

HPLC 测定热毒平颗粒中木犀草苷的含量

盛晓静, 刘薇

(江西省九江市食品药品检验所, 江西 九江 332000)

[摘要] 目的: 研究热毒平颗粒中木犀草苷的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 梯度洗脱法。色谱柱为 Thermo Hypeisil GOLD (4.6 mm × 250 mm 5 μm), 以乙腈-0.5% 冰醋酸水溶液为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C; 检测波长 350 nm。结果: 木犀草苷在 0.034 7~0.694 μg 呈良好的线性关系 ($r = 0.999 9$), 平均回收率为 99.3%, RSD 为 0.5%。结论: 所建立的方法能准确可靠地进行定量检测, 可有效地控制制剂质量。

[关键词] 热毒平颗粒; 木犀草苷; 含量测定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0088-03

Determination of Luteoloside in Reduping Granules by HPLC

SHENG Xiao-jing, LIU Wei

(Jiujiang Institute for Food and Drug Control, Jiujiang 332000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the method of determining luteoloside in Reduping Granules. **Method:** The content of luteoloside in Reduping Granules was determined on an Thermo Hypeisil GOLD column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) eluted with acetonitrile and water containing 0.5% glacial acetic acid as mobile phases in gradient mode. The flow rate was kept at 1.0 mL·min⁻¹, and the column temperature was set at 30 °C. The UV detector wavelengths were at 350 nm. **Result:** Luteoloside was linear in the range of 0.034 7-0.694 μg ($r = 0.999 9$). The average recovery was 99.3% and RSD was 0.5%. **Conclusion:** The established method is accurate and

[收稿日期] 20110321(011)

[第一作者] 盛晓静, 副主任中药师, 从事中药材及中成药的质量分析, Tel: 13970200789, E-mail: wm667788@163.com

3 讨论

从 31 批丹参饮片中丹参酮 II_A 的含量测定结果可以看出, 除河北省售饮片中丹参酮 II_A 的含量大于药典规定的丹参药材含量限度外, 其余 30 批样品含量均远远小于药典规定的丹参药材含量限度, 因此为保证药效, 有必要对丹参饮片单独制定含量限度。

从含量测定结果还可以看出, 丹参饮片中丹参酮 II_A 的含量在 0.036% ~ 0.27% 内波动, 如果取丹参酮 II_A 平均含量 (0.09%) 的 80% (0.07%) 作为丹参饮片中丹参酮 II_A 的最低含量限度将有近 40% 批次的饮片含量不合格, 显然不合理, 因此去掉 2 个含量最低值后, 将剩余批次饮片中最低含量的 80%

定为丹参饮片的含量限度, 即暂定丹参饮片中丹参酮 II_A 的含量不得低于 0.04%。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 70.
- [2] 孔德云, 刘星塔. 丹参化学成分的研究[J]. 上海第一医学院学报, 1983, 10(4): 313.
- [3] 刘艳华, 赵陆华, 黄剑, 等. 丹参 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(2): 127.
- [4] 叶勇. 丹参有效成分分离的研究进展[J]. 药品评价, 2005, 2(2): 146.
- [5] 艾青. 丹参化学成分及药理作用[J]. 中华医学杂志, 2003, 10(9): 847.

[责任编辑 蔡仲德]

reliable, can be used to control the quality of this preparation effectively.

[Key words] Reduping Granules; luteoloside; determination; HPLC

热毒平颗粒收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册^[1],由生石膏、金银花、玄参、地黄、连翘、栀子、甜地丁、黄芩、龙胆、板蓝根、知母、麦冬等 12 味中药组成,具有清热解毒的功效,可用于治疗流感、上呼吸道感染及各种发热疾病。其中金银花在中医主流观点中认为具有清热解毒功效,主要有效成分有木犀草苷^[2-3]。原标准中没有含量测定项目,本文采用 HPLC 对方用量较大的金银花中所含的木犀草苷进行了含量测定,为更好地控制热毒平颗粒质量提供了实验方法。

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪(Waters 1525 高压泵、Waters 2487 双波长紫外检测器、Breeze 工作站),TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计, Sartorius Bp 211D 型分析天平, SCQ25-6 型超声波清洗器(上海申波超声公司)。

1.2 试剂 聚酰胺(14~30 目)、重蒸水、色谱乙腈,其他试剂均为分析纯。

1.3 对照品 木犀草苷对照品(供含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供,批号 1111720-200603,含量 96.5%)。

1.4 样品 热毒平颗粒(批号 20070803、20080102、20080105,均由江西钟山药业有限公司生产)。

2 方法与结果

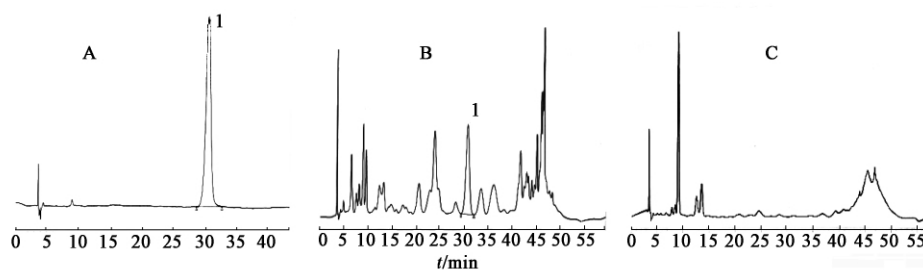
2.1 色谱条件与系统适用性试验 Thermo Hypesil GOLD 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温 30

℃;流动相为乙腈-0.5% 冰醋酸溶液(乙腈在 0~25 min 占 13%, 25~40 min 由 13%~25%);检测波长为 350 nm;理论板数按木犀草苷峰计算应不低于 6 000,木犀草苷峰与其他峰能达到基线分离,且出峰时间适宜,峰形较好。

2.2 对照品溶液的制备 取木犀草苷对照品适量,精密称定,加 70% 乙醇制成每 15 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物,研碎,取 5 g,精密称定,量具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 35 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣用热水 5 mL 溶解,加在聚酰胺柱(14~30 目,2.5 g,内径 1.1 cm)上,保持流速为每秒钟 1~2 滴,先用水 60 mL 洗脱,弃去水液,再用乙醇 60 mL 洗脱,收集乙醇洗脱液,蒸干,残渣用 70% 乙醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性对照试验 用除金银花药材外的其他药材的处方量,照工艺要求制备阴性对照品,按供试品溶液的制备项下制得阴性对照样品溶液进行高效液相色谱试验,所得阴性对照色谱图中,在热毒平颗粒色谱图中木犀草苷峰的出峰位置上未出现吸收峰,表明处方中其他药材对木犀草苷含量测定无影响,见图 1。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 木犀草苷

图 1 热毒平颗粒的 HPLC

2.5 线性关系 精密称取木犀草苷对照品 17.9 mg 置 50 mL 量瓶中,加 70% 乙醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 mL 5 份分别置 100、50、25、10、5 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,制得 5 种不

同浓度的对照品溶液,分别进样 10 μL,测定其峰面积,以木犀草苷的量为横坐标,2 次测定峰面积的均值为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 2.8310 \times 10^6 X - 5196.2$ ($r = 0.9999$),实验结果表

明,木犀草苷在 0.034 7 ~ 0.694 μg 与所测得的相应的峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL 进样,重复进样 5 次,按上述色谱条件测定峰面积分别为 393 241 398 065 393 990 396 382 392 775, RSD 为 0.6%, 结果表明本方法的精密度良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液,分别于 0 2 4 6 12 24 h,按上述方法进行分析,测定峰面积 RSD 为 0.9%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批号样品,按含量测定项下方法操作,平行试验 5 次,测得木犀草苷含量 RSD 为 1.2%。结果表明,在同一条件下,5 次测得样品木犀草苷含量一致。

2.9 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的样品 9 份,分别精密添加一定量的木犀草苷对照品,按 2.3 方法制成供试品溶液,各取 10 μL 进样,测定各自木犀草苷含量,结果见表 1。

2.10 样品测定 取样品 3 批,按上述色谱条件和方法测定木犀草苷的含量,结果见表 2。

表 1 木犀草苷加样回收试验

No.	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.159 8	0.104 1	0.264 1	100.2		
2	0.158 0	0.104 1	0.261 3	99.2		
3	0.159 6	0.104 1	0.262 2	98.6		
4	0.159 2	0.156 2	0.315 1	99.8		
5	0.159 4	0.156 2	0.314 8	99.5	99.3	0.5
6	0.158 4	0.156 2	0.312 9	98.9		
7	0.161 1	0.208 2	0.367 9	99.3		
8	0.160 0	0.208 2	0.365 5	98.7		
9	0.159 7	0.208 2	0.367 0	99.6		

表 2 热毒平颗粒中木犀草素测定

批号	木犀草苷含量/(mg/袋)	RSD/%
20070803	0.448 5	1.0
20080102	0.533 4	0.9
20080105	0.517 9	1.3

3 讨论

本制剂处方中金银花用量较大,功能清热解毒、凉散风热。木犀草苷是金银花中的主要有效成分之一,因正品金银花所含木犀草苷的量明显高于混淆品山银花,通过控制制剂中木犀草苷的含量,可更好地控制制剂质量。

由于本制剂处方用药有 12 味,且提取工艺采用水煎煮,成品中成分较为复杂。笔者也曾参考试用了有关文献,但用于本类药品中干扰较多^[4]。为了减少干扰,保证含量测定结果的准确可靠,我们在供试品溶液的制备过程中采用聚酰胺柱(14 ~ 30 目,

2.5 g,内径 1.1 cm)对待测成分进行了分离,在洗脱待测成分时,必须严格控制洗脱液的流速为每秒钟 1 ~ 2 滴,过快则易导致洗脱不完全。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂: 第 20 册 [S]. 1998: 283.
- [2] 杨欣,李洪波,陈诚,等. 金银花药性与功效的文献考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 220.
- [3] 俞静静,陈素红,吕圭源. 玄参“凉血滋阴”药效相关研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(9): 3.
- [4] 辛华,丰杰,程若敏,等. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 60.

[责任编辑 蔡仲德]