

# RP-HPLC 法测定独一味颗粒中木犀草素的含量

赵新杰<sup>1\*</sup>, 王苏静<sup>1</sup>, 夏华玲<sup>2</sup>

(1. 河南省洛正制药厂, 河南 洛阳 471013; 2. 河南省洛阳正骨医院, 河南 洛阳 471002)

[摘要] 目的: 建立独一味颗粒中木犀草素的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 用 C<sub>18</sub> 柱, 以甲醇-0.4% 磷酸溶液(50: 50) 为流动相, 检测波长为 350 nm。结果: 木犀草素在 0.021 84~ 0.174 20 μg 进样量范围内线性关系良好,  $r = 0.999 4$ , 平均回收率为 102.00%, RSD 为 0.95%。结论: 该方法简单, 重复性好, 可用于本制剂的质量控制。

[关键词] 独一味颗粒; 反相高效液相色谱法; 木犀草素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)05-0011-02

新药独一味颗粒试行标准中的[含量测定]项是以芦丁为对照, 用分光光度法测定总黄酮的含量, 测定大类成分虽能在一定程度上控制产品质量, 但由于缺少单一有效成分的测量, 有一定局限性。为了更好地控制产品质量, 本文建立了高效液相色谱法测量其单一成分木犀草素含量的方法。

## 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津): LC-10ATvP 泵, SPD-10AvP 紫外检测器, LGC-1025M 柱温箱, CS-Light 色谱工作站。木犀草素对照品(中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 批号: 111520-200201); 独一味颗粒(河南省洛正制药厂生产); 甲醇、磷酸为色谱纯, 其它为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Hypersil ODS2(4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 柱温: 35 °C; 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液(50: 50); 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长: 350 nm; 进样量: 10 μL。在上述色谱条件下, 木犀草素能达到基线分离, 理论板数按木犀草素峰计算, 应不低于 2000。对照品、供试品及阴性样品的色谱图分别见图 1, 2, 3。

**2.2 对照品溶液的制备** 取木犀草素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品研细, 取约 0.5 g,

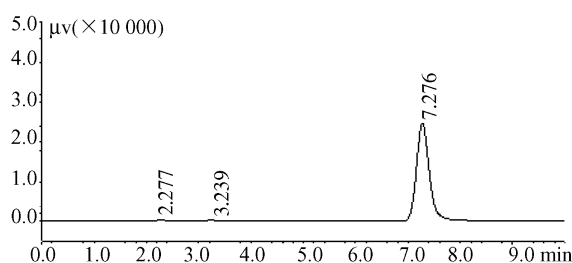


图1 木犀草素对照品色谱图

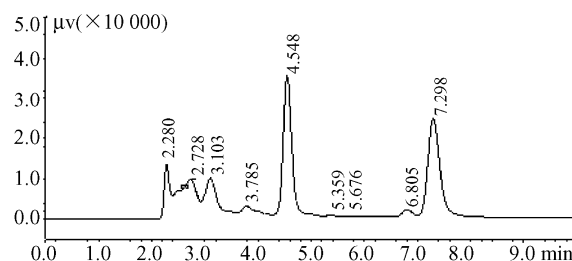


图2 供试品色谱图

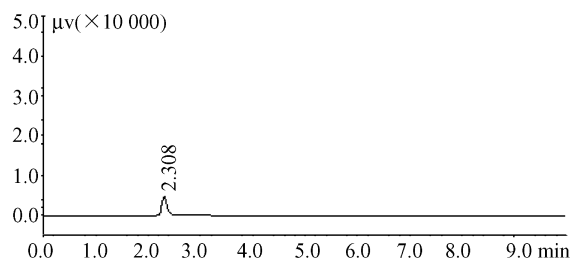


图3 阴性样品色谱图

精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入 2.5 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸甲醇溶液 40 mL, 超声处理(功率 600 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 用 2.5 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 15 mL, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 于 90 °C 水浴中加热水解 1 h, 放冷, 转移至 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

[收稿日期] 2008-07-16

[通讯作者] \* 赵新杰, Tel: (0379) 63789225; E-mail: zxjzsq@

163.com

**2.4 线性关系考察** 精密吸取木犀草素对照品溶液( $10.92 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 2, 4, 8, 12, 16  $\mu\text{L}$ , 按拟定的色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标、木犀草素进样量( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程:  $Y = 3.77 \times 10^6 X + 6.31 \times 10^3$ ,  $r = 0.9994$ 。结果表明: 木犀草素进样量在 0.021 84~ 0.174 20  $\mu\text{g}$  范围内, 与峰面积积分值线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 重复进样 6 次, 测定峰面积, 木犀草素的平均峰面积为 202241, RSD 为 0.62%, 表明仪器的精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 24 h 进样 10  $\mu\text{L}$ , 测定, 木犀草素的平均峰面积为 210717, RSD 为 1.15%。结果表明: 供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 精密称取同一批号样品 5 份, 按照 2.3 项下方法, 制成供试品溶液, 按拟定的色谱条件测定, 计算其木犀草素平均含量为  $2.4646 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 1.86%。结果表明本方法重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 取已知含量的同批样品 ( $2.4646 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 6 份, 每份约 0.4 g, 精密称定, 分别精密加入木犀草素对照品溶液 ( $1.036 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 1.0 mL, 按照 2.3 项下方法, 制成供试品溶液, 按拟定的色谱条件测定, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ( $n = 6$ )

编号	称样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.4014	0.9881	1.036	2.0437	101.89		
2	0.4007	0.9864	1.036	1.9899	100.35		
3	0.4024	0.9905	1.036	2.0465	101.93	102.00	0.95
4	0.4021	0.9898	1.036	2.0587	103.18		
5	0.4505	1.1089	1.036	2.1735	102.76		
6	0.4177	1.0282	1.036	2.0838	101.89		

**2.9 样品测定** 按上述方法测定 3 批样品中木犀

草素的含量, 结果分别为 3.14, 3.30, 3.19 mg/袋。

### 3 讨论

**3.1 流动相的选择** 参照有关文献<sup>[1~3]</sup> 的色谱条件, 比较了甲醇-水 (50: 50)、甲醇-0.4% 磷酸溶液 (50: 50)、甲醇-0.4% 磷酸溶液 (60: 40)、甲醇-0.4% 磷酸溶液 (40: 60) 作为流动相的色谱效果, 结果表明, 以甲醇-0.4% 磷酸溶液 (50: 50) 为流动相, 色谱峰峰形对称, 分离良好, 出峰时间适宜。

**3.2 提取溶剂的选择** 比较了甲醇和  $2.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸甲醇溶液作为溶剂的提取效果, 结果表明, 用  $2.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸甲醇作为溶剂提取效果好。

**3.3 提取溶剂量的选择** 比较了 20, 30, 40 mL 甲醇作为溶剂的提取效果, 结果表明, 选用 40 mL 甲醇可保证提取充分。

**3.4 提取时间的选择** 比较了超声处理 20, 30, 40 min 的提取效果, 结果表明, 超声提取 30 min 分钟最佳。

**3.5 盐酸甲醇溶液浓度的选择** 独一味中的木犀草素以游离和苷两种状态存在, 为准确测定其含量, 需对其进行酸水解。比较了  $2.0, 2.5, 3.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸甲醇溶液的水解效果, 结果表明,  $2.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸甲醇溶液最佳。

**3.6 水解时间的选择** 比较了在  $90^\circ\text{C}$  水浴条件下加热水解 30, 60, 90, 120 min 的水解效果, 结果表明, 水解 60 min 最完全, 水解 120 min 时含量下降明显 (为 60 min 时的 90.95%), 可能对受热有影响。

### [参考文献]

[1] 王秋玲. HPLC 测定独一味中木犀草素的含量[J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(2): 43.  
[2] 马 潇, 丁永浑, 赵建邦, 等. 高效液相色谱法测定藏药独一味中木犀草素及异鼠李素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(2): 152.  
[3] 黄志芳, 刘云华, 刘玉红, 等. RP-HPLC 测定独一味胶囊中木犀草素的含量[J]. 中成药, 2005, 27(10): 附 1.