝桃苷含量,结果见表 2。3 批样品的平均含量为 0.107 1 mg/丸,所以本品的含量限定值应不低于 0.075 mg/丸。

表 2 复方贯叶金丝桃滴丸含量测定 mg/丸

批号	1	2	平均
100710	0.107 5	0.107 1	0.107 3
100714	0.107 0	0.107 4	0.107 2
100718	0.105 9	0.107 6	0.106 7

3 讨论

比较了甲醇、60% 甲醇、60% 乙醇等溶剂提取效果,结果表明 60% 乙醇提取效果最佳,且超声处理 30 min 提取效率占超声处理 60 min 的 95% 以上,故选择 60% 乙醇作为溶剂超声提取 30 min。

金丝桃苷的含量测定方法,已报道的主要是采用高效液相色谱法,首先参照 2010 年版《中国药典》一部贯叶金丝桃药材项下含量测定方法,采用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱,流动相乙腈-0.1% 磷酸(16:84)结果金丝桃苷色谱峰分离效果差,经调整流动相比比例,仍无改善。查阅文献,流动相多采用甲醇-0.5% 磷酸-三乙胺(40:60:0.36)、乙腈-水(0.5% 冰醋酸和 2% 四氢呋喃)(20:80),经试验,多次调节流动相的比例,当乙腈-水(0.5% 冰醋酸和 2% 四氢呋喃)(13:87)时,金丝桃苷色谱峰分离度良好,基线平稳。该方法专属性强,灵敏度高,重复性好,可作为该制剂质量控制的方法。

[参考文献]

- [1] 李艳,曹学丽,付鹏,等.贯叶金丝桃活性成分及其分离纯化与检测方法的研究进展[J].药学进展,2007,32(1):15.
- [2] 张爱均,李峰.益心酮泡腾片中金丝桃苷的含量测定[J].江西中医药,2008,39(1):51.
- [3] 樊敏伟,马能溢,王冰,等.高效液相色谱法测定贯叶金丝桃提取物缓释胶囊中金丝桃苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(11):9.
- [4] 李东峰,赵军,王建华.高效液相色谱法测定山楂中金丝桃苷的含量[J].新疆医科大学学报,2008,31(12):1679.
- [5] 李敏芳,李慧,王学美,等.高效液相色谱法测定五子衍宗丸中金丝桃苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(2):1.
- [6] 熊爱珍,杨莉,杨雪晶,等.RP-HPLC 法测定千里光药材中金丝桃苷的含量[J].药物分析杂志,2010,30(5):936.
- [7] 蒋声海.贯叶连翘的化学成分及其提取方法研究进展[J].中国实用医药,2010,5(32):231.
- [8] 曹建国,赵则海,杨逢建,等.刺五加叶中金丝桃苷含量的测定[J].植物学通报,2005,22(2):203.
- [9] 袁丽春,刘斌,石任兵.HPLC 法测定不同市售荷叶药材中金丝桃苷和异槲皮苷的含量[J].药物分析杂志,2010,30(1):41.
- [10] 张俊松,王晓利,罗谦,等.HPLC 测定贯叶连翘及提取物中伪金丝桃素和金丝桃苷的含量[J].中成药,2006,28(5):709.
- [11] 陆珞,关键,蔡恩博,等.星点设计-效应面法优选短梗五加叶中金丝桃苷的提取工艺[J].食品科学,2010,31(18):46.

[责任编辑 顾雪竹]