

## RP-HPLC 测定栀子金花丸中芒果苷的含量

温金莲,周清,宋粉云\*  
(广东药学院药,广州 510006)

[摘要] 目的:建立栀子金花丸中芒果苷的含量测定方法。方法:采用反相高效液相色谱法,Diamonsil-C<sub>18</sub>柱,乙腈-0.2%磷酸水溶液(13:87)为流动相,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 258 nm,柱温 35 ℃。结果:芒果苷质量浓度在 5.1~30.6 mg·L<sup>-1</sup>具有良好的线性关系( $r=0.9996$ ),芒果苷平均回收率为 99.0%,方法精密度 RSD 1.7% ( $n=6$ )。结论:该法可用于栀子金花丸中芒果苷的含量测定。

[关键词] 栀子金花丸;芒果苷;反相高效液相色谱法;含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)17-0065-03

## Determination of Mangiferin in Zhizi Jinhua Wan by RP-HPLC

WEN Jin-lian, ZHOU Qing, SONG Fen-yun\*  
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method for determination of mangiferin in Zhizi Jinhua Wan. **Method:** An RP-HPLC method was established. The chromatographic column was Diamonsil-C<sub>18</sub>. The mobile phase was a mixture of acetonitrile -0.2% phosphoric acid (13:87). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was 258 nm. **Result:** The linear range of mangiferin was 5.1-30.6 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9996$ ). The average recovery for mangiferin was 99.0%, precision of the method was 1.7% (RSD,  $n=6$ ). **Conclusion:** The method can be used for quantitative determination of the preparation.

[Key words] Zhizi Jinhua Wan; mangiferin; RP-HPLC; assay

栀子金花丸是由栀子、知母、黄芩、黄连、黄柏等 8 味药材制成的中药成方制剂,具有清热泻火、凉血解毒之功效。临床用于肺胃热盛,口舌生疮,牙龈肿痛,目赤眩晕,咽喉肿痛,吐血衄血,大便秘结等的治

疗。其现行标准采用 HPLC 测定栀子苷的含量<sup>[1]</sup>。HPLC 测定黄芩苷、栀子苷、绿原酸等含量的报道<sup>[2-6]</sup>,但芒果苷的含量测定未见报道。知母为方中主药,其化学成分主要有甾体皂苷、双苯吡酮类、木

[收稿日期] 20110312(005)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(5002841)

[第一作者] 温金莲,副教授,本科,研究方向:药物分析,Tel:18928842938,E-mail:jinlianwen@126.com

[通讯作者] \*宋粉云,教授,研究生,研究方向:药物分析,Tel:13660528126,E-mail:fuhaiwu@163.com

[6] 符林春,胡英杰. 预防和治疗艾滋病的药物组合物、制备方法和用途. 中国[P];ZL 200610123956. 6.

[7] 冯鹰,符林春,肖凤仪. 毛冬青对小鼠逆转录病毒感染模型脾大症治疗机制的研究[J]. 江苏中医药,2007,39(11):85.

[8] 秦国伟,陈政雄,徐任生,等. 毛冬青化学成分的研究

II. 毛冬青皂苷甲的化学结构[J]. 化学学报,1987,45(3):249.

[9] Ngounou F N, Lontsi D, Sondengam B L. A pentacyclic triterpene diacid from *Myrianthus arboreus* [J]. Phytochem, 1988, 27(7):2287.

[责任编辑] 蔡仲德

脂素类、有机酸类、生物碱、黄酮类、多糖类、微量元素及大量的黏液质等<sup>[7]</sup>,其中芒果苷是知母中主要的双苯吡酮类成分,含量可达 0.7%<sup>[8]</sup>,是知母中主要的抗炎、抗病毒和抗氧化成分。为进一步评价该制剂的质量,本文建立了栀子金花丸中芒果苷含量测定的反相高效液相色谱法,具有分离效果好、灵敏、准确等优点,可用于该产品的质量控制。

## 1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦公司),Agilent 1100 系列双元泵,Agilent 1100 可变波长检测器,Agilent 1100 化学工作站。KQ-400KDB 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),工作频率 100 kHz,输出功率 400 W。芒果苷对照品(中国药品生物制品检定所,111607-200402),栀子金花丸(山东孔圣堂制药有限公司,批号 20100530,20100963,20100831,规格 9 g/袋)。乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为双蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品液制备

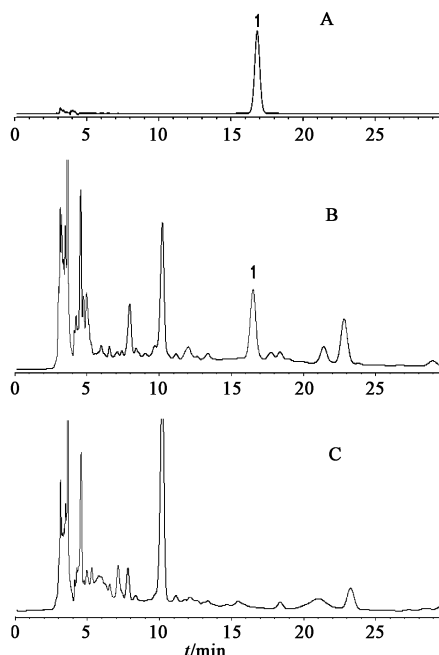
**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取芒果苷对照品 10.2 mg,置 100 mL 量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(芒果苷质量浓度为 102 mg·L<sup>-1</sup>)。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取本品水丸,研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,续滤液 0.45 μm 滤膜过滤,作为供试品溶液。

**2.1.3 阴性对照液的制备** 取处方组成中除知母外的其余成分制成不含知母的阴性对照品,按 2.1.2 项下的制备方法处理得阴性对照液。

**2.2 色谱条件及系统适用性试验** 色谱柱为 Diamonsil-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 迪马公司),乙腈-0.2% 磷酸水溶液(13:87)为流动相,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 258 nm,柱温 35 °C。分别取对照品溶液(芒果苷质量浓度为 20.4 mg·L<sup>-1</sup>)、供试品溶液和阴性对照溶液 10 μL 注入液相色谱仪,理论板数以芒果苷峰计算不低于 6 000;芒果苷峰的拖尾因子为 0.95,保留时间约为 16.5 min,芒果苷峰与其他组分峰的分离度大于 1.5;阴性样品不干扰样品测定(图 1)。

### 2.3 方法学考察



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 芒果苷

图 1 芒果苷对照品、样品及阴性的 HPLC

**2.3.1 标准曲线制备** 分别吸取 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 mL 的芒果苷对照品贮备液,加稀乙醇稀释成芒果苷浓度为 5.1, 10.2, 20.4, 25.5, 30.6 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液。依次进样 10 μL,每个浓度测定 3 次以上。以峰面积为纵坐标,芒果苷对照品溶液浓度为横坐标,绘制芒果苷标准曲线。得芒果苷回归方程  $Y = 42.62X - 25.15$  ( $r = 0.9996$ )。表明芒果苷浓度在 5.1 ~ 30.6 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.3.2 精密度试验** 取浓度为 20.4 mg·L<sup>-1</sup> 的芒果苷对照品溶液 10 μL 连续测定 5 次,其峰面积的平均值为 837.4, RSD 1.50%,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 取供试品溶液(20100530)在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 分别进样 10 μL,记录峰面积,结果芒果苷峰面积的平均值为 870.0, RSD 1.6%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.3.4 重复性试验** 取同一批号(20100530)样品 6 份,按照 2.1.2 方法提取、测定,结果芒果苷平均质量分数为 0.520 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 0.97%。表明分析方法精密度良好。

**2.3.5 加样回收试验** 精密称取同一批号样品(20100530)共 6 份,加入相应量的芒果苷对照品,按照 2.1.2 方法处理并测定,计算回收率,结果见表 1。芒果苷平均回收率为 99.0%, RSD 1.7%。结果表明本方法准确可靠。

表1 芒果苷加样回收率试验( $n=6$ )

取样量 /g	芒果苷 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.500 2	0.260	0.255	0.509	97.6		
0.500 5	0.260	0.255	0.511	98.3		
0.500 5	0.260	0.255	0.517	100.7	99.0	1.7
0.500 3	0.260	0.255	0.509	97.6		
0.500 4	0.260	0.255	0.511	98.3		
0.500 4	0.260	0.255	0.519	101.5		

**2.4 样品测定** 取栀子金花丸样品3批,照**2.1.2**方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液( $20.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )与供试品溶液各  $10 \mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,测定,计算样品中芒果苷的含量,结果见表2。

表2 栀子金花丸中芒果苷的测定( $n \geq 3$ )

批号	芒果苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
20100530	0.520	0.97
20100963	0.515	0.49
20100831	0.623	0.34

### 3 讨论

芒果苷为香豆素类化合物,易溶于三氯甲烷、甲醇、乙醇等有机溶剂,常采用回流、超声等提取,因此在提取分离条件的摸索过程中,比较了甲醇、稀乙醇、三氯甲烷为提取溶剂;采用稀乙醇为提取溶剂,比较了超声提取、回流提取2种不同的方法,并试验了超声提取时间对提取率的影响,实验结果表明:稀乙醇超声提取30 min,直接过滤制备的供试品溶液,芒果苷的提取率高、分离效果好。

芒果苷为双苯吡酮类成分,具有一定的弱酸性。如流动相不加酸,则色谱峰拖尾,加酸后色谱峰峰型

明显改善。文献<sup>[9-10]</sup>报道芒果苷含量测定流动相体系多为乙腈-磷酸,本文参照文献,经反复尝试,选用乙腈-0.2%磷酸水溶液(13:87)为流动相效果最好。实验还发现柱温对芒果苷分离测定影响较大,在室温下测定结果不稳定,当柱温选择  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  时,得到满意结果。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:197,879.
- [2] 郭小龙,蔡敏,陈勇,等.液相色谱法同时测定栀子金花丸中栀子苷和盐酸小檗碱的含量[J].湖北大学学报:自然科学版,2007,29(3):283.
- [3] 郑峰,徐成志. HPLC法测定栀子金花丸中大黄素、大黄酚的含量[J].安徽医药,2007,11(11):1006.
- [4] 张义友,傅红,包淑英,等. RP-HPLC测定栀子金花丸中绿原酸的含量[J].中成药,2005,27(8):附4.
- [5] 李志刚.高效液相色谱法测定栀子金花丸的黄芩苷的含量[J].中国城乡企业卫生,2004,3:45.
- [6] 高晓燕,卢建秋.栀子金花丸中栀子苷、黄芩苷、番泻苷A和番泻苷B的含量测定方法研究[J].中国中药杂志,2009,34(20):2649.
- [7] 李习平,石继连,胡还甫.知母的研究概况[J].岳阳职业技术学院学报,2010,25(1):90.
- [8] 杨丽荣.知母的化学成分及药理作用研究进展[J].国外医学,2002,24(4):207.
- [9] 李开通,张艺轩,曹阳,等. HPLC法测定不同产地和品种石韦中绿原酸和芒果苷的含量[J].中国中药杂志,2010,35(16):2075.
- [10] 梁雷,边宝林,王宏洁.不同产地知母药材中芒果苷和知母皂苷B II的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):49.

[责任编辑 蔡仲德]