

高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量

万军

(西南交通大学生命科学与工程学院,成都 610031)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷含量的方法。方法:采用 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液 (30:70),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 238 nm,柱温 35 °C。结果:栀子苷在 0.04 ~ 0.51 μg (r=0.999 9),线性关系良好。平均回收率 100.35% (n=5),RSD 1.31%。结论:方法分离度好,快速、简便,适用于鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量测定,可作为产品的质量控方法。

[关键词] 高效液相色谱;鼻渊舒颗粒;栀子苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0078-03

Determination of Geniposide in Biyuanshu Granules by HPLC

WAN Jun

(Life Science & Engineering College of South-west Jiao-tong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for determination of geniposide in Biyuanshu granules. **Method:** The Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, and mobile phase was composed of CH₃OH-0.2% H₃PO₄ (30:70). Detection wavelength was at 238 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was at 35 °C. **Result:** The linear response range was from 0.04-0.51 μg (r=0.999 9). The recovery rate was 100.35% (n=5), RSD was 1.31%. **Conclusion:** The HPLC method is simple, accurate, and suitable for the determination of geniposide in Biyuanshu granules.

[Key words] HPLC; Biyuanshu granules; geniposide

[收稿日期] 20101125(001)

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金项目(SWJTU09BR220,SWJTU09ZT29)

[第一作者] 万军,讲师,博士,从事中药新药研究与教学工作,E-mail:wwangyidi@126.com

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:30.
- [2] 陈钟,卢树杰,张维库,等. HPLC 测定山楂叶总黄酮中牡荆素鼠李糖苷含量[J]. 中成药,2009,31(10):1615.
- [3] 高婷,曹阳,贾凌云,等. HPLC 法测定 14 个地区山楂中羽扇豆醇的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2010,27(5):373.
- [4] 许正斌,高奎斌,许双贵. 山楂叶综述[J]. 中医学报,1985(4):49.
- [5] 丁杏苞,姜岩青,仲英,等. 山楂叶化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,1990,15(5):39.
- [6] 张培成,徐绥绪. 山楂叶中新黄酮化合物的分离与结构鉴定[J]. 中国药物化学志,1999,9(3):214.
- [7] 张培成,徐绥绪. 山楂叶化学成分研究[J]. 药学学报,2001,36(10):754.
- [8] 刘荣华,余伯阳,邱声祥,等. 山楂叶中主要多元酚类成分的 HPLC 法比较分析[J]. 中国天然药物,2005,3(3):167.
- [9] 李晓玲,张小民. 山楂叶的营养及开发价值[J]. 山西林业,2005(1):21.

[责任编辑 蔡仲德]

鼻渊舒颗粒由辛夷、苍耳子、栀子、黄芩、黄芪等13味药组成,原剂型为胶囊剂,收载于《新药转正标准》(29册),具疏风清热、祛湿通窍之功效,临床用于急性鼻炎肺经风热证及急性鼻窦炎胆腑郁热证。栀子为方中主药,栀子中主要有效成分为栀子苷。为更好地控制鼻渊舒颗粒的质量,本文采用高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量^[1-2],并进行了系统的方法学研究,结果表明该方法分离度高,重复性好。

1 仪器与试剂

岛津公司 LC-2010A 高效液相色谱仪, SPD-M10Avp 二极管阵列检测器, CLASS-VP 色谱工作站, sartoriusBP211D 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。autoscienceAS5150A 超声波清洗器, TGL-16G 高速离心机。

栀子苷对照品(110749-200714,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂为分析纯。鼻渊舒颗粒(批号100901,100902,101001,101002,101003)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (30:70), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 238 nm。栀子苷峰与相邻峰的分离度 > 1.5, 峰形对称, 理论板数以栀子苷峰计算不低于 5 000。缺栀子苷阴性对照无干扰。见图 1。

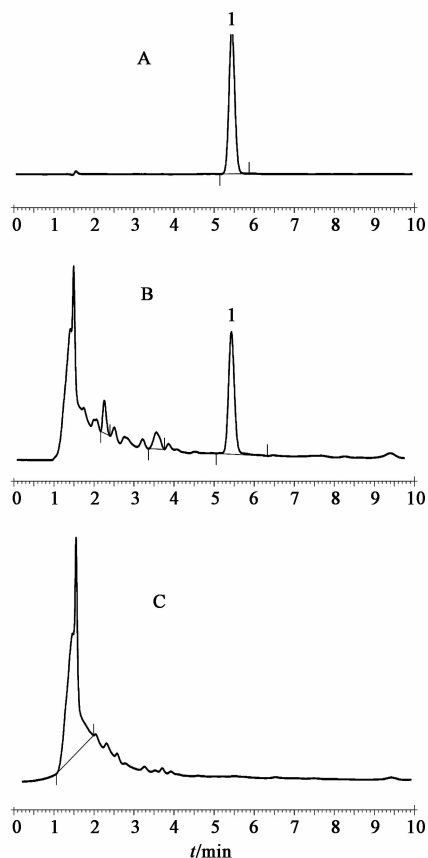
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 80 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品,研细,取 0.25 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇-水(1:1)适量,超声处理 15 min,放冷,用甲醇-水(1:1)稀释至刻度,摇匀,取续滤液,离心,即得。

2.2.3 缺栀子苷阴性对照溶液的制备 取缺栀子苷阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制备,即得。

2.3 线性关系 精密称取栀子苷对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含栀子苷 0.85 mg 的溶液,再精密量取 1 mL 到 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(0.085 g·L⁻¹),分别精密吸取对照品溶液 0.5, 1, 2, 4, 6 μL, 按 2.1 项下色谱条件进行分析,测定峰面积,以进样量 X



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 栀子苷
图 1 鼻渊舒颗粒 HPLC

(μg)对峰面积 Y 进行线性回归,得回归方程 $Y = 7.5921 \times 10^3 + 1.3022 \times 10^6 X$ ($r = 0.9999$),栀子苷在 0.04 ~ 0.51 μg 呈良好的线性。

2.4 精密度试验 分别精密吸取供试品(批号100901)溶液 10 μL,按上述色谱条件连续进样 5 次,测定峰面积,经计算其 RSD 0.95%。

2.5 稳定性试验 取样品(批号100901)适量,按供试品液制备方法制备供试液,于 0, 2, 4, 8, 16 h 分别精密吸取 10 μL,按上述色谱条件测定,考察样品稳定性。结果表明供试品溶液在 16 h 内测定基本稳定, RSD 1.35%。

2.6 重复性试验 取样品(批号100901)0.25 g 共 5 份,按样品分析方法进行测定,测得平均质量分数为 5.37 mg·g⁻¹, RSD 0.85%,表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 取样品(批号100901)适量,5 份,分别加入一定量的栀子苷对照品(0.151 4

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)4 mL,按样品分析方法进行处理,并各平行测定 2 次,见表 1。

表 1 栀子苷含量测定加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.124 9	0.670 7	0.605 6	1.280 3	100.70		
2	0.125 1	0.671 8	0.605 6	1.275 2	99.64		
3	0.125 4	0.673 4	0.605 6	1.293 3	102.40	100.35	1.31
4	0.124 7	0.669 6	0.605 6	1.276 5	100.20		
5	0.125 6	0.674 5	0.605 6	1.273 1	98.86		

3 样品测定

按上述色谱条件,对 5 批样品(批号 100901, 100902, 101001, 101002, 101003)进行测定,结果鼻渊舒颗粒中栀子苷质量分数分别为 5.37, 5.28, 5.07, 5.16, 5.12 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

4.1 检测波长的选择 曾对栀子苷对照品及供试品色谱中栀子苷峰在 SPD-M10Avp 二极管阵列检测器进行扫描(190 ~ 370 nm),结果二者均在 238 nm 波长处有最大吸收,试验选择 238 nm 作为检测波长。

4.2 流动相的选择 曾以甲醇-0.2% 磷酸(30:70)、甲醇-水(25:75)为流动相^[3-4],流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,以 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)柱为分析柱,柱温 35 °C 进行试验,结果发现前者栀子苷峰已达基线分离,峰形对称;缺栀子阴性对照样品无干扰,而后者未达到满意的分离效果。实验最终选用甲醇-0.2% 磷酸(30:70)为流动相,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 35 °C。

4.3 分析柱的选择 曾用 Diamonsil(钻石)C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)与 Kromasil C₁₈(4.6 mm ×

150 mm, 5 μm)柱,以甲醇-0.2% 磷酸(30:70)为流动相,二者均达到满意的分离效果,栀子苷峰与相邻峰分离度 > 1.5,理论塔板数以栀子苷峰计算均大于 5 000。方法学研究实验选用 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)色谱柱。

4.4 提取条件的选择 供试液制备中,对提取溶剂[甲醇、乙醇、甲醇-水(1:1)、80% 甲醇],提取时间(10, 15, 20 min)进行了考察。结果用甲醇-水(1:1)超声处理 15 min 为最佳提取条件。

[参考文献]

- [1] 蓝鸣生,陈路,覃成芳,等.五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的 HPLC 含量测定[J].中国新药杂志,2010,19(14):1281.
- [2] 张卫华,聂其霞,张保献.黄连解毒凝胶的定量方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):56.
- [3] 韩杰. HPLC 测定清开灵颗粒中黄芩苷、栀子苷及胆酸、猪去氧胆酸的含量[J].中成药,2010,32(2):227.
- [4] 贺建华,鲍芳,郑蕊,等.郁舒颗粒的质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(2):34.

[责任编辑 蔡仲德]