

高效液相色谱法测定降糖明目颗粒中蒙花苷的含量

刘进怀*, 张 晴, 狄珍珍, 张彦廷

(微生物药物国家工程研究中心, 华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 河北 石家庄 050015)

[摘要] 目的: 建立用高效液相色谱法测定降糖明目颗粒中蒙花苷的含量测定方法。方法: 采用 Waters symmetry 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-水-三氟乙酸(20: 80: 0.1) 为流动相; 流速为 1.2 mL·min⁻¹; 检测波长为 326 nm。结果: 蒙花苷在(0.050 3~ 2.012) μg 范围内呈良好线性关系, $r = 0.999 5$, 平均回收率和 RSD 分别为 99.40% 和 1.59%。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂的含量测定方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 降糖明目颗粒; 密蒙花; 蒙花苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)08-0014-03

Determination of Linarin in Jiangtang Mingmu Granule by HPLC

LIU Jin-huai*, ZHANG Qing, DI Zhen-zhen, ZHANG Yan-ting

(National Microbial Medicine Engineering & Research Center, New Drug R&D Co. Ltd of North China Pharmaceutical Group Co. Ltd., Shijiazhuang 050015, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of linarin in Jiangtang Mingmu Granule. **Methods:** Waters symmetry C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used as the stationary phase, the mixture of acetonitrile-water-TFA (20: 80: 0.1) was served as mobile phase, and its flow rate was 1.2 mL·min⁻¹. The wavelength for detection was 326 nm. **Results:** The linearity range was (0.050 3~ 2.012) μg ($r = 0.999 5$). The average recovery was 99.40% (RSD = 1.59%). **Conclusions:** The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for determination of Jiangtang Mingmu Granule.

[Key words] HPLC; Jiangtang Mingmu Granule; *Buddleja officinalis* Maxim; linarin

降糖明目颗粒是由密蒙花、红花、天花粉等 6 味中药加工制成, 具有清热养肝, 明目退翳的功效。用于治疗糖尿病及糖尿病引起的视网膜病变。密蒙花是方中君药, 蒙花苷是密蒙花的特征成分, 因此将该成分作为测定指标。在本实验中, 采用乙腈-水-三氟乙酸系统为流动相, 待测成分和其它成分均达到基线分离, 阴性对照无干扰。本方法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂的含量测定方法。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(515 泵, 717 自动进样

器, 2487 紫外检测器, Millennium³² 色谱工作站), KQ-250B 超声波清洗器, Sartorius CP225D 电子天平(十万分之一)。乙腈为色谱纯, 水为二次蒸馏水, 三氟乙酸为分析纯。蒙花苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111528-200606, 供含量测定用), 降糖明目颗粒为本公司研制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Waters symmetry 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-三氟乙酸(20: 80: 0.1); 流速: 1.2 mL·min⁻¹; 检测波长: 326 nm; 进样体积 10 μL; 在此条件下, 待测成分和相邻成分完全分离, 阴性对照无干扰。见图 1~ 3。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取蒙花苷对照品 10.06 mg, 用甲醇溶解定容于 50 mL 量瓶中, 摇匀, 得

[收稿日期] 2008-10-21

[通讯作者] * 刘进怀, Tel: (0311) 85993040; E-mail: liujinhuai@163.com

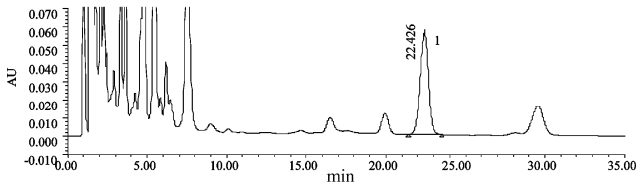


图 1 供试品 HPLC 图 1 为蒙花苷峰

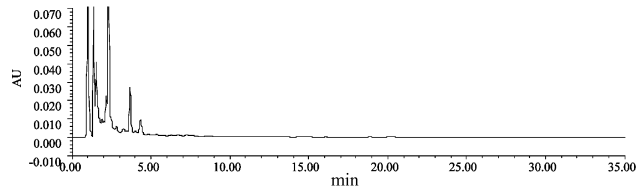


图 2 阴性对照 HPLC 图

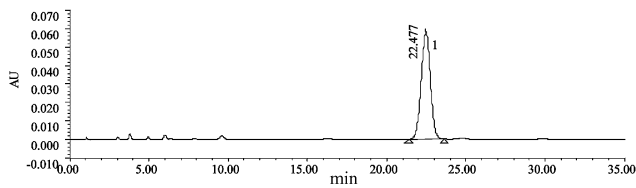


图 3 蒙花苷对照品 HPLC 图 1 为蒙花苷峰

对照品储备液;精密吸取对照品储备液 5 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液,浓度为 $100.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 30 min,放至室温,再称定重量,用甲醇补足减失重量,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 按处方比例称取除密蒙花的其它药材,照制备工艺制成不含密蒙花药材的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。

2.5 系统适用性试验 分别取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,实验结果表明阴性样品在蒙花苷出峰位置无干扰峰。

2.6 线性关系考察 精密称取蒙花苷对照品,用甲醇溶解分别制成浓度为 5.03, 10.06, 50.3, 100.6, 201.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,测定峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,进样量(X)为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程为: $Y = 2.00 \times 10^6 X + 2.37 \times 10^4$, $r = 0.999 5$,实验结果表明,在 0.050 3 μg ~ 2.012 μg 范围内,峰面积与进样量有良好线性关系。

2.7 精密度试验 取同一供试品溶液,连续进样 6

次,蒙花苷峰面积的 RSD 为 1.1%,实验结果表明精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样测定,蒙花苷峰面积的 RSD 为 1.5%,实验结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验 取同一批号样品 6 份(批号: 070901),按供试品溶液的制备方法制得样品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,测得平均含量为 $5.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 为 1.4%,实验结果表明重复性良好。

2.10 回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份(批号: 070901),分别精密加入一定量的蒙花苷对照品(加浓度为 $100.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 25 mL),按供试品溶液的制备方法制得样品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

实验号	取样量 (mg)	样品中蒙花苷的含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	514.22	2.581	2.515	4.988	97.88		
2	502.32	2.522	2.515	5.086	100.97		
3	501.31	2.517	2.515	5.028	99.92	99.40	1.59
4	500.95	2.515	2.515	4.932	98.05		
5	500.66	2.513	2.515	4.936	98.17		
6	500.15	2.511	2.515	5.098	101.43		

2.11 样品测定 取 3 批样品(批号分别为: 070901, 070902, 070903),按供试品溶液的制备方法制得样品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,计算含量,结果分别为 $5.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $4.95 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $5.12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

3.1 流动相的选择 《中国药典》^[1] 收载了密蒙花药材中蒙花苷的测定方法,采用了甲醇-水-醋酸系统,文献^[2-8] 报道了薄荷、甘松、野菊花等药材及其相关制剂中蒙花苷的含量测定方法,应用的流动相系统有: 甲醇-水,乙腈-水,甲醇-水-磷酸,乙腈-磷酸水溶液,甲醇-乙腈-醋酸水溶液,甲醇-四氢呋喃-水,乙腈-0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠溶液-磷酸。采用文献方法测定本制剂时,处方中其它药味干扰蒙花苷的测定。经试验,以乙腈-水-三氟乙酸(20: 80: 0.1) 为流动相,待测成分和其它成分均达到基线分离,阴性对照无干扰。

3.2 提取条件的选择 考察了 50% 甲醇、75% 甲醇

和纯甲醇, 3 种溶剂的提取率相当, 但采用 50% 甲醇 75% 甲醇为溶剂提取时, 样品颜色较深, 且杂质峰多, 故确定甲醇为提取溶剂。比较了不同超声时间 20, 30, 40 min, 结果表明: 超声 30 min 可提取完全, 故确定提取条件为以纯甲醇为溶剂超声 30 min。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 230.
- [2] 张旭, 胡晓梅, 罗霄, 等. HPLC 测定甘松中的蒙花苷[J]. 华西药学杂志, 2007, 22(6): 690.
- [3] 陈翠英, 袁子民, 程岚, 等. HPLC 法测定珍菊降压片

中蒙花苷含量[J]. 辽宁中医杂志 2007, 34(4): 501.

- [4] 谭晓杰, 贾英, 陈晓辉, 等. RP-HPLC 法测定野菊花中蒙花苷含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(6): 434.
- [5] 魏娜, 王强. 野菊花及其相关制剂中蒙花苷的含量测定[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(3): 221.
- [6] 康建, 阚全程, 曾建伟, 等. 高效液相色谱法测定薄荷中蒙花苷含量[J]. 医药论坛杂志, 2007, 28(10): 6.
- [7] 崔兰冲, 李小琴, 韩莹, 等. HPLC 测定野菊花中蒙花苷与木犀草素的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 34.
- [8] 赵建波, 刘永俊, 沙红玉, 等. 高效液相色谱法测定香菊感冒颗粒中蒙花苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(12): 1776.